

**INSTITUTO DE BIOCIENTÍCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

KAROLINE CHIARADIA GILIOLI

**ONDE ESTÃO ESCONDIDOS OS SAPINHOS-DA-BARRIGA-VERMELHA? MODELAGEM
HIERÁRQUICA EM ESCALA FINA REVELA PREFERÊNCIAS DE HABITAT EM
AMBIENTES EXTREMOS**

PORTEOALEGRE
2017

KAROLINE CHIARADIA GILIOLI

**ONDE ESTÃO ESCONDIDOS OS SAPINHOS-DA-BARRIGA-VERMELHA? MODELAGEM
HIERÁRQUICA EM ESCALA FINA REVELA PREFERÊNCIAS DE HABITAT EM
AMBIENTES EXTREMOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de concentração: Biodiversidade e Comportamento Animal

Orientador: Prof. Dr. Murilo Guimarães

PORTEOALEGRE
2017

KAROLINE CHIARADIA GILIOLI

**ONDE ESTÃO ESCONDIDOS OS SAPINHOS-DA-BARRIGA-VERMELHA?
MODELAGEM HIERÁRQUICA EM ESCALA FINA REVELA PREFERÊNCIAS DE
HABITAT EM AMBIENTES EXTREMOS**

Aprovada em ____ de _____ de ____.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Gonçalo Ferraz

Dra. Larissa Bailey

Dr. Márcio Borges-Martins

“Ao mesmo tempo em que estamos fervorosos para explorar e aprender todas as coisas, esperamos que todas as coisas sejam misteriosas e inexploráveis, que a terra e o mar sejam infinitamente selvagens, imapeados e insondados por nós, por isso insondáveis. Nós nunca nos bastaremos da Natureza.”

(Henry David Thoreau - Walden 1854)

*Aos,
capazes de assumir a natureza subjetiva da realidade,
que procuram fazer o melhor que podem com o conhecimento que têm,
que colocaram um pedacinho de si aqui,
que me inspiram e apostam em ideias que muitas vezes parecem malucas, mas que no
final nem são tão malucas assim, são muito sábias.*

AGRADECIMENTOS

Como já sabemos ninguém faz nada sozinho! Agradeço a todos que de alguma forma cruzaram meu caminho nessa etapa da vida chamada mestrado, e que de alguma maneira contribuíram para que fosse finalizada com o sucesso que eu acredito que foi!

Primeiramente, muito obrigada ao meu querido companheiro de vida Carlos por ter apoiado isso tudo e passado por todas as mudanças consequentes dessa escolha junto comigo e com os braços abertos. Obrigada por achar que eu sou ótima até quando não sou! Por TODA a ajuda (física, intelectual e, é claro, emocional)! Eu acho que, pelo menos algumas vezes, tu considerou esse mestrado como teu também, porque um pedaço da tua vida está aqui e, obrigada por isso, mesmo! Obrigada por sempre me inspirar a “ir confiante na direção dos meus sonhos e viver a vida que imagino” (assim como já dizia o Thoreau) e por compreender muito do que para muitos pareceria loucura! Por entender os meus maiores anseios e compartilhar de alguns deles, obrigada por ser parte essencial do que eu sou!

Aos meus pais por serem como são, por sempre estarem “lá” e por torcerem por mim em todas as minhas escolhas, por acreditarem em mim mais que qualquer um, por nunca pressionarem já que a vida já pressiona o suficiente e por sempre evoluírem um pouquinho junto comigo. À minha irmã Kamila pela força e por dividir tudo comigo, que bom que tu existe!

Às minhas amigas-irmãs Aline Mezzomo e Jaque Milani por terem insistido tanto naquela noite chuvosa em Caxias do Sul para eu prestar a prova de mestrado (que seria daí cinco dias, assumo), porque eu não tinha nada a perder (só os três empregos)! Sabem, ganhei muito mais, foi uma das melhores decisões que já tomei! Obrigada a vocês duas e à Pri Luz que até em vídeo chamada lá dos EUA se manteve por perto, por tudo de sempre, por toda a amizade verdadeira, por comemorarem minhas vitórias e chorarem comigo nos fracassos e por sempre me socorrerem quando tropeço. Obrigada ao Rafael Redaelli (Homer) pelos exatos mesmos motivos.

Às eternas Ana Pedrazzo, Fran Marin e Gra Rui por torcerem por mim, mesmo de longe. A gente sabe quem torce verdadeiramente e vocês estão sempre na primeira fila da torcida! Obrigada pelo apoio de sempre e por lembrarem minha essência diante de todas as mudanças.

Ao Vagner Camilotti pela amizade, pelas longas conversas filosóficas que fazem toda a diferença no dia-a-dia, por ter tanta sabedoria para me dizer as coisas mais inspiradoras! Por me ensinar novas perspectivas de ver o mundo, antes inexploradas, e que tem me transformado em alguém melhor! Vagner, tu é mais importante para mim do que imagina!

A todos os colegas do laboratório de Herpetologia, o mais louco e mais incrível laboratório da UFRGS (nem preciso conhecer os outros para saber disso)! Cada um de vocês é especial e juntos fizeram esse mestrado ser ainda melhor! Especialmente: Ao Alexis por ter me levado para o campo em São Jerônimo pela primeira vez, sem saber quem eu era e aguentando os primeiros de muitos “dramas da vida” que viriam das “mirabolosas ideias” desse mestrado. À Lídia, que me recebeu e apresentou aos demais colegas do lab, fazendo eu me sentir “em casa” depois de uns dois meses perambulando entre a herpeto e a ecologia nesse Vale. Aos especiais amigos “da 127” que muito além do mestrado compartilhei uma história melhor que a outra e estarão sempre guardados nas minhas melhores memórias: Marlu Rebelato, Vini Ferri, Arthur Scharam, Gabriel Armiliato, Raíssa Bressian, Nathi Matias e, o mais recente, Matias! Obrigada também aos amigos mais que queridos que passaram pela 109 por todas as conversas e trocas de ideias diárias que fizeram os meus dias felizes: Matheus Kingeski, Mari Lucchese, Thay Mendes, Mila de Oliveira, Manu Silva, Valen Zafaroni, André Liz, Natizinha Vargas, Sté Silveira e Debs Bordignon! À Natizinha e a Sté e também ao Pedro Luz pelas dicas com o inglês para escrever o manuscrito, vocês foram ótimos! À Mi Abadie por ser essa pessoa querida e sempre dar um help, valeu mesmo amiga! Muito obrigada à Debs por todo o apoio de pertinho nesse final, por me fazer rir tanto e por ter se tornado uma amiga de outras vidas! Valeu tudo, vocês todos são demais, me senti o tempo todo no lugar certo!

Obrigada imensamente a todos os ajudantes do campo “xiita” (com o qual o nome por si só se explica): Vini Ferri, Lídia Martins, Pedro Thomas, Diogo Reis (2 vezes), Ana Pedrazzo, Vini Santos, Carlos Spigolon (3 vezes), Rafael Redaelli, Jéssica Ramos, Murilo Guimarães, Nathalia Matias, Aline Mezzomo, Karmine Pasinatto, Arthur Scharam, Marluci Muller, Crisla Pott, André Liz, Giuliano Muller, Mariano Siagnara, e Priscila Lopes (~6 vezes), que deram muito de seu suor, de suas ideias e de suas risadas. Eu sei o quanto esses campos foram pesados, ainda

mais quando faltava água, luz, gás, quando as abelhas invadiam a casa, as pulgas infestavam os colchões, quando o frio era extremo e o calor ainda maior. E também ao “Nego” que apesar de nunca ter entendido o sentido de procuramos sapos embaixo das pedras, nos acolheu muitas vezes e foi essencial em vários desses momentos malucos. Vocês foram simplesmente ótimos! Especialmente a Pri que acompanhou grande parte desses campos e caiu muitas vezes, obrigada por toda ajuda, de verdade!

À Crisla Pott que se tornou uma grande amiga, ao Giuliano Muller (Ceará) que convivi diariamente e passei a admirar muito e ao Pepe (Pedro Thomas) que lá da Amazônia ainda dá um help e está fazendo muita falta. Aos amigos da Ecologia que me conheceram antes de todo mundo! Ao Diego Alves e à Taís Guimarães pela imensa ajuda com os mapas. Ao Matheusinho pela parceria nas 20 mil disciplinas que fizemos! Ao Isma Verrastro Brack, ao Gustavo Silva e a Bruna Amaral pela parceria para conseguirmos participar do Workshop de Modelagem Hierárquica. À Florênci Tiribelli e à Bibiana Valencia, as quais conheci no workshop, por terem me apoiado e tornado essa experiência ainda melhor, especialmente à Florênci pelas sugestões com as análises diretamente de Bariloche.

À Pri Paris que me acolheu há dois anos atrás quando mais precisei de um pouso em Porto Alegre, me ensinou a não me perder na capital e se tornou muito especial na minha história. Sou muita grata pelo que fez por mim Pri!

Ao Marcelo Freire por todo o incentivo quando entrei no mestrado, por ter me apresentado o primeiro Melano e mostrado o quanto os anfíbios são apaixonantes. Por todos os artigos que me enviou e pela torcida. Falei que ia te mandar pra ler, aqui está ela!

À Professora Dra. Laura Verrastro por todo incentivo, por ser nossa “fada madrinha” muitas vezes e por de certa forma “adotar” eu e o Murilo. Valeu por tudo mesmo Laura, sem tua ajuda isso não teria sido feito!

Aos Professores Dr. Márcio Borges-Martins e Dr. Fernando Becker (Fritz) por aceitarem fazer parte da banca de acompanhamento desse projeto e pelas ótimas contribuições para o trabalho.

Ao Prof. Dr. Gonçalo Ferraz pelas oportunidades de aprendizado que me propiciou e pelas contribuições nas análises.

Aos Avaliadores, que prontamente se dispuseram a contribuir para este trabalho Dr. Márcio Borges-Martins (Universidade Federal do Rio Grande do Sul), Dr. Gonçalo Ferraz (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) e Dra. Larissa Bailey (Colorado State University).

Ao PPG Biologia Animal pelo apoio ao projeto e à CAPES pela bolsa concedida.

Finalmente, obrigada ao meu querido orientador Murilo Guimarães que me ensinou muito mais do que a gente espera aprender de um orientador no mestrado! Aceitou o desafio e passou por cada passinho junto comigo! Esteve presente no planejamento, no campo (quase não sobreviveu), me levou para o mundo analítico dos modelos hierárquicos, me apresentou a pessoas incríveis, e corrigiu cada linha dessa dissertação com toda a dedicação que ele tem. Murilo, tu queria um feedback no final, aqui está ele: Quero agradecê-lo imensamente por ter sido muito mais que orientador, por ter me incentivado a sempre melhorar, sendo crítico e amigo ao mesmo tempo e por me “empurrar pro precipício” pra voar sozinha quando não tenho coragem de pular! Pela relação tão legal, às vezes louca, que construímos nesses dois anos que deixarão saudades, resultando em um carinho imenso! Sou a aluna mais orgulhosa do mundo! Fomos e continuaremos sendo um (ótimo) time!

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
CAPÍTULO 1	29
Abstract	31
Introduction	32
Materials and methods	35
Results	39
Discussion	41
Acknowledgments	45
References	46
Eletronic Supplementary Material	60
CONSIDERAÇÕES FINAIS	66

RESUMO

Compreender a associação entre espécie e habitat em escala fina é uma maneira de estabelecer estratégias para evitar declínios de populações, porém esse conhecimento é muito limitado para as espécies de anfíbios. O sapinho-da-barriga-vermelha da América do Sul, *Melanophrynniscus pachyrhynus*, ocorre em áreas abertas com afloramentos rochosos e geralmente é encontrado apenas durante eventos de reprodução explosiva. Usando um modelo de ocupação-detecção com abordagem bayesiana, avaliamos o uso do habitat não-reprodutivo, enquanto incorporamos a probabilidade de detecção, para compreender a distribuição em escala fina desta espécie. Encontramos uma relação positiva entre a ocupação do sapinho e a densidade da vegetação arbustiva, enquanto a probabilidade de detecção estava relacionada negativamente à temperatura. A associação entre afloramentos rochosos e vegetação arbustiva pode funcionar como refúgios importantes para a espécie. A expansão da degradação do habitat pode ser uma séria ameaça para essa espécie, uma vez que afloramentos rochosos têm sido degradados por atividades humanas nas áreas adjacentes, mudando a configuração desse habitat. Aqui, estamos fornecendo informações que podem ajudar na persistência das populações e no plano de conservação para a espécie, bem como de seus habitats associados.

Palavras-chave: modelagem de ocupação, sapinho-da-barriga-vermelha, *Melanophrynniscus pachyrhynus*, campos sulinos, afloramento rochoso, uso do habitat

ABSTRACT

Understanding species-habitat association in fine-scale is a way to establish strategies to prevent population declines but there is very limited knowledge for amphibian species. The South American red-belly toad, *Melanophryne pachyrhynus*, occurs in open areas with rocky outcrops and is usually found only during explosive breeding events. Using an occupancy-detection model with Bayesian approach we evaluated non-breeding habitat use while accounting for detection probability to understand fine-scale distribution of this species. We found a positive relationship between toad occupancy and shrub vegetation density, while detection probability was negatively related to temperature. The association between rocky outcrops and shrub vegetation may work as important refuges for the species. The expansion of habitat degradation could be a serious threat to this species, since rocky outcrops have been degraded by human activities changing habitat configuration. We provide information that may help planning the persistence and conservation of the populations of this species, as well as its associated habitats.

Keywords: occupancy modeling, red-belly toad, *Melanophryne pachyrhynus*, southern grasslands, rocky outcrop, habitat use

INTRODUÇÃO GERAL

Os padrões de distribuição da biodiversidade resultam de uma combinação de fatores históricos e ecológicos e o modo como as espécies se distribuem ao longo dos ambientes tem despertado interesse da comunidade científica há mais de um século (Wallace 1860; Grinnell 1917). À medida que as ameaças à biodiversidade se aceleram (Valenzuela-Ceballos et al. 2015), é fundamental identificar os fatores-chave para a distribuição de espécies e as escalas espaciais correspondentes em que operam, para guiar à gestão da vida selvagem e à biologia da conservação (Guisan e Zimmermann 2000; Armstrong 2005; Ando et al. 1998).

Os fatores determinantes na distribuição das populações de animais variam entre escalas espaciais e, muitas vezes, são consequência de processos que operam em múltiplas escalas (Ricklefs 1987; Jacquemyn et al. 2002; Cushman e McGarigal 2004). Em escalas espaciais mais amplas, a variação nos padrões de ocorrência de espécies dependem de processos de migração (movimento de indivíduos entre manchas de recursos) e dispersão (movimento de indivíduos entre as populações locais) (Dunning et al. 1992; Sjögren Gulve 1994; Boscolo e Metzger 2011; Dullinger et al. 2011), e mais recentemente dos efeitos das mudanças climáticas a nível global (Walther et al. 2002). Estudos em escalas globais têm sido relevantes para entender os declínios, as ameaças e as extinções de muitas espécies (Ceballos et al. 2017). Contudo, em escalas locais, a ocupação é influenciada por processos associados com a qualidade do habitat e os níveis de interação entre espécies (Johnson et al., 2002; Van Buskirk, 2005). Com isso, estudos de fina-escala detalham o uso de recursos e os padrões de distribuição de espécies dentro de seu domínio de distribuição (Wiens 1989).

Wiens(1976) já trazia um conceito importante sobre as respostas das populações à heterogeneidade ambiental, onde afirmava que a chave para entender as relações espécie-habitat é derrubar nossas próprias concepções de escala ambiental e, em vez disso, focar nas percepções dos organismos, tentando visualizar a estrutura ambiental através de seus sentidos. Neste contexto, diante do cenário crítico de ameaças a biodiversidade, Ceballos et al. (2017) traz uma

ideia parecida, de que os declínios e extinções de espécies são melhor compreendidos através de uma perspectiva local, avaliando pequenas populações, porque as extinções das populações são mais frequentes do que as extinções de espécies e, isso contribui com o sexto episódio de extinção em massa da Terra, podendo ser ainda maior do que é assumido. Além disso, a perspectiva local tem sido importante para avaliar o status das populações de espécies (Van Buskirk 2005), pois nos permite compreender as preferências ambientais e o uso dos recursos pelas espécies e, como consequência, avaliar a saúde das populações. Essas informações são importantes para o gerenciamento do habitat, e dificilmente são acessadas por abordagens de escala mais grosseira (Fernandez et al. 2003, Soares e Brito 2007).

De forma aplicada, uma ampla classe de técnicas e modelos é empregada em estudos sobre uso de recursos e utiliza dados de ocorrência ou abundância de animais em pontos, juntamente com variáveis tomadas para cada local (Gorosito et al. 2016). Um problema comum nos estudos de modelagem de habitat é que, embora a presença da espécie possa ser detectada em determinado ambiente, geralmente é difícil demonstrar a sua ausência (Boyce et al. 2002). Neste contexto, várias abordagens usando modelos lineares generalizados (GLMs) podem ser empregadas para avaliar a ocupação de habitats pelas populações, procurando associações entre variáveis ambientais e a ocorrência da espécie, assim como associações entre as variáveis e a não ocorrência da espécie em distintas unidades amostrais (Gorosito et al. 2016). Outro problema, muitas vezes ignorado em modelagem de distribuição de espécies é a variação na probabilidade de detecção das espécies, definida como a probabilidade de detectar pelo menos um indivíduo da espécie durante uma ocasião de amostragem particular, dado que indivíduos da espécie estão presentes na área (Boulinier et al. 1998, Mackenzie et al. 2002).

Os modelos que contam com registros repetidos de detecção / não detecção de espécies no mesmo local, explicam o viés causado quando não se observa as espécies alvo e têm mudado a forma como estimamos e pensamos em informações espacialmente explícitas (Bailey et al. 2014), evitando conclusões tendenciosas. Raramente podemos assumir que a detecção de animais em seu ambiente é perfeita ou constante, e por isso essa premissa tem sido amplamente criticada (Preston 1979; Nichols 1992; Pollock et al. 2002; Williams et al. 2002; Guillera-Arroita et al.

2014). Compreender o uso de recursos bem como outros parâmetros ecológicos requer abordagens mais sofisticadas do que índices simples quando buscamos inferências de maior precisão e confiabilidade. O desenvolvimento de métodos de amostragem e analíticos incorporando detecção imperfeita tem aumentado e há uma crescente literatura recomendando o uso desses métodos (Mackenzie et al. 2002; Mackenzie e Royle 2005; Mackenzie 2005; Bailey et al. 2007; Guillera-Arroita et al. 2014; Kéry e Royle 2016; Guillera-arroita 2017). Ao utilizar modelos que incorporam vieses amostrais, não comprometemos as inferências (Mazerolle et al. 2007; Kroll et al. 2006), já que, a detectabilidade pode depender do método de amostragem selecionado, do esforço de amostragem, do tipo de habitat, bem como da acuidade visual ou auditiva dos observadores (Heyer et al. 1994; Bailey et al. 2004).

Assim como para outros temas, no contexto da distribuição espacial dos animais, novas aplicações tratando de associar dados de presença e ausência com variáveis ambientais incorporando a detecção imperfeita têm surgido (Guillera-Arroita 2017). Os modelos de ocupação ou ocupação-detecção (Gorosito et al. 2014) são uma das muitas ferramentas estatísticas usadas para compreender a distribuição de espécies, com a vantagem de incorporar erros amostrais (Mackenzie et al. 2002; Tyre et al. 2003, Royle e Dorazio 2008). Esses modelos têm ganhado espaço, principalmente na última década e, têm sido cada vez mais usados (Bailey et al. 2014), sendo indicados, inclusive, como ferramentas analíticas de grande robustez para compreender a seleção de habitat em escala fina (Jiménez-Alfaro et al. 2012; Gorosito et al. 2016; Glisson et al. 2017), sendo assim mais realistas e úteis para estabelecer estratégias de manejo (Guillera-arroita 2017). Além disso, a precisão na determinação da ocupação do habitat pode variar dependendo da ecologia e comportamento das espécies, sendo particularmente importantes para estudos que tratam de organismos raros ou difíceis de encontrar (Garshelis 2000, Thompson 2004).

Entre os organismos com os quais há grandes dificuldades para trabalhar no seu ambiente natural porque são caracterizados por relativamente alta sobrevivência e baixa detecção, estão os anfíbios e os répteis (Parker e Plummer 1987). A história de vida e os hábitos de anfíbios e répteis dificultam sua detecção em seus ambientes, onde muitas espécies são noturnas, possuem padrões de cores disruptivas, ocupam espaços subterrâneos ou águas turvas, e podem ser visíveis somente

durante determinadas épocas do ano ou em condições climáticas particulares (Mazerolle et al. 2007). Mesmo com experiência de campo, pesquisadores precisam realizar um nível de esforço para alcançar uma boa precisão em estudos com herpetofauna que, muitas vezes, não é possível (Guimarães et al. 2014). Desse modo, herpetólogos têm incentivado a aplicação dessas ferramentas que incorporam detecção imperfeita para estimar parâmetros populacionais de anfíbios e répteis. Em um estudo publicado na revista científica *Journal of Herpetology*, Mazerolle et al. (2007) encorajam outros herpetólogos a usar métodos que incorporam detectabilidade, desde o delineamento amostral até a análise estatística. Os autores sugerem que assumir detecção imperfeita em estudos herpetológicos pode levar a grandes avanços para os estudos que visam conservar populações. Em outro estudo mais recente, publicado na *South American Journal of Herpetology*, Guimarães et al. (2014), demonstram como pode ser problemático não considerar erros amostrais para estimar parâmetros quando se trata desses grupos, e fazem recomendações sobre os desenhos amostrais usados para estimar tais viéses. O problema em não conseguir boa precisão nas inferências sobre parâmetros populacionais para espécies de anfíbios e répteis afeta diretamente as soluções de manejo, já que esses grupos encontram-se com declínios populacionais observados no mundo todo (Gibbons et al. 2000; Stuart et al. 2004; Bohm et al. 2013).

Os anfíbios correspondem ao grupo com mais espécies ameaçadas entre os vertebrados, com a maioria dos declínios concentrados nas Américas (Ceballos et al. 2017). As perdas de populações de anfíbios têm sido demonstradas há décadas como um problema global com causas locais complexas (Alford e Richards 1999; Hoffmann et al. 2010). Uma das maiores ameaças para as populações de anfíbios é a perda de habitat, embora a maioria dos estudos não forneça informações claras sobre as implicações populacionais (Cushman 2006). Desse modo, os anfíbios estão entre os grupos de organismos prioritários para conservação global (Bury e Corn 1988; Rapport 1989; Vitt et al. 1990; Welshe Ollivier 1998) e aumentar os estudos com inferências confiáveis sobre os padrões de habitat relevantes para as populações desse grupo é urgentemente necessário (McGarigal e Cushman 2002; Bailey et al. 2004).

De modo geral, o uso do habitat em anfíbios é pouco compreendido (Lemckert 2004) e, muitos estudos abordando o tema não estimam a probabilidade de detecção (Hecnar e M'Closkey

1996, Skelly et al. 1999, Carlson e Edensham 2000, Joly et al. 2001, Houlahan & Findlay 2003, Trenham et al. 2003). Desse modo, as falsas ausências devem ser comuns, já que anfíbios são discretos e muitas vezes ignoram anos de reprodução (Van Buskirk 2005). Além disso, a maioria das informações sobre o uso do habitat para anfíbios vem de locais de reprodução ou zonas úmidas com, geralmente, maior detecção de espécies (e.g. Crump 1991; Vos e Chardon 1998; Blaustein 1999; Skelly et al. 1999; Skelly 2001; Hazell et al. 2003; Goldberg et al. 2006; Scherer et al. 2012). No entanto, os anfíbios, naturalmente, procuram refúgios para descansar, reter a umidade e esconder-se de predadores, exibindo uma grande variedade de requisitos de habitat (Stebbins e Cohen 1995). Sem esses ambientes as populações podem ser levadas ao declínio, já que geralmente ectotérmicos dependem de habitats favoráveis para controlar a temperatura corporal e, no caso dos anfíbios, o balanço hídrico (Howes e Lougheed 2004). Em uma revisão sobre efeitos da perda e fragmentação de habitat sobre o grupo, Cushman (2006) sugere a necessidade de estudos que abordem as características ecológicas específicas para as espécies e suas interações com as condições ambientais em escalas espaciais distintas, evitando generalizações. O autor argumenta que a caracterização do habitat específico de cada anfíbio é essencial para cientistas avaliarem efeitos da perda de habitat em populações, já que as populações de anfíbios flutuam fortemente e experimentam extinções locais frequentes (Marsh 2001). Assim, modelar a ocupação do habitat por espécies de anfíbios pode indicar a distribuição de habitats favoráveis para conservação.

Ainda se desconhece muito da ecologia e uso de habitat de algumas espécies de anfíbios neotropicais, como é o caso dos sapinhos-da-barriga-vermelha (*Melanophrynniscus* spp.). Esses sapinhos são caracterizados por apresentarem coloração aposemática associada ao comportamento defensivo chamado de “unken-reflex” (Santos e Grant 2011), reprodução explosiva associada a fortes chuvas (Wells 1977) e estreitas relações com o hábitat devido às altas taxas de endemismo (Bencke 2009). Secretam alcalóides (Daly et al., 2008; Jeckel et al. 2015) e, geralmente, apresentam hábito diurno (e.g. Langone 1994; Kwet e Di-Bernardo 1999), apesar de algumas espécies terem registros de continuar em atividade reprodutiva à noite (Santos e Grant 2011). Essas espécies ocorrem na América do Sul subtropical e tropical e são caracterizadas por

serem endêmicas de pequenas áreas, em alguns casos, limitadas a apenas uma ou duas localidades (Zank et al., 2014). Habitam diversos biomas que incluem grandes áreas abertas que são dominadas por campo (e.g. Pampas e Savana uruguaia), extensas savanas de floresta (e.g. Chaco e Cerrado) e florestas subtropicais (e.g. Mata Atlântica e Yungas) (Baldo et al. 2014). São espécies curiosas, geralmente detectadas apenas durante um curto período de tempo em ambientes aquáticos temporários criados após chuvas intensas em eventos de reprodução (Kwet e Di-Bernardo 1999; Vaira 2005; Goldberg et al. 2006; Achaval & Olmos, 2007; Cairo et al, 2008; Maneyro e Kwet 2008; Santos e Grant 2011; Pereyra et al. 2011; Santos et al. 2011). Devido, principalmente, a dificuldade conhecida de encontrar a espécie em locais usados como refúgios, o conhecimento sobre as demandas ambientais ainda é escasso para esse gênero e os poucos estudos sobre uso de habitat para as espécies estão focados no sítio reprodutivo (Santos et al. 2011; Goldberg et al. 2006; Pereyra et al. 2011). Alguns autores mostraram a atividade reprodutiva desses sapinhos associada à precipitação e à temperatura (Vaira 2005; Cairo et al. 2008; Pereyra et al. 2011; Friedman et al. 2016), porém os habitats de refúgio para essas espécies são completamente desconhecidos. Assim como já foi observado para outros anfíbios (Degani e Carmali 1988; Nomura et al. 2009), suspeita-se que as espécies do gênero *Melanophryniscus* enterram-se, sob influência de temperaturas desfavoráveis, enquanto não estão em atividade reprodutiva, e por conta disso, são difíceis de encontrar (Zank et al. 2014). O principal interesse em estudar o grupo é o mistério de sua distribuição espacial enquanto estão inativos, procurando abrigo ou alimentando-se. Além disso, a maioria das 29 espécies de sapinhos-da-barriga-vermelha (Frost 2017) possui grande interesse conservacionista. Entre os 23 *Melanophryniscus* spp. avaliados na lista de espécies ameaçadas em nível global, 11 espécies estão ameaçadas e outras seis encontram-se classificadas como Deficiente em Dados (IUCN 2017). Por isso, além da curiosidade científica, é necessário gerar informações sobre o uso do habitat dessas espécies para entender a saúde das populações.

Um dos sapinhos desse gênero que possui grande parte da sua ecologia ainda desconhecida é *Melanophryniscus pachyrhynus* (Fig 1) (Garcia e Segalla 2004; Kwet et al. 2005; Maneyro e Kwet 2008; Vaz-Silva et al. 2008; Santos et al. 2011; Caldart et al. 2013) e,

consequentemente, está listada internacionalmente como "Data Deficient" (IUCN 2017). Como outras espécies do gênero, sua coloração dorsal é críptica, podendo estar associada com o habitat característico, neste caso, com o padrão de cores dos afloramentos rochosos (Fig 1b). A espécie possui registro para as seguintes localidades: São Lourenço do Sul (localidade tipo), Porto Alegre, São Jerônimo, Dom Feliciano, e Caçapava do Sul, no sul do Brasil, e Cuchilla de Mangrullo, nordeste do Uruguai (Vaz-Silva et al. 2008). Seus hábitos se resumem a descrições de coletas de exemplares sob pedras próximas a pequenos cursos de água (Baldo et al. 2012) com uma aparente associação a afloramentos rochosos (Vaz-Silva et al. 2008) em ambientes montanhosos do bioma Pampa, onde habita.

Os ambientes de afloramento rochoso exigem adaptações para sobreviver em condições extremas, como a grande amplitude térmica, os ventos fortes e os períodos secos (Fredericksen et al. 2003). São comumente encontrados nos Campos Sulinos (Overbeck et al. 2007), apresentando padrões típicos, tais como ilhas de rocha cercadas por vegetação campestre e, canais de drenagem que ligam as pequenas e rasas poças naturais sazonais (Caiafa e Silva 2007). Entre os fatores que atraem as espécies para esses ambientes incluem o calor latente que irradia da superfície da rocha após o pôr-do-sol, temperaturas mais altas durante o dia, áreas de disponibilidade de água com alta umidade e várias características estruturais únicas que são características importantes do habitat para algumas espécies selvagens (Fredericksen et al. 2003). Por conta disso, esses ambientes possuem grande interesse conservacionista, compreendem alta biodiversidade, além de muitas espécies endêmicas (Withers e Edward 1997), com diversas estratégias comportamentais para persistir frente às variações térmicas características (Fredericksen et al. 2003). Entretanto afloramentos rochosos são ambientes que vêm sofrendo fortes impactos por atividades humanas, incluindo criação de gado, fogo e silvicultura (Kolbek et al. 2008). Por causa da raridade natural do gênero (Zank et al. 2014) ou apenas devido ao erro de observação existem lacunas de informação na distribuição espacial, necessidades ecológicas e status de conservação da espécie *M. pachyrhynus* (Maneyro e Kwet 2008).

Assim, dada a falta de informações sobre os requisitos de habitat para as espécies de anfíbios, principalmente enquanto não estão se reproduzindo e a importância de estudos locais

buscando precisão nas estimativas para entender a saúde das populações, nosso objetivo foi determinar os preditores locais de ocupação do habitat pelo sapinho-da-barriga-vermelha (*M. pachyrhynus*) em afloramentos rochosos de uma perspectiva detalhada. Usando a modelagem de ocupação-detecção, testamos a hipótese de que a espécie está associada a características específicas de afloramentos rochosos. As rochas soltas atuam como refúgios e a vegetação arbustiva densa desempenha um papel importante no controle da umidade do microhabitat e essas características são positivamente relacionadas à presença da espécie. As baixas inclinações acumulam poças de água temporárias usadas para reprodução e os sapos deverão ser encontrados mais frequentemente nesses locais. Finalmente, habitats rochosos com menor radiação solar podem manter temperaturas estáveis para a atividade do sapo. Nossa objetivo principal é avançar o conhecimento sobre a ocorrência desta espécie usando uma ferramenta precisa em uma escala local.



Figura 1 Indivíduos da espécie *Melanophryniscus pachyrhynus* (a) em atividade reprodutiva nas poças temporárias (b) indivíduos exibindo comportamento característico de reflexo “unken” em vista dorsal com coloração críptica sob afloramento rochoso.

Referências Bibliográficas

- Achaval, F. Olmos, A. (2007) Anfibios y Reptiles Del Uruguay. 3rd Ed. Biophoto, Montevideo, 160 pp.
- Alford RA, Richards SJ (1999) Global Amphibian Declines: A Problem in Applied Ecology. Annual Review of Ecology and Systematics 30:133-165.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.30.1.133>
- Ando A, Camm J, Polasky S, Solow A (1998) Species Distributions , Land Values , and Efficient Conservation. Science, 279(5359), pp.2126–2128. DOI: 10.1126/science.279.5359.2126
- Armstrong DP (2005) Integrating the metapopulation and habitat paradigms for understanding broad- scale declines of species. Conserv. Biol. 19, 1402– 1410. doi: 10.1111/j.1523-1739.2005.00117.x.
- Bailey LL, Hines JE, Nichols JD, MacKenzie DI (2007) Sampling design trade-offs in occupancy studies with imperfect detection: Examples and software. Ecol Appl 17:281–290.doi: 10.1890/1051-0761(2007)017[0281: SDTIOS]2.0.CO;2
- Bailey LL, Mackenzie DI, Nichols JD (2014) Advances and applications of occupancy models. Methods Ecol Evol 5:1269–1279. doi: 10.1111/2041-210X.12100
- Baldo (2012) The taxonomic status of *Melanophrynniscus orejasmirandai* (Anura, Bufonidae). Zootaxa 61:45–61.
- Bencke GA (2009) Diversidade e conservação da fauna dos Campos do Sul do Brasil. In Campos Sulinos - Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade. (V.P. Pillar, S.C. Müller, Z.M.S. Castilhos, A.V.A. Jacques, Eds.), pp. 101-121. MMA, Brasília, DF, Brasil.
- Blaustein L (1999) Oviposition habitat selection in re- sponse to risk of predation: consequences for population dynamics and community structure. In: Evolutionary Theory and Processes: Modern Perspectives, p. 441- 456. Wasser, S.P., Ed., Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Böhm M, Collen B, Baillie JEM, Bowles P, Chanson J, Cox N, Hammerson G, Hoffmann M, Livingstone SR, Ram M, et al. (2013) The conservation status of the world's reptiles. Biological Conservation 157:372–385. doi: 10.1016/j.biocon.2012.07.015.

- Boscolo D, Metzger JP (2011) Isolation determines patterns of species presence in highly fragmented landscapes. *Ecography* 34:1018–1029.
- Boulinier T, Nichols JD, Sauer JR, Hines JE, Pollock KH (1998) Estimating species richness: the importance of heterogeneity in species detectability. *Ecology* 79: 1018–1028.
- Boyce MS, Vernier PR, Nielsen SE, Schmiegelow FKA (2002) Evaluating Resource Selection Functions. *Ecological Modelling*, 157, 281-300.486
- Bury RB, Corn PS (1988) Douglas-fir forests in the Oregon and Washington Cascades: relation of the herpetofauna to stand age and moisture. Pages 11–22 In: Szaro RC, Severson KE, Patton DR, editors. *Management of amphibians, reptiles, and small mammals in North America*. U.S. Forest Service General Technical Report GTR RM-166.
- Cairo SL, Zalba SM, Úbeda CA (2008) Reproductive behaviour of *Melanophrynniscus* sp. From Sierra de la Ventana (Buenos Aires, Argentina). *South American Journal of Herpetology*, 3(1):10-14.
- Carlson A, Edenhamn P (2000) Extinction dynamics and the regional persistence of a tree frog metapopulation. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 267: 1311–1313.
- Ceballos G, Ehrlich PR, Dirzo R (2017) Biological annihilation via the ongoing sixth mass extinction signaled by vertebrate population losses and declines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. doi: 10.1073/pnas.1704949114
- Crump ML (1991) Choice of oviposition site and egg load assessment by a tree frog. *Herpetologica*, 47(3):308-315.
- Cushman SA, McGarigal K (2004) Hierarchical analysis of forest bird species-environment relationships in the Oregon Coast Range. *Ecological Applications* 14 (4), 1090–1105.
- Cushman SA (2006) Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biol Conserv* 128:231–240.doi: 10.1016/j.biocon.2005.09.031.
- Daly JW, Garraffo HM, Spande TF, Yeh HJC, Peltzer PM, Cacivio PM, Baldo JD, Faivovich J (2008) Indolizidine 239Q and quinolizidine 275I. Major alkaloids in two Argentinian bufonid toads (*Melanophrynniscus*). *Toxicon*, 52, 858–870.

- Degani G, Carmali D (1988) Burrowing Behaviour of *Pelobates syriacus*. *Biology of Behaviour*, 13, 22-29.
- Dullinger S, Mang T, Dirnbock T, Ertl S, Gattringer A, Grabherr G, Leitner M, Hulber K (2011) Patch configuration affects alpine plant distribution. *Ecography* 34:576–587.
- Dunning JB, Danielson BJ, Pulliam HR (1992) Ecological processes that affect populations in complex landscapes. *Oikos* 65:169–175.
- Fernandez N, Delibes M, Palomares F, Mladenoff DJ (2003) Identifying breeding habitat for the iberian lynx: Inferences from a fine-scale spatial analysis. *Ecol Appl* 13:1310–1324.doi: 10.1890/02-5081
- Fredericksen NJ, Fredericksen TS, Flores B, et al (2003) Importance of granitic rock outcrops to vertebrate species in a Bolivian tropical forest. *Trop Ecol* 44:185–196.
- Friedman M, Cepeda RE, Cortelezzi A, et al (2016) Searching for an elusive anuran: A detection model based on weather forecasting for the tandilean red-belly toad. *Herpetol Conserv Biol* 11:476–485.
- Frost, Darrel R (2017) Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (Date of access). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Garcia P, Segalla MV (2004) *Melanophryniscus pachyrhynus*. In: IUCN Red List of Threatened Species. Electronic database accessible at <www.iucnredlist.org>. Captured on 8 November 2007.
- Garshelis DL (2000) Delusions in habitat evaluation: measuring use, selection, and importance. In Research techniques in animal ecology: controversies and consequences (eds. L. Boitani, T. K. Fuller), pp. 111–164. New York, NY: Columbia University Press.
- Gibbons JW, Scott DE, Ryan TJ, Buhlmann KA, Tuberville TD, et al. (2000) The global decline of reptiles, deja vu amphibians. *Bioscience* 50: 653–666.

- Glisson WJ, Conway CJ, Nadeau CP, Borgmann KL (2017) Habitat models to predict wetland bird occupancy influenced by scale, anthropogenic disturbance, and imperfect detection. *Ecosphere* 8:e01837. doi: 10.1002/ecs2.1837
- Goldberg FJ, Quinzio S, Vaira M (2006) Oviposition-site selection by the toad *Melanophryniscus rubriventris* in an unpredictable environment in Argentina. *Can J Zool* 84:699–705. doi: 10.1139/z06-038
- Gorosito IL, Marziali Bermúdez M, Douglass RJ, Busch M (2016) Evaluation of statistical methods and sampling designs for the assessment of microhabitat selection based on point data. *Methods Ecol Evol* 7:1316–1324. doi: 10.1111/2041-210X.12605.
- Grinnell J (1917) Field tests of theories concerning distributional control. *American Naturalist*, 51:115-128. [Http://dx.doi.Org/10.1086/279591](http://dx.doi.org/10.1086/279591).
- Guillera-Arroita G, Lahoz-Monfort JJ, MacKenzie DI, et al (2014) Ignoring imperfect detection in biological surveys is dangerous: A response to “fitting and interpreting occupancy models.” *PLoS One*. doi: 10.1371/journal.pone.0099571
- Guillera-arroita G (2017) Modelling of species distributions , range dynamics and communities under imperfect detection : advances , challenges and opportunities Ecography E4 award Ecography E4 award. 281–295. doi: 10.1111/ecog.02445
- Guimarães M, Jr PFD, Munguía-steyer R, et al (2014) Strengthening Population Inference in Herpetofaunal Studies by Addressing Detection Probability Strengthening Population Inference in Herpetofaunal. *South American Journal of Herpetology*. 9:1–8. doi: 10.2994/SAJH-D-13-00020.1
- Guisan A, Zimmermann NE (2000) Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*. 135:147–186. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(00\)00354-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(00)00354-9)
- Hazell D, Hero JM, Lindenmayer D, Cunningham R (2003): A comparison of constructed and natural habitat for frog conservation in an Australian agricultural landscape. *Biol. Conserv.* 119: 61-71.
- Hecnar SJ, M'Closkey RT (1996) Regional dynamics and the status of amphibians. *Ecology* 77:2091–2097.

Heyer RW, Donnelly MA, McDiarmid RW, Hayek LAC, Foster MS (1994) Measuring and Monitoring Biological Diversity: Standard Methods for Amphibians. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.

Hoffmann M, et al. (2010) The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science* 330:1503–1509.

Houlehan JE, Findlay CS (2003) The effects of adjacent land use on wetland amphibian species richness and community composition. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 60:1078–1094.

Howes BJ, Lougheed SC (2004) The importance of cover rock in northern populations of the five-lined skink (*Eumeces fasciatus*). *Herpetologica*, 60, 287–294.

Jacquemyn H, Brys R, Hermy M (2002) Patch occupancy, population size and reproductive success of a forest herb (*Primula elatior*) in a fragmented landscape. *Oecologia* 130:617–625.

Jeckel AM , Saporito RA and Grant T (2015) The Relationship between Poison Frog Chemical Defenses and Age , Body Size , and Sex. *Frontiers in Zoology* 2015: 12–27. [Http://dx.doi.org/10.1186/s12983-015-0120-2](http://dx.doi.org/10.1186/s12983-015-0120-2).

Jiménez-Alfaro B, Draper D, Nogués-Bravo D (2012) Modeling the potential area of occupancy at fine resolution may reduce uncertainty in species range estimates. *Biol Conserv* 147:190–196.doi: 10.1016/j.biocon.2011.12.030

Joly P, Miaud C, Lehmann A, Grolet O (2001) Habitat matrix effects on pond occupancy in newts. *Conservation Biology* 15:239–248.

Kéry M, Royle J (2016) Applied hierarchical modeling in ecology: Analysis of distribution, abundance and species richness using R and BUGS, Vol. 1. Academic Press, San Diego, CA.

Kolbek, Jiří, Ruy José, Válka Alves (2008) Impacts of Cattle, Fire and Wind in Rocky Savannas, Southeastern Brazil. *Acta Universitatis Carolinae Environmentalica* 22: 111–30.

Kroll AJ, Duke SD, Runde DE, Arnett EB, Austin KA (2006) Modeling habitat occupancy of orange-crowned warblers in managed forests of Oregon and Washington, USA. *J Wildl Manag* 71:1089–1097.

Kwet A, Di-Bernardo M (1999) Anfibios - Amphibien- Amphibians. EDIPUCRS, Porto Alegre, 107p.

Kwet A, Maneyro R, Zillikens A, Mebs D (2005) Advertisement calls of *Melanophrynniscus dorsalis* (Mertens, 1933) and *M. Montevidensis* (Philippi, 1902), two parapatric species from southern Brazil and Uruguay, with comments on morphological variation in the *Melanophrynniscus stelzneri* group (Anura: Bufonidae). Salamandra 41(1/2): 1-18.

Langone, JA (1994) Ranas y sapos del Uruguay (reconocimiento y aspectos biológicos). Museo Damaso Antonio Larrañaga, Montevideo.

Lemckert FL (2004) Variations in anuran movements and habitat use: implications for conservation. Applied Herpetology 1:165–181.

Mackenzie DI, Royle JA (2005) Designing occupancy studies: general advice and allocating survey effort. J Appl Ecol 42:1105–1114.doi: 10.1111/j.1365-2664.2005.01098.x

MacKenzie DI, Nichols JD, Lachman GB, et al (2002) Estimating site occupancy rates when detection probabilities are less than one. Ecology 83:2248–2255.doi: 10.1890/0012-9658(2002)083[2248:ESORWD]2.0.CO;2

Mackenzie DI (2005) Was it there? Dealing with imperfect detection for species presence/absence data. Australian and New Zealand Journal of Statistics. 47(1), 65–74

Maneyro R, Kwet A (2008) Amphibians in the border region between Uruguay and Brazil: Updated species list with comments on taxonomy and natural history (Part I: Bufonidae). Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde A 1:95-121.

Marsh DM (2001) Fluctuations in amphibian populations: a meta-analysis. Biological Conservation 101:327–2335.

Mazerolle MJ, Bailey LL, Kendall WL, et al (2007) Making Great Leaps Forward: Accounting for Detectability in Herpetological Field Studies. J Herpetol 41:672–689.doi: 10.1670/07-061.1

Mcgarigal K, Cushman SA (2002) Comparative evaluation of experimental approaches to the study of habitat fragmentation effects. Ecological Applications 12 (2), 335–345.

- Nichols JD (1992) Capture-recapture models: using marked animals to study population dynamics. *Bioscience* 42:94–102.
- Nomura F, Rossa-Feres DC, Langeani F (2009) Burrowing behavior of *Dermatonotus muelleri* (Anura, Microhylidae) with reference to the origin of the burrowing behavior of Anura. *J Ethol* 27:195–201.doi: 10.1007/s10164-008-0112-1
- Overbeck GE, Müller SC, Fidelis A, Pfadenhauer J, Pillar VD, Blanco CC, Boldrini II, Both R, For-neck ED (2007) Brazil's neglected biome: The South Brazilian Campos. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 9:101–116.doi: 10.1016/j.ppees.2007.07.005
- Parker WS, Plummer MV (1987) Population ecology. In: Seigel RA, Collins JT, Novak SS, editors. *Snakes: ecology and evolutionary biology*. New York: macmillan Publ. Comp. Pp. 253–301.
- Pereyra LC, Lescano JN, Laynaud GC (2011) Breeding-site selection by red-belly toads, *Melanophrynniscus stelzneri* (Anura: Bufonidae), in Sierras of Córdoba, Argentina. *Amphibia-Reptilia* 32:105–112.doi: 10.1163/017353710X543029
- Pollock, KH, Nichols JD, Simons TR, Farnsworth GL, Bailey LL, Sauer JR (2002) Large scale wildlife monitoring studies: statistical methods for design and analysis. *Environmetrics* 13:105–119.
- Preston, FW (1979) The invisible birds. *Ecology* 60: 451–454.
- Rapport, DJ (1989) What constitutes ecosystem health? *Perspect. Biol. Med.* 33:120-132.
- Ricklefs, RE (1987) Community diversity: relative roles of local and regional processes. *Science* 235:167–171.
- Royle JA, Dorazio RM (2008) Hierarchical modeling and inference in ecology. Elsevier Academic Press, Oxford, United Kingdom.
- Santos TGD, Maneyro R, Cechin SZ and Haddad C (2011) Breeding habitat and natural history notes of the toad. *Herpetol Bull* 1:15–18.
- Santos RR, Grant T (2011) Diel pattern of migration in a poisonous toad from Brazil and the evolution of chemical defenses in diurnal amphibians. *Evolutionary Ecology*, 25: 249-58.

Scherer RD, Muths E, Noon BR (2012) The importance of local and landscape-scale processes to the occupancy of wetlands by pond-breeding amphibians. *Popul Ecol* 54:487–498. doi: 10.1007/s10144-012-0324-7

Sjogren-Gulve P (1994) Distribution and extinction patterns in a northern metapopulation of the pool frog, *Rana lessonae*. *Ecology* 75:1357–1363.

Skelly DK (2001): Distributions of pond-breeding anurans: an overview of mechanisms. *Isr.J.Zool.* 47: 313- 332 *Ecology* 80: 2326-2337.

Skelly DK, Werner EE, Cortwright SA (1999): Long-term distributional dynamics of a Michigan amphibian assemblage.

Soares C, Brito JC (2007) Environmental correlates for species richness among amphibians and reptiles in a climate transition area. *Biodivers Conserv* 16:1087–1102.doi: 10.1007/s10531-006-9070-5

Stebbins RC, Cohen NW (1995) A natural history of amphibians. Princeton University Press, New Jersey, 316 pp.

Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fis-Chman DL, Waller RW (2004) Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306(5702):1783-1786. [Http://dx.doi.org/10.1126/science.1103538](http://dx.doi.org/10.1126/science.1103538).

The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 07 August 2017.

Thompson WL (ed.) (2004) Sampling Rare or Elusive Species. Island Press, Washington, D.C.

Trenham PC, Koenig WD, Mossman MJ, Stark SL, Jagger LA (2003) Regional dynamics of wetland- breeding frogs and toads: turnover and synchrony. *Ecological Applications* 13:1522–1532.

Tyre AJ, Tenhumberg B, Field SA, Niejalke D, Parris K, Possingham H (2003) Improving precision and reducing bias in biological surveys: estimating false-negative error rates. *Ecological Applications* 13:1790–1801.

Vaira M (2005) Annual variation of breeding patterns of the toad, *Melanophrynniscus rubriventris* (Vellard, 1947). *Amphibia-Reptilia*, 26:193–199.

Valenzuela-Ceballos S, Castañeda G, Rioja-Paradela T, Carrillo-Reyes A, Bastiaans E (2015)

Variation in the thermal ecology of an endemic iguana from Mexico reduces its vulnerability to global warming. *J. Therm. Biol.* 48.

Van Buskirk J (2005) Local and Landscape Influence on Amphibian Occurrence and Abundance. *Ecology* 86:1936–1947.doi: 10.1890/04-1237

Vaz-Silva W, Balestrin RL, Di-Bernardo M (2008) Rediscovery of *Melanophrynniscus pachyrhynus* (MiRanda- Ribeiro , 1920) (Amphibia : Anura : Bufonidae) in Southern Brazil , with addenda to species redescription. *South Am J Herpetol* 3:36–42.

Vitt LJ, Caldwell JP, Smith DC, Wilbur HM (1990) Amphibians as harbingers of decay. *Bioscience*, 40: 418.

Vos CC, Chardon JP (1998) Effects of habitat fragmentation and road density on the distribution pattern of the moor frog *Rana arvalis*. *Journal of Applied Ecology*, 35(1):44- 6. [Http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2664.1998.00284](http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2664.1998.00284).

Wallace AR (1860) On the zoological geography of the Malay Archipelago. *Proceedings of the Linnean Society of London*, 4:172-184. [Http://dx.doi.org/10.1111/j.1096-3642.1860.tb00090](http://dx.doi.org/10.1111/j.1096-3642.1860.tb00090).

Walther GR et al. (2002) Ecological Responses to Recent Climate Change. *Nature* 416(6879): 389–95.

Wells KD (1977) The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*, 25:449-455.

Welsh Jr, HH, Ollivier LM (1998) Stream amphibians as indicators of ecosystem stress: a case study from California's redwoods. *Ecological Applications* 8:1118–1132.

Wiens J (1976) Population responses to patchy environments. *Annu Rev Ecol Syst* 7:81–120.

Wiens JA (1989) Spatial Scaling in Ecology. *Funct Ecol* 3:385. doi: 10.2307/2389612

Williams BK, Nichols JD, and Conroy MJ (2002) Analysis and Management of Animal Populations. Academic Press, New York.

Withers PC, Edward DHE (1997) Terrestrial fauna of granite outcrops in Western Australia. *J R Soc West Aust* 80:159–166.

Zank C, Becker FG, Abadie M, et al (2014) Climate change and the distribution of neotropical red-bellied toads (*Melanophrynniscus*, Anura, Amphibia): How to prioritize species and populations? PLoS One 9:1–11.doi: 10.1371/journal.pone.0094625

CAPÍTULO 1.

Unraveling fine-scale habitat use of a secretive toad: where to live when conditions are harsh?

Artigo submetido para publicação no periódico Oecologia

Normas aos autores:

http://www.springer.com/life+sciences/ecology/journal/442?print_view=true&detailsPage=pl_tci_1989608

Unraveling fine-scale habitat use of a secretive toad: where to live when conditions are harsh?

Karoline C. Gilioli¹; Marc Kéry², Murilo Guimarães^{1,2,3}

Address and affiliation:

1. Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Avenida Bento Gonçalves, 9500, CEP 91509-900, Porto Alegre, RS, Brazil
2. Swiss Ornithological Institute. Seerose 1, 6204, Sempach, Switzerland.
3. Corresponding author: mu.guima@gmail.com

Author Contributions: KG and MG conceived and designed the study, and carried out data collection. KG, MK and MG performed the analysis, and wrote the manuscript. All authors gave final approval for publication.

Abstract

A good understanding of species-habitat associations, or habitat use, is required to establish conservation strategies for any species. Many amphibian species are elusive especially outside of their breeding sites and hence, knowledge about their habitats is extremely limited for the greater part of the year. For such species, it is especially important to factor in detection probability in habitat analyses, because otherwise distorted views about habitat preferences may result, e.g., when a species is more visible in habitat type B than in A, even though A may be preferred. According to current knowledge, the South American red-belly toad, *Melanophryneiscus pachyrhynus*, is a range-restricted species from Southern Brazil and Uruguay. It inhabits open areas with rocky outcrops and is usually seen only during explosive breeding events that follow strong rainfall. We studied the fine-scale habitat use of the red-belly toad outside of the breeding season and test for the importance of accounting for species imperfect detection using Bayesian occupancy models. We identified shrub density and the number of loose rocks as important predictors of occupancy, while detection probability was highest at intermediate temperatures. Considering the harsh (dry and hot) conditions of rocky outcrops, shrubs and loose rocks may both work as important refuges, besides providing food resources and protecting against predation. Rocky outcrops have been suffering changes in habitat configuration and we identify nonbreeding habitat preferences at a fine scale, which may help to promote population persistence, and highlight the importance of accounting for imperfect detection when studying secretive species.

Keywords: amphibians, elusive species, occupancy modeling; local distribution, rocky outcrops

Introduction

Identifying the main factors predicting a species' distribution has been widely applied to wildlife management and recognized as being critical for guiding conservation efforts (Guisan and Zimmermann 2000; Armstrong 2005; Ando et al. 1998). At the same time, a clear understanding about the spatial scale at which the habitat is important for a species is needed (Law and Dickman 1998). Broad-scale (e.g., global) studies usually focus on very broad patterns of species occurrence and have revealed fast range declines of an increasing number of species (Pimm et al. 2014). However, the observed broad-scale distribution of a species may be poorly estimated without accounting for fine-scale variation of occurrence within the broad distribution limits of a species (Palmer and Dixon 1990).

Fine-scale variation of occurrence is governed by the effects relevant to individuals (Levin 1992) and consider different factors, including local resource use and microclimate (McInerny and Purves 2011). Such studies provide details about biological mechanisms underlying species distributions (Wiens 1989) and are critical to habitat management solutions that may not be afforded by broader scale approaches (Bosch et al. 2004; Soares and Brito 2007). A process occurring at the scale of a local population may determine species decline and recovery (Ceballos et al. 2017), since the habitat matrix occupied by a species at broad scales depends on the quality of the local habitat (Flesch 2017). Moreover, it is at the local scale where conservation measures can act, not usually at the scale of the entire distribution of a species (Ceballos et al. 2017). Therefore, a clear understanding of fine-scale habitat use of a study species is important both for scientific and for conservation purposes.

Amphibians are among the most endangered vertebrate groups and losses of amphibian populations have been a global concern for decades (Alford and Richards 1999; Hoffmann et al. 2010), where habitat loss is arguably the major threat to this group. Most previous studies have not provided clear insights about how habitat loss affects amphibian local populations in a mechanistic way (Cushman 2006), hence, local studies are particularly important to reveal key aspects for population persistence (McGarigal and Cushman 2002; Bailey et al. 2004). In

addition, the relatively low dispersal ability of amphibians makes fine-scale habitat studies particularly important.

In amphibians, there is a huge bias in habitat studies from reproductive sites during the calling and breeding season (Sluys and Guido-Castro 2011). The reason for this is that amphibian habitat use is comparatively easy to study on breeding sites where species density is high and they are easier to find (e.g., Hazell et al. 2003; Goldberg et al. 2006; Scherer et al. 2012). However, most species spend by far the largest part of the year in entirely different habitats where they are much more difficult to study. This is because they do neither congregate in large numbers nor call, and often remain hidden in refuges to retain humidity and to avoid predators (Stebbins and Cohen 1995). Thus, a habitat may be erroneously taken to be preferred, when in fact a species is simply more detectable there. Seasonal patterns in behavior also largely influence amphibian detection in the field (Petránka 1998; Bailey et al. 2004) and these characteristics altogether highlight the importance of explicitly accounting for spatial and temporal variation in the probability of detection of a species (Yoccoz et al. 2001).

In the context of species distribution, detection probability is usually taken to be the probability of detecting at least one individual of the species during a particular sampling occasion at a site where it is present (MacKenzie et al. 2002). Models relying on detection/non-detection data are able to account for bias caused when failing to observe the target species at occupied sites, i.e., for false-negative errors. Authors have emphasized the importance of accounting for detection probability to strengthen the inferences in herpetofaunal studies (Mazerolle et al. 2007; Guimarães et al. 2014), particularly those dealing with elusive species, which most herpetofauna belongs to.

The South American red-belly toads (*Melanophryneiscus* spp.) are secretive neotropical endemic anurans in some cases restricted to just a handful of known sites in subtropical and tropical South America (Zank et al. 2014). Twenty-nine species of red-belly toads are recognized (Frost 2017), and almost all information available is restricted to temporary aquatic environments that are created after intense rainfall, where explosive breeding occurs for short time periods (Santos et al. 2011 and references therein). Information on habitat use during the

non-breeding period is still lacking for most species. *Melanophryniscus pachyrhynus* is associated with rocky outcrop environments in upland open areas in the South American Pampa biome (Vaz-Silva et al. 2008; Baldo et al. 2014), in the southernmost part of Brazil and Uruguay. Much of its ecology remains unknown and the species is listed as Data Deficient in the IUCN Red List (IUCN 2017). Information about habitat preferences outside breeding sites is limited to observations of specimens found under rocks near small watercourses (Vaz-Silva et al. 2008).

Rocky outcrops form a specialized suite of habitats (e.g. rock pools, loose rocks, rock crevices) that connects with gallery forests, grasslands, and their vegetative succession stages (Withers 2000). They represent extreme habitats demanding adaptations to survive high thermal amplitudes, heavy winds, and drought (Fredericksen et al. 2003). These rock elements comprise high-biodiversity habitats with many endemic species (Withers and Edward 1997; Meirelles et al. 1999) that have been suffering from human activities, including livestock, fire, and forestry (Kolbek and Alves 2008). Given the uniqueness of those habitats and the elusive habits of the genus *Melanophryniscus* (Zank et al. 2014), there is thus an urgent need to fill information gaps in the spatial distribution and ecological requirements of this toads (Maneyro and Kwet 2008).

Here we assess habitat use for the red-belly toad *Melanophryniscus pachyrhynus* during the non-breeding period. Our goal is two-fold, where first (i) we investigate which characteristics of rocky outcrops enable the red-belly toad persistence and then (ii) we test the importance of accounting for false negative errors when determining species occupancy probability.

Materials and methods

Study area and sampling design

Our study was conducted in the South American Pampa biome, in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil (Fig.1). The climate is subtropical temperate with well-defined seasons, ranging from dry and hot in the austral summer (December – February) to cold and humid in the winter (June – August). High annual and daily thermal amplitudes are observed. Temperatures can vary from 4 °C to 28 °C during a single day in winter, and reach 40 °C in the summer. Regular rainfall, totaling between 1,200 and 1,600 mm annually, occurs throughout the year (Kottek et al. 2006). Our study area comprised a 500-ha area in a transition zone between Savanna and Seasonal Semi-deciduous Forest, at approx. 600 meters a.s.l. The area includes occasional slopes with hills and rocky outcrops surrounded by ephemeral ponds, grasslands, shrub vegetation and gallery forests (Online Resource 1).

To study fine-scale toad occurrence we superimposed a 30x30 meters-grid composed of approximately 6,000 grid cells over a 30-meter resolution satellite image. We randomly selected 96 sites that were surveyed between one and five times each. Since the dispersive capacity of red-belly toads is still unknown, grid cell size, corresponding to our sampling sites, was defined based on similar studies with small amphibians (Dillard et al. 2008). We excluded forested cells and also those strongly altered by anthropogenic activities, since our goal was to determine the fine-scale species' preferences in natural open areas with rocky outcrops, corresponding to previous knowledge about the biology of the species (Santos et al. 2011). Surveys took place from April to October 2016 for four days per month. We visited approximately 50 sites in each month, randomly chosen out the 96 sites. We used active visual searching (Heyer et al. 1994) during the day, from 8 am to 6 pm, targeting adult individuals outside of the breeding period, thus avoiding biases from births and migration movements. Four trained observers (for a total of 10) were deployed monthly to search the species, mainly under rocks, the supposed microhabitat shelter for the species.

Spatial and Temporal covariates of toad occupancy and detection probability

As spatial covariates we considered the number of loose rocks (*rocks*), grass and bush density cover at 50 cm high (*vegetation*), bare rocky surface (*barerock*), and slope of the site (*siteslope*). The number of loose rocks we could lift on each site was counted and then averaged across multiple visits to the same site. We systematically selected 12 1.5x1.5-meter plots inside of each 900-m² site to measure vegetation density and bare rocky surface by adapting the method of Cottam and Curtis (1956), see Online Resource 2. To express fine-scale slope, we took the highest and lowest altitudes of the site using a GPS.

All spatial covariates, except site slope, were also used to account for variation in detection probability in our model. Besides that, we included air temperature (*temperature*) and its quadratic term (*temperature*²), air humidity (*humidity*), and rainfall (*rainfall*). Additionally, we recorded sampling hour (*hour*, expressed as minutes after midnight) and sampling effort (*samplingeffort*) because the activity of our study species and sampling effort could both influence the probability of detecting the species. Finally, we included a random term (*eps.p*) assumed to be normally distributed with hyperparameters mean 0 and variance *tau.alpha0*. The random effect term addresses potential unmodeled heterogeneity among sites by covariates since it accounts for uncertainty and reduces bias when it is not possible to know or measure all sources of variation (Chelgren et al. 2011; Kéry and Schaub 2012).

Statistical analysis

We fitted a single-season occupancy model (Mackenzie et al. 2002) to jointly estimate species occupancy and detection probability. Occupancy models formally distinguish between two processes in the model structure, the ecological submodel for the presence or absence of the species and the observational submodel for measurement or observation process, represented by one or more parameters for imperfect detection (Kéry and Royle 2016). The presence/absence of the species at site i is modeled as binary latent occurrence indicator (z_i) treated as a Bernoulli random variable governed by parameter ψ (occupancy probability).

The measurement process is expressed by treating the observed detection or non-detection at site i during survey j as another Bernoulli random variable ($y_{i,j}$) with a success

probability that is the product of the species occurrence indicator (z_i) and detection probability $p_{i,j}$ at site i during survey j . The two parameters (ψ_i and $p_{i,j}$) are separately estimable through replicate visits. Effects of covariates were expressed via a *logit*-link function for site-specific covariates to model occupancy probability and for site- and time-specific covariates to explain variability in detection probability (Mackenzie et al. 2002). All covariates were scaled to have zero mean and unit variance. We considered only the main effects of these covariates and all covariate pairs presented correlation below 0.7. Our model for occupancy (1) at each site i , and for detection (2) at each site i and visit j were respectively:

$$\text{logit}(\psi_i) = \beta_0 + \beta_1 * \text{rocks}_i + \beta_2 * \text{barerock}_i + \beta_3 * \text{vegetation}_i + \beta_4 * \text{siteslope}_i \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \text{logit}(p_{i,j}) = \alpha_0 + \alpha_1 * \text{humidity}_{ij} + \alpha_2 * \text{temperature}_{ij} + \alpha_3 * \text{temperature}_{ij}^2 + \alpha_4 * \text{rocks}_i + \\ \alpha_5 * \text{barerock}_i + \alpha_6 * \text{vegetation}_i + \alpha_7 * \text{samplingeffort}_{ij} + \alpha_8 * \text{hour}_{ij} + \alpha_9 * \text{rainfall}_{ij} + \text{eps.p}_i \end{aligned} \quad (2)$$

We used a Bayesian mode of inference for the parameters in the model with Markov Chain Monte Carlo (MCMC) (Kéry and Royle 2016). We ran three chains of 200,000 iterations each, with a 100,000 iterations as a burnin period and a thinning rate of 50, which resulted in 6,000 samples from the posterior distribution of each parameter. We also estimated the following derived quantities: the finite-sample number of occupied sites among the 96 surveyed sites (N.occu; which is the sum of the latent variable (z) over the 96 study sites), the finite-sample proportion of occupied sites among sampling surveys (ψ^{fs}) expressed as N.occu divided by the number of sites, the average occupancy (psi.mean) and detection probability (p.mean), and the probability of detecting the species at least once in n surveys (p^*), given its presence (see Kéry 2002). The latter is given by $1 - (1 - p)^n$, where p is the average detection probability (mean.p) per survey and where we varied survey number (n) from 1 to 5, corresponding to the minimum and maximum number of surveys in our study.

To gauge the effects of ignoring imperfect detection in a species distribution model (SDM), we also fitted a comparable, traditional SDM without a submodel for detection, i.e., a

logistic regression of the observed occupancy status of each site on all covariates in our study. For temporal covariates (humidity, temperature, sampling effort, hour and rainfall), we took the mean over repeated visits.

We implemented models using the BUGS language (Lunn et al. 2000) in JAGS (Plummer 2003), which we ran from R (R Core Team 2016) through the jagsUI package (Kellner 2014). We adopted vague priors for all parameters (see JAGS code in Online Resource 3). We determined whether chains had converged by visually examining trace plots and by the Brooks–Gelman–Rubin statistic (Brooks and Gelman 1998), which was < 1.1 for all parameters. We present posterior means, standard deviations and 95% credible intervals.

Results

Data overview

On average, we surveyed sites three times and we detected the red-belly toad in 38 out of the 96 sites, which represents an observed proportion of occupied sites of 40%. Almost all individuals (95% of $n = 65$) were found under loose rocks in contact with moist soil, among the vegetation on the rocky outcrop edges. Occasionally, we observed two or more individuals under the same rock or sharing the same refuge with other species of invertebrates (e.g. spiders and ants), amphibians (e.g. *Scinax fuscovarius*), and reptiles, including lizards (e.g. *Contomastix lacertoides* and *Cercosaura schreibersii*) and snakes (e.g. *Sibynomorphus ventrimaculatus*).

Habitat relationships in the red-belly toad

When accounting for imperfect detection in the model, occupancy was estimated at a much higher value, 0.80 (CRI 0.58 to 0.95), with 77 sites (CRI 56 to 92) estimated as occupied by the red-belly toad, rather than the 38 observed. Most of the posterior mass of the coefficient of vegetation density was positive suggesting a positive effect of this covariate on occupancy probability although the CRI barely included zero ($\beta_{vegetation} = 3.14$, CRI -0.06 to 7.61, Fig. 2; Online Resource 4). Similarly, the number of loose rocks appeared to have a positive effect on occupancy, although the CRI again barely overlapped zero ($\beta_{rocks} = 2.00$, CRI -0.28 to 5.81, Fig. 2; Online Resource 4). The other covariates, bare rock surface ($\beta_{barerock} = -0.11$, CRI -1.46 to 1.37) and site slope ($\beta_{slope} = -0.22$, CRI -2.03 to 1.95) presented weak effects with their posterior distribution masses sitting right about on zero (Fig. 2; Online Resource 4).

In our SDM without imperfect detection, the number of loose rocks positively correlated to toad presence ($\beta_{rocks} = 2.00$, CRI 0.43 to 3.66; Table 1), while effort ($\beta_{effort} = -3.04$, CRI -6.19 to -0.13; Table 1) and humidity ($\beta_{humidity} = -2.90$, CRI -6.00 to -0.06; Table 1) presented negative effects on toad presence. The effect of vegetation on toad presence was almost 10 times smaller when ignoring detection errors (Table 1).

Detection patterns in the red-belly toad

Mean detection probability (p) was estimated at 0.26 (CRI 0.10 to 0.50). According to our estimates, we would be able to detect the species at least once with three surveys on average (Fig. 3), i.e., after three surveys, the combined probability of detection p^* was greater than 0.95. Of the nine parameters included in the observational submodel for detection probability, only the quadratic effect of temperature ($\alpha_{temperature^2} = -0.60$, CRI -1.10 to -0.15) was important in our surveys (Fig. 2; Online Resource 5). Contrarily to our SDM without imperfect detection, the number of loose rocks and vegetation had a negative effect on detection probability, while effort had a positive effect (Table 1; Fig. 2). The standard deviation of the posterior distribution mass of the random effects ($sd.alpha0$) was 1.68 (CRI 0.62 to 2.74) showing substantial heterogeneity on occupancy by the red-belly toad among sites.

Discussion

Here, we used an occupancy modeling approach at a fine-scale to understand how the red-belly toad is distributed on a typical area of rocky outcrops. Fine-scale studies provide important information for species distribution because they generate knowledge on resource use and habitat management. Our study is the first evaluating the effects of microhabitat use while explicitly accounting for observational errors in this species, and we were able to shed light on local ecological requirements.

Accounting for non-detection sampling errors has been strongly recommended for field studies (Mackenzie et al. 2002; Guillera-Arroita et al. 2014; Kéry and Royle 2016) and our estimates benefited from that, given the detection-corrected estimate of occupancy was twice as large as the naive occupancy estimate that ignored detection (0.39) (0.80, CRI 0.58 to 0.96). Occupancy estimates were much higher than expected, but this was due to the secretive habits of the species outside of the breeding season (Zank et al. 2014). Two out of three covariates, vegetation density and number of loose rocks, were fitted in both occupancy and detection parameters, and presented opposite results, although their effect sizes differed (and strictly, were not "significant", since there 95% CRIs contained zero). Interestingly, higher values of both tended to increase occupancy probability but decreased detection probability. This highlights the importance of explicitly accounting for detection errors, otherwise the effect of both covariates would be underestimated.

Habitat relationships in the red-belly toad

We considered only open areas containing rocky outcrops because we were interested in habitat use at a fine scale. We found that vegetation density had the most important effect on species habitat occupancy. The vegetation may play an important role on different aspects of the biology of the red-belly toad. First, it works as a protective barrier against the wind (Chen et al. 1999) maintaining air humidity high, which is especially important in harsh environments. Amphibians are often restricted to habitats with relative high humidity due to the need to control water balance (Walls 2008). Dense vegetation in open areas acts indirectly to control

microclimatic variations by increasing relative humidity by up to 50% (Sharpe et al. 1996) and attenuating temperatures (Barbier et al. 2008). Second, in open areas dense vegetation may also provide both food resources and protection from aerial predators (Fitch 1956; Wilgers and Horne 2007; Blevins and With 2011). Ants, one of the main prey of the red-belly toads (Grant et al. 2012), respond positively to vegetation (Corrêa et al. 2006). Third, vegetation cover surrounding breeding sites may generate a more stable thermocline for migration movements, also increasing tadpole survival by reducing desiccation risk (Goldberg et al. 2006; Pereyra et al. 2011).

As a dominant feature in our study area, we included the rock element in our analysis in the form of two different covariates. Both the bare rock surface and the number of loose rocks on sites showed ‘non-significant’, but opposite, effects on occupancy probability. The size effect of bare rock surface on occupancy was small and negative, whereas the number of loose rocks had a more important size and positive effect. The bare rock surfaces within sites may be challenging environments for amphibians, reflecting generally poor conditions (e.g., high temperatures, low soil moisture, limited vegetation coverage) as shown for salamanders before (Dillard et al. 2008). On the other hand loose rocks may be key for individuals seeking protection, food and regulating its physiological needs (Withers and Edward 1997; Fredericksen et al. 2003; Blevins and With 2011). Amphibians from rocky environments are often related to moist microhabitats, such as depressions, cracks and streams over rocks, vegetation, permanent steps and shaded pools (Withers and Edward 1997). Thus, heterogeneity seems to play an important role on amphibian occupancy on rocky outcrops, something that can only be revealed by fine-scale studies.

Detection patterns in the red-belly toad

We had expected opposite effects of air humidity and temperature on detection probability since amphibians in general are often related to humid microhabitats with mild temperatures (Duellman and Trueb 1994; Oseen and Wassersug 2002). We also included the vegetation density, the bare rock surface, the number of loose rocks per site, sampling effort and

time as potential covariates influencing detection probability. The quadratic effect of temperature was the most important among the covariates.

The relationship between detection probability and air temperature was not linear and peaked at around 11 °C (Online Resource 5). Air temperature may be among the most important factors posing challenges for amphibians by determining activity periods, especially in high-elevation sites (Navas 1996). Breeding activity was also associated with air temperature in other red-belly toads (Vaira 2005; Cairo et al. 2008; Pereyra et al. 2011), such as *Melanophrynniscus aff. montevidensis* whose detection was lower on breeding sites with high temperatures (Friedman et al. 2016). A bimodal activity pattern may represent an adaptation of the genus *Melanophrynniscus* for extreme environments characterized by high thermal amplitude since avoidance of extremes air temperatures and sun radiation during the middle of the day seems to be common on these species (Sluys and Guido-Castro 2011).

Amphibians present different strategies to effectively reduce exposure to harsh environmental conditions (Navas 1996). Microhabitat features in open areas, such as vegetation structure, may be essential for toad survival and activity. Vegetation density had a negative, although weak, effect on detectability, suggesting that habitat complexity could impose difficulty to find individuals. The association between vegetation and the loose rocks seems to be important since toad species reduce activity in high temperatures, retreating into the vegetation to maintaining water balance (Ospina et al. 2013). Vertical movement is known for different groups, including salamanders, who migrate into underground retreats on rocky outcrop environments because of high temperatures (Russell et al. 1999; Pilliard et al. 2003; Encarnación-Luévano et al. 2013). Vertical movement is also described for anurans (Nomura et al. 2009) and such temporary unavailability together with habitat complexity may lead to the conclusion of elusiveness or even rarity, but this may be misleading. The red-belly toads are considered elusive species, and vertical movement may be a candidate hypothesis to explain such elusiveness given our results, including the finding of a captivity individual found buried at 20 cm below ground (KG pers. obs). Extreme temperatures, both low and high, may lead individuals to hide for long periods.

Concluding remarks

Our occupancy model is an important step in better understanding the local distribution of the little known South American red-belly toad from the rocky outcrops of the Pampa biome. Our study included a rigorous spatial sampling protocol along with replicated surveys to most sample units, enabling us to adopt occupancy modeling to study habitat relationships free from distorting effects of imperfect detection. Therefore, our study may be useful as a functional protocol for surveys of this and similar species, and provided the first quantitative descriptions of habitat selection for the red-belly toad. We acknowledge the relevance of occupancy modeling framework for studies from a detailed perspective of spatial patterns and believe these results may provide managers information for enhancing the conservation of the red-belly toad and its associated habitats.

Predictive habitat selection models are valuable because management activities often manipulate habitat (Marzluff et al. 2002; Larson et al. 2004). Also, understanding fine-scale habitat use is essential for the connection between species distribution and local resource availability (Hughes 2000). Fine-scale effects are especially relevant for complex landscapes where habitat varies widely in quality, quantity and configuration (Ricketts 2001). Variation in habitat quality should influence species distribution across scales because high-quality habitats confer higher number of patches available for occupancy (Flesch 2017). However, different process and mechanisms are likely to explain the patterns in biological systems (Levin 1992) and thus, no description of the predictability of the environment makes sense without referencing the range of scales and the organisms involved (Kotliar and Wiens 1990).

Habitat structure is affected by a combination of natural and man-induced factors that may interact over multiple spatiotemporal scales affecting species distribution (Collins and Calabrese 2012). For instance, burning and livestock are common practices in the South American Pampa biome and cattle grazing has been suggested as a way to preserve the natural characteristics of the grasslands, controlling shrub vegetation growth (Pillar and Quadros 1997; Andrade et al. 2016). On the other hand, cattle exclusion may positively affects amphibian populations by allowing vegetation growth (Cano and Leynaud 2010; Roche et al. 2012). By

studying local populations and fine-scale habitat use, we are able to provide important information to predict population preferences, which in turn may help comprehending potential local declines and guiding effective conservation strategies.

Acknowledgments

We thank Gonçalo Ferraz, Larissa Bailey and Marcio Borges-Martins. We are grateful to our field crew, especially Priscila Lopes, for helping in data collection, and to the landowners that kindly allowed us access to their land. The Herpetology and Insect Ecology laboratories from Universidade Federal do Rio Grande do Sul provided logistical support during fieldwork. We also thank PPGBAN, Laura Verrastro and Fundação de Apoio da Universidade Federal do Rio Grande do Sul for financial support.

References

- Alford RA, Richards SJ (1999) Global amphibian declines: a problem in applied ecology. *Annu Rev Ecol Syst* 30: 133–165. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.30.1.133>
- Ando A, Camm J, Polasky S, Solow A (1998) Species distributions, land values, and efficient conservation. *Science* 279: 2126–2128. doi: 10.1126/science.279.5359.2126
- Andrade BO, Bonilha CL, Ferreira PMA, Boldrini II, Overbeck GE (2016) Highland grasslands at the Southern tip of the atlantic forest biome: management options and conservation challenges. *Oecol Aust* 20: 37-61. doi: 10.4257/oeco.2016.2002.04
- Armstrong DP (2005) Integrating the metapopulation and habitat paradigms for understanding broad-scale declines of species. *Conserv Biol* 19: 1402–1410. doi:10.1111/j.1523-1739.2005.00117.x
- Bailey LL, Simons TR, Pollock KH (2004) Estimating site occupancy and species detection probability parameters for terrestrial salamanders. *Ecol Appl* 14: 692 –702. doi: 10.1890/03-5012
- Baldo D, Candioti FV, Haad B, Kolenc F, Borteiro C, Pereyra MO, Zanc C, Colombo P, Bornschein MR, Sisa FN, Brusquetii F, Conte CE, Nogueira-Costa P, Almeida-Santos P, Pie MR (2014) Comparative morphology of pond, stream and phytotelm-dwelling tadpoles of the South American redbelly toads (Anura : Bufonidae : Melanophryneiscus). *Biol J Linn Soc* 112: 417-441. <https://doi.org/10.1111/bij.12296>
- Barbier S, Gosselin F, Balandier P (2008) Influence of tree species on understory vegetation diversity and mechanisms involved - a critical review for temperate and boreal forests. *For Ecol Manag* 254: 1-5. doi: 10.1016/j.foreco.2007.09.038
- Blevins E, With KA (2011) Landscape context matters: local habitat and landscape effects on the abundance and patch occupancy of collared lizards in managed grasslands. *Landsc Ecol* 26: 837–850. doi: 10.1007/s10980-011-9612-4
- Bosch J, Boyero L, Martínez-Solano Í (2004) Spatial scales for the management of amphibian populations. *Biodivers Conserv* 13: 409–420. doi: 10.1023/B:BIOC.0000006506.18453.c9

- Brooks SP, Gelman A (1998) General Methods for Monitoring Convergence of Iterative Simulations. *J Comput Graph Stat* 7: 434–455. doi: 10.1080/10618600.1998.10474787
- Cairo SL, Zalba SM, Úbeda CA (2008) Reproductive behaviour of *Melanophryniscus* sp. from Sierra de la Ventana (Buenos Aires, Argentina). *S Am J Herpetol* 3: 10-14
[http://doi.org/10.2994/1808-9798\(2008\)3\[10:RBOMSF\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.2994/1808-9798(2008)3[10:RBOMSF]2.0.CO;2)
- Cano PD, Leynaud GC (2010) Effects of fire and cattle grazing on amphibians and lizards in northeastern Argentina (Humid Chaco). *Eur J Wildl Res* 56: 411–420. doi: 10.1007/s10344-009-0335-7
- Ceballos G, Ehrlich PR, Dirzo R (2017) Biological annihilation via the ongoing sixth mass extinction signaled by vertebrate population losses and declines. *Proc Nat Acad Sci* 114: E6089-E6096. doi: 10.1073/pnas.1704949114
- Chelgren ND, Adams MJ, Bailey LL, Bury RB (2011) Using Multilevel Spatial Models to Understand Salamander Site Occupancy Patterns after Wildfire. *Ecology* 92: 408–21.
doi: 10.1890/10-0322.1
- Chen J, Saunders SC, Crow TR, Naiman RJ, Brosowske KD, Morz GD, Brookshire BL, Franklin, JF (1999) Microclimate in forest ecosystem and landscape ecology. *Bioscience* 49: 288–297
- Collins SL, Calabrese LB (2012) Effects of fire, grazing and topographic variation on vegetation structure in tallgrass prairie. *J Veg Sci* 23: 563–575. doi: 10.1111/j.1654-1103.2011.01369.x
- Corrêa MM, Fernandes WD, Leal IR (2006) Diversidade de formigas epigéicas (Hymenoptera: Formicidae) em capões do pantanal sul matogrossense: relações entre riqueza de espécies e complexidade estrutural da área. *Neotrop Entomol* 35: 724–730.
<http://www.scielo.br/pdf/ne/v35n6/a02v35n6>
- Cottam G, Curtis JT (1956) The use of distance measures in phytosociological sampling. *Ecology* 37: 451-460. doi: 10.2307/1930167

- Cushman SA (2006) Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biol Conserv* 128: 231–240. doi: 10.1016/j.biocon.2005.09.031
- Dillard LO, Russell KR, Ford WM (2008) Site-level habitat models for the endemic, threatened Cheat Mountain salamander (*Plethodon nettingi*): the importance of geophysical and biotic attributes for predicting occurrence. *Biodiv Conserv* 17: 1475–1492. doi: 10.1007/s10531-008-9356-x
- Duellman WE, Trueb L (1994) Biology of Amphibians, 1st edn. The John Hopkins University Press, Baltimore
- Encarnación-Luévano A, Rojas-Soto OR, Sigala-Rodríguez JJ (2013) Activity response to climate seasonality in species with fossorial habits : a niche modeling approach using the lowland burrowing treefrog (*Smilisca fodiens*). *PloS One* 8: 1–7.doi: 10.1371/journal.pone.0078290
- Fitch HS (1956) An ecological study of the collared lizard (*Crotaphytus collaris*). *Univ Kansas Publ Mus Nat Hist* 8: 213–274. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.08.110177.001045>
- Flesch AD (2017) Influence of local and landscape factors on distributional dynamics: a species-centred, fitness-based approach. *Proc R Soc B Biol Sci* 284: 20171001. doi: 10.1098/rspb.2017.1001
- Fredericksen NJ, Fredericksen TS, Flores B, McDonald E, Rumiz D (2003) Importance of granitic rock outcrops to vertebrate species in a Bolivian tropical forest. *Trop Ecol* 44: 185–196
- Friedman M, Cepeda RE, Cortelezzi A, Simoy MV, Marinelli CB, Kacoliris FP, Dopazo J, Berkunsky I (2016) Searching for an elusive anuran: a detection model based on weather forecasting for the tandilean red-belly toad. *Herpetol Conserv Biol* 11: 476–485
- Frost, DR (2017) Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (Date of access). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>

- Goldberg FJ, Quinzio S, Vaira M (2006) Oviposition-site selection by the toad *Melanophrynniscus rubriventris* in an unpredictable environment in Argentina. *Can J Zool* 84: 699–705. doi: 10.1139/z06-038
- Grant T, Colombo P, Verrastro L, Saporito RA (2012) The occurrence of defensive alkaloids in non-integumentary tissues of the Brazilian red-belly toad *Melanophrynniscus simplex* (Bufonidae). *Chemoecology* 22: 169–178. doi: 10.1007/s00049-012-0107-9
- Guillera-Arroita G, Lahoz-Monfort JJ, MacKenzie DI, Wintle BA, McCarthy MA (2014) Ignoring imperfect detection in biological surveys is dangerous: a response to “fitting and interpreting occupancy models”. *PLoS One* 9: e99571. doi: 10.1371/journal.pone.0099571
- Guimarães M, Doherty Jr PF, Munguía-steyer R (2014) Strengthening Population Inference in Herpetofaunal Studies by Addressing Detection Probability. *S Am J Herpetol* 9: 1–8. doi: 10.2994/SAJH-D-13-00020.1
- Guisan A, Zimmermann NE (2000) Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecol Model* 135: 147–186. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(00\)00354-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(00)00354-9)
- Hazell D, Hero JM, Lindenmayer D, Cunningham R (2003) A comparison of constructed and natural habitat for frog conservation in an Australian agricultural landscape. *Biol Conserv* 119: 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2003.10.022>
- Heyer RW, Donnelly MA, Foster MS, Mcdiarmid RW (1994) Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians, 1st edn. Smithsonian Institution Press, Washington
- Hoffmann M et al (2010) The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science* 330: 1503–1509. doi: 10.1126/science.1194442
- Hughes JB (2000) The scale of resource specialization and the distribution and abundance of lycaenid butterflies. *Oecologia* 123: 375–383. doi: 10.1007/s004420051024
- IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 07 August 2017

- Kellner K (2014) jagsUI: Run JAGS (specifically, libjags) from R: an alternative user interface for rjags. R package version 1.1
- Kéry M (2002) Inferring the absence of a species: a case study of snakes. *J Wildl Manag* 66: 330–38. doi: 10.2307/3803165
- Kéry M, Schaub M (2012) Bayesian population analysis using WinBUGS – a hierarchical perspective, 1st edn. Academic Press, Oxford
- Kéry M, Royle J (2016) Applied hierarchical modeling in ecology: Analysis of distribution, abundance and species richness using R and BUGS, Vol. 1. Academic Press, San Diego
- Kolbek J, Alves RV (2008) Impacts of cattle, fire and wind in rocky savannas, southeastern Brazil. *Acta Univer Carol Environ* 22: 111-130
- Kotliar NB, Wiens JA (1990) Multiple scales of patchiness and patch structure: a hierarchical framework for the study of heterogeneity. *Oikos* 59: 253-260.
<http://www.jstor.org/stable/3545542>
- Kottek M, Grieser J, Beck C, Rudolf B, Rubel F (2006) World Map of the Koppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol Zeitschrift* 15: 259–263. doi: 10.1127/0941-2948/2006/0130
- Larson MA, Thompson FR, Millspaugh JJ, Dijk WD, Shifley SR (2004) Linking population viability, habitat suitability, and landscape simulation models for conservation planning. *Ecol Model* 180: 103–118. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2003.12.054>
- Law BS, Dickman CR (1998) The use of habitat mosaics by terrestrial vertebrate fauna : Implications for conservation. *Biodiv Cons* 7: 323-333. doi: 10.1023/A
- Levin SA (1992) The problem of pattern and scale in ecology: the Robert H. MacArthur award lecture. *Ecology* 73: 1943–1967. doi 10.2307/1941447
- Lunn DJ, Thomas A, Best N, Spiegelhalter D (2000) WinBUGS - a bayesian modelling framework: concepts, structure, and extensibility. *Stat Comput* 10: 325–337. doi: 10.1023/A:1008929526011

- MacKenzie DI, Nichols JD, Lachman GB, Droege S, Royle JA, Langtimm CA (2002) Estimating site occupancy rates when detection probabilities are less than one. *Ecology* 83: 2248–2255. doi: 10.1890/0012-9658(2002)083[2248:ESORWD]2.0.CO;2
- Maneyro R, Kwet A (2008) Amphibians in the border region between Uruguay and Brazil: Updated species list with comments on taxonomy and natural history (Part I: Bufonidae). *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde A* 1: 95-121
- Marzluff JM, Millspaugh JJ, Ceder KR, Oliver CD, Withey J, McCarter JB, Mason CL, Connick J (2002) Modeling changes in wildlife habitat and timber revenues in response to forest management. *Forest Sci* 48: 191–202
- Mazerolle MJ, Bailey LL, Kendall WL, Royle JA, Converse SJ, Nichols JD (2007) Making great leaps forward: accounting for detectability in herpetological field studies. *J Herpetol* 41: 672–689. doi: 10.1670/07-061.1
- Mcgarigal K, Cushman SA (2002) Comparative evaluation of experimental approaches to the study of habitat fragmentation effects. *Ecol Appl* 12: 335–345. doi: 10.1890/1051-0761(2002)012[0335:CEOEAT]2.0.CO;2
- McInerny GJ, Purves DW (2011) Fine-scale environmental variation in species distribution modelling: Regression dilution, latent variables and neighbourly advice. *Methods Ecol Evol* 2: 248–257. doi: 10.1111/j.2041-210X.2010.00077.x
- Meirelles ST, Pivello VR, Joly CA (1999) The vegetation of granite rock outcrops in Rio de Janeiro, Brazil, and the need for its protection. *Environ Cons* 26: 10–20. doi: 10.1017/S0376892999000041
- Navas CA (1996) The effect of temperature on the vocal activity of tropical anurans: a comparison of the highland low-elevation species. *J Herpetol* 30: 488-497
- Nomura F, Rossa-Feres DC, Langeani F (2009) Burrowing behavior of *Dermatonotus muelleri* (Anura, Microhylidae) with reference to the origin of the burrowing behavior of Anura. *J Ethol* 27: 195–201. doi: 10.1007/s10164-008-0112-1
- Oseen KL, Wassersug RJ (2002) Environmental factors influencing calling in sympatric anurans. *Oecologia* 133: 616-625. doi: 10.1007/s00442-002-1067-5

- Ospina OE, Villanueva-Rivera LJ, Corrada- Bravo CJ, Aide TM (2013) Variable response of anuran calling activity to daily precipitation and temperature: implications for climate change. *Ecosphere* 4: 1–12. doi: 10.1890/ES12-00258.1
- Palmer MW, Dixon PM (1990) Small-scale environmental heterogeneity and the analysis of species distributions along gradients. *J Veg Sci* 1: 57–65. doi: 10.2307/3236053
- Pereyra LC, Lescano JN, Laynaud GC (2011) Breeding site selection by red-belly toads, *Melanophrynniscus stelzneri* (Anura: Bufonidae), in Sierras of Córdoba, Argentina. *Amphibia-Reptilia* 32: 105–112. doi: 10.1163/017353710X543029
- Petraska JW (1998) Salamanders of the United States and Canada. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., USA
- Pillar VD, Quadros F LF (1997) Grassland-forest boundaries in southern Brazil. *Coenoses* 12: 119- 126. <http://www.jstor.org/stable/43461200>
- Pilliod DS, Bury RB, Hyde EJ, Pearl CA, Corn PS (2003) Fire and amphibians in North America. *For Ecol Manag* 178: 163–181. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(03\)00060-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(03)00060-4)
- Pimm SL, Jenkins CN, Abell R, Brooks TM, Gittleman JL, Joppa LN, Raven PH, Roberts CM, Sexton JO (2014) The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection. *Science* 344: 1246752. doi: 10.1126/science.1246752
- Plummer M (2003) JAGS: a program for analysis of bayesian graphical models using Gibbs sampling. In: Hornik K, Leisch F, Zeileis A (eds) *Proceedings of the 3rd International Workshop on Distributed Statistical Computing*. Available at <https://www.r-project.org/conferences/DSC-2003/>
- Ricketts TH (2001) The matrix matters: effective isolation in fragmented landscapes. *Am. Nat.* 158: 87–99. <https://doi.org/10.1086/320863>
- Roche LM, Latimer AM, Eastburn DJ, Tate KW (2012) Cattle grazing and conservation of a meadow-dependent amphibian species in the Sierra Nevada. *PLoS One* 7: e35734. doi: 10.1371/journal.pone.0035734

Russell KR, Van Lear DH, Guynn DC Jr (1999) Prescribed fire effects on herpetofauna: review and management implications. Wildl Soc Bull 27: 374–384.

<http://www.jstor.org/stable/3783904>

Santos TGD, Maneyro R, Cechin SZ, Haddad C (2011) Breeding habitat and natural history notes of the toad *Melanophryncus pachyrhynus* (Miranda-Ribeiro, 1920) (Anura, Bufonidae) in southern Brazil . Herpetol Bull 116: 15–18.

<http://hdl.handle.net/11449/41597>

Scherer RD, Muths E, Noon BR (2012) The importance of local and landscape-scale processes to the occupancy of wetlands by pond-breeding amphibians. Popul Ecol 54: 487–498. doi: 10.1007/s10144-012-0324-7

Sharpe F, Shaw DC, Rose CL, Sillett SC, Carey AB (1996) The biologically significant attributes of forest canopies to small birds. Northwest Sci 70: 86–93

Sluys MV, Guido-Castro P (2011) Influence of temperature and photoperiod on the activity of *Melanophryncus moreirae* (Miranda-Ribeiro 1920) (Anura : Bufonidae) on the Itatiaia plateau, Southeastern Brazil. S Am J Herpetol 6: 43–48. doi: 10.2994/057.006.0106

Soares C, Brito JC (2007) Environmental correlates for species richness among amphibians and reptiles in a climate transition area. Biodivers Conserv 16: 1087–1102. doi: 10.1007/s10531-006-9070-5

Stebbins RC, Cohen NW (1995) A natural history of amphibians. Princeton University Press, New Jersey, 316 pp.

Vaira M (2005) Annual variation of breeding patterns of the toad, *Melanophryncus rubriventris* (Vellard, 1947). Amphibia-Reptilia, 26: 193–199. doi:10.1163/1568538054253519

Vaz-Silva W, Balestrin RL, Di-Bernardo M (2008) Rediscovery of *Melanophryncus pachyrhynus* (Miranda- Ribeiro , 1920) (Amphibia : Anura : Bufonidae) in Southern Brazil , with addenda to species redescription. South Am J Herpetol 3: 36–42.
[https://doi.org/10.2994/1808-9798\(2008\)3\[36:ROMPMA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2994/1808-9798(2008)3[36:ROMPMA]2.0.CO;2)

- Walls SC (2008) Water Relations. In: Wells KD (eds) *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago, pp 94-97
- Wiens JA (1989) Spatial Scaling in Ecology. *Funct Ecol* 3: 385. doi: 10.2307/2389612
- Wilgers DJ, Horne EA (2007) Spatial variation in predation attempts on artificial snakes in a fire-disturbed tallgrass prairie. *Southwest Nat* 52: 263–270. [https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2007\)52\[263:SVPAO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2007)52[263:SVPAO]2.0.CO;2)
- Withers PC (2000) Overview of granite outcrops in western Australia. *J R Soc West Australia* 83: 103–8
- Withers PC, Edward DHE (1997) Terrestrial fauna of granite outcrops in Western Australia. *J R Soc West Aust* 80: 159–166
- Yoccoz NG, Nichols JD, Boulinier T (2001) Monitoring of biological diversity in space and time. *Trends Ecol Evol* 16: 446–453. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02205-4](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02205-4)
- Zank C, Becker FG, Abadie M, Baldo D, Maneyro R, Borges-Martins M (2014) Climate change and the distribution of neotropical red-bellied toads (*Melanophrynniscus*, Anura, Amphibia): how to prioritize species and populations? *PLoS One* 9:1–11. doi: 10.1371/journal.pone.0094625

Table 1. Coefficient means and standard deviation from the SDM without imperfect detection and the Occupancy model. The asterisk denotes important size effects.

	SDM (no imperfect detection)		Occupancy model				
			Ecological submodel		Observational submodel		
		mean	sd	mean	sd	mean	sd
rocks		2.00*	0.83	2.00*	1.50	-0.25	0.60
bare rock		-0.26	0.30	-0.11	0.73	-0.14	0.36
vegetation		0.37	0.30	3.14*	1.90	-0.42	0.52
slope		0.21	0.27	-0.22	0.97	-	-
humidity		-2.89*	1.44	-	-	-0.26	0.31
temperature		-1.65	1.42	-	-	0.15	0.29
temperature ²		-5.16	3.06	-	-	-0.60*	0.24
effort		-3.04*	1.53	-	-	0.60	0.47
hour		0.07	1.05	-	-	0.23	0.21
rain		1.01	1.43	-	-	0.11	0.18

Figure legends

Fig 1 Study area showing the 30x30 meter grid cells and the 96 surveyed sites (cells in black). Grassland and Forest landscape features discerned based on Hasenack and Cordeiro (2006).

Fig 2 Posterior density of the coefficients for occupancy and detectability. All regression coefficients are given on the *logit* scale. "Significance" is accepted when 95% CRI (shown by two thin vertical lines of each density plot) does not overlap 0. Note the different scales on x-axis for occupancy and detection.

Fig 3 Probability to detecting *Melanophryne pachyrhynus* at a site at least once (p^*) during n surveys. The dashed line indicates 95% certainty to detect the species when present. Boxes show the median value (center line in box), first and third quartiles (box ends). The 10th and 90th percentiles (represented by whiskers) and extreme values are also shown.

Figure 1

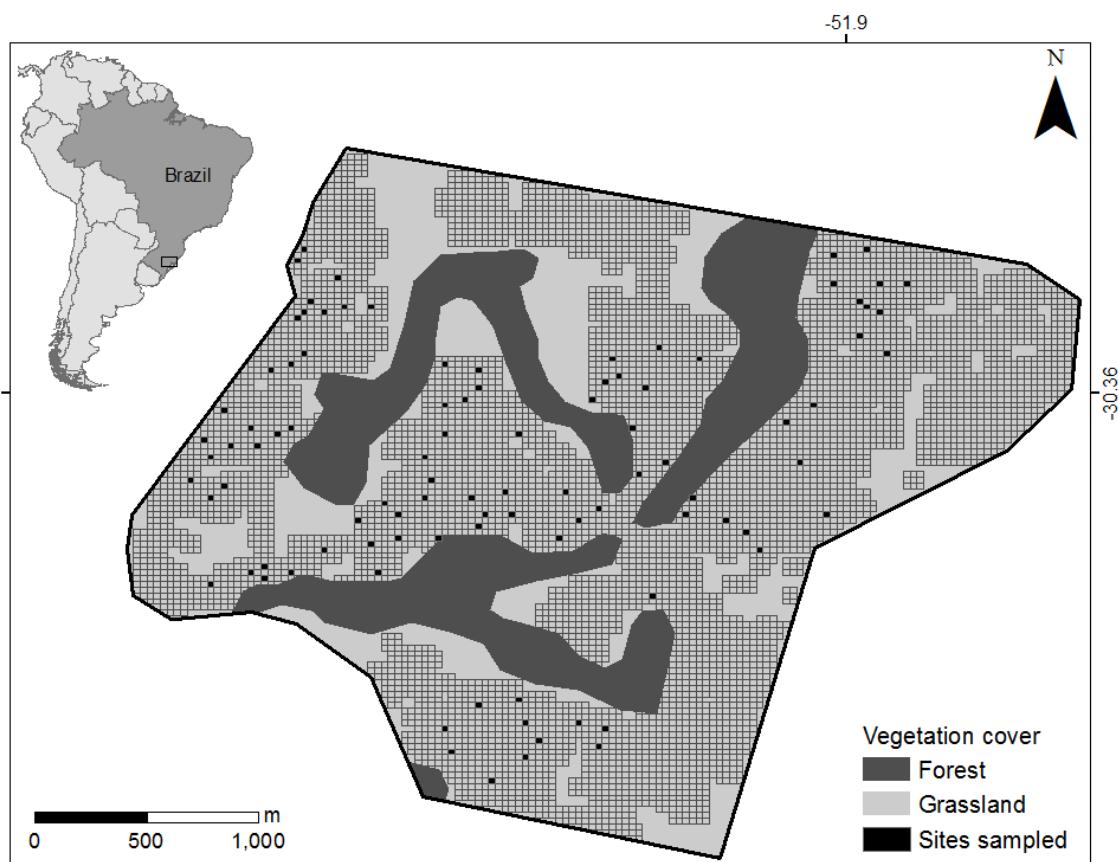


Figure 2

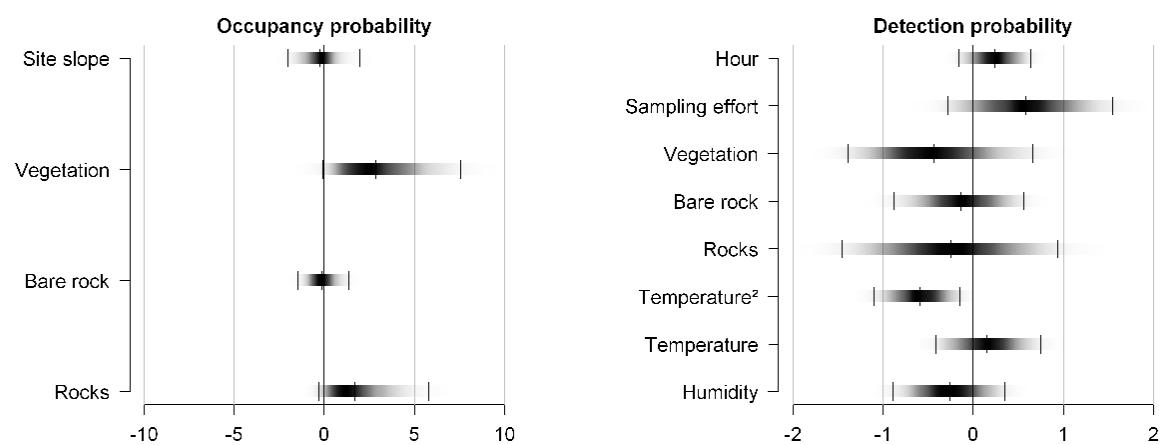
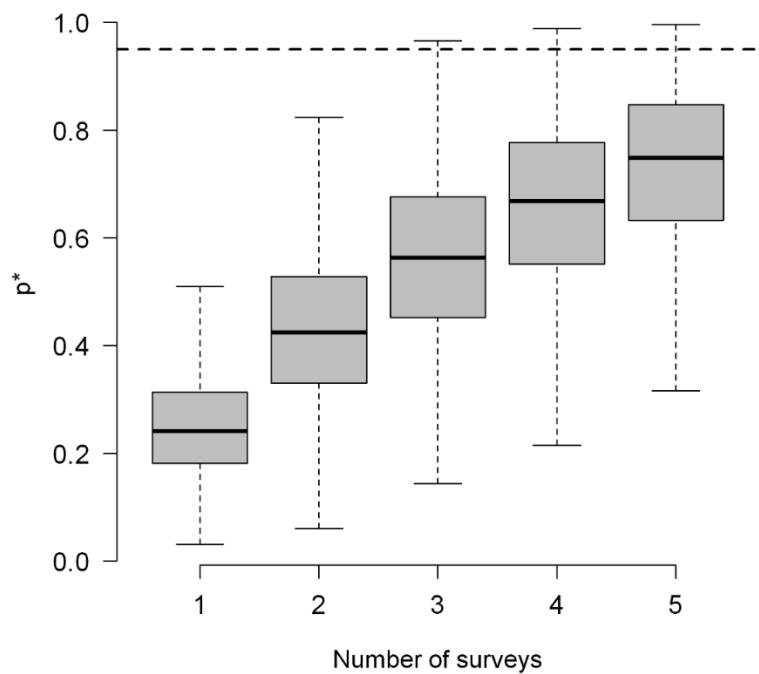


Figure 3



Electronic supplementary material

Manuscript title: Unraveling fine-scale habitat use of a secretive toad: where to live when conditions are harsh?

Authors: Karoline C. Gilioli; Marc Kéry, Murilo Guimarães

Corresponding author: mu.guima@gmail.com

Online Resource 1



Fig S1 General view of the study area, including occasional slopes with hills and rock outcrops surrounded by ephemeral ponds, grasslands, shrub vegetation and gallery forests. The valleys of the hills consist of native forest and, in smaller proportions, recently eucalypt plantation woodlands.

Online Resource 2

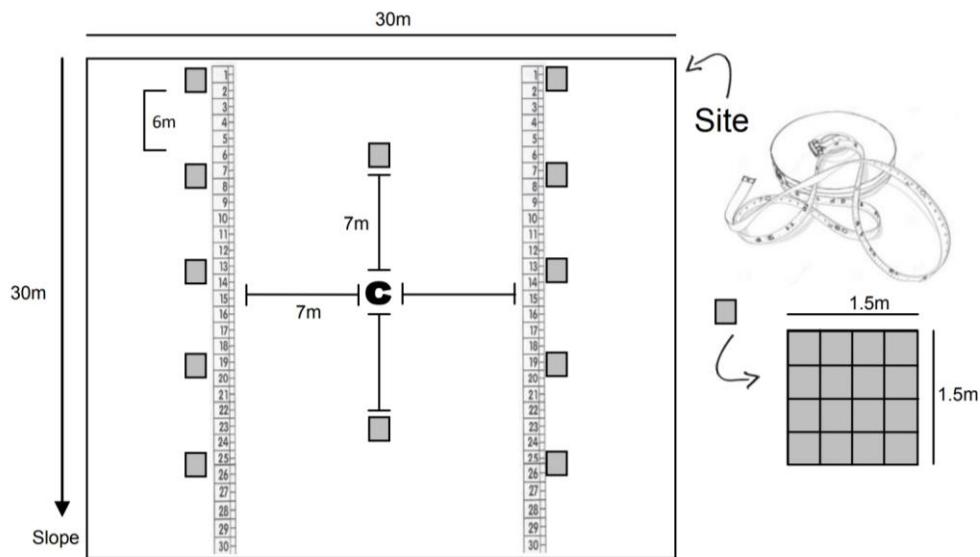


Fig S2 Scheme showing vegetation density and bare rocky surface data collection. Twelve repeated samples (grey squares) were systematically obtained inside each site, according to site slope and it's center (C), as shown. Each sample was divided into 16-unit sub-squares scattered. We counted the number of sub-squares touching shrub plants at 50cm high and the number that corresponded to bare rocky surface. Finally, we calculated an index of both covariates (vegetation density and bare rock) based on the proportion of total sub-squares with these habitat features.

Online Resource 3

JAGS code

```
# Write a text file in R with BUGS code of model
sink("model2.txt")
cat("

model {

# Priors
#Occupancy
mean.psi ~ dunif(0, 1) #occupancy intercept on prob. scale
beta0 <- logit(mean.psi)#occupancy intercept
beta1 ~ dunif(-10,10) #occupancy slope on rocks
beta2 ~ dunif(-10,10) #occupancy slope on barerock
beta3 ~ dunif(-10,10) #occupancy slope on vegetation
beta4 ~ dunif(-10,10) #occupancy slope on siteslope

#Detection
mean.p ~ dunif(0, 1) #Detection intercept on prob. scale
alpha0 <- logit(mean.p) #Detection intercept
alpha1 ~ dunif(-10,10) #Detection slope on humidity
alpha2 ~ dunif(-10,10) #Detection slope on temperature
alpha3 ~ dunif(-10,10) #detection slope on temperature (^2)
alpha4 ~ dunif(-10,10) #detection slope on rocks
alpha5 ~ dunif(-10,10) #detection slope on barerock
alpha6 ~ dunif(-10,10) #detection slope on vegetation
alpha7 ~ dunif(-10,10) #detection slope on samplingeffort
alpha8 ~ dunif(-10,10) #detection slope on hour
alpha9 ~ dunif(-10,10) #detection slope on rainfall

tau.alpha0 <- 1 / (sd.alpha0 * sd.alpha0) # sd hyperparam
sd.alpha0 ~ dunif(0,10)

# Likelihood

# Loop over sites
for (i in 1:nsite) {
z[i] ~ dbern(psi[i])# state model
logit(psi[i]) <- beta0 + beta1 * rocks[i] +
beta2 * barerock[i] + beta3 * vegetation[i] +
beta4 * siteslope[i]
eps.p[i] ~ dnorm(0,tau.alpha0)

# Loop over replicate surveys
for (j in 1:nrep) {
CH[i,j] ~ dbern(z[i] * p[i,j]) # Observation model
logit(p[i,j]) <- alpha0 + alpha1 * humidity[i,j] +
alpha2 * temperature[i,j] + alpha3 * pow(temperature[i,j],2)
+ alpha4 * rocks[i] + alpha5 * barerock[i] +
alpha6 * vegetation[i] + alpha7 * samplingeffort[i,j] +
alpha8 * hour[i,j] + alpha9 * rainfall[i,j] + eps.p[i]
}
}
```

```

# Derived quantities
N.occ <- sum(z[]) # Number of occupied sites
psi.mean <- N.occ/nsite # Proportion of occupied sites
p.mean <- exp (alpha0) / (1 + exp (alpha0)) # mean detection

}

",fill = TRUE)

sink()

# Bundle data and summarize
str(win.data <- list(CH = CH, nsite = nrow(CH), nrep = ncol(CH),
rocks=rocks, barerock=barerock, vegetation=vegetation,
siteslope=siteslope,humidity=humidity, temperature=temperature,
hour=hour, rainfall=rainfall, samplingeffort=samplingeffort))

# Initial values
zst <- apply(CH, 1, max, na.rm=TRUE)# Avoid model/init conflict
inits <- function(){list(z = zst, mean.psi = runif(1), beta1 =
runif(1), beta2 = runif(1), beta3 = runif(1), beta4 = runif(1),
mean.p = runif(1), alpha1 = runif(1), alpha2 = runif(1), alpha3 =
runif(1), alpha4 = runif(1), alpha5 = runif(1),
alpha6 = runif(1), alpha7 = runif(1), alpha8 = runif(1), alpha9 =
runif(1), sd.alpha0 = runif(1,0,10))}

# Parameters monitored
params <- c("alpha0","alpha1", "alpha2", "alpha3", "alpha4",
"alpha5", "alpha6", "alpha7", "alpha8","alpha9",
"beta0","beta1", "beta2", "beta3", "beta4",
"N.occ", "psi.mean", "p.mean",
"sd.alpha0")

# MCMC settings
ni <- 200000 ; nt <- 50 ; nb <- 100000 ; nc <-3

#Call JAGS from R
library("jagsUI")
m2 <- jags(win.data, inits, params, "model2.txt", n.chains =
nc,n.thin = nt, n.iter = ni, n.burnin = nb)

```

Online Resource 4

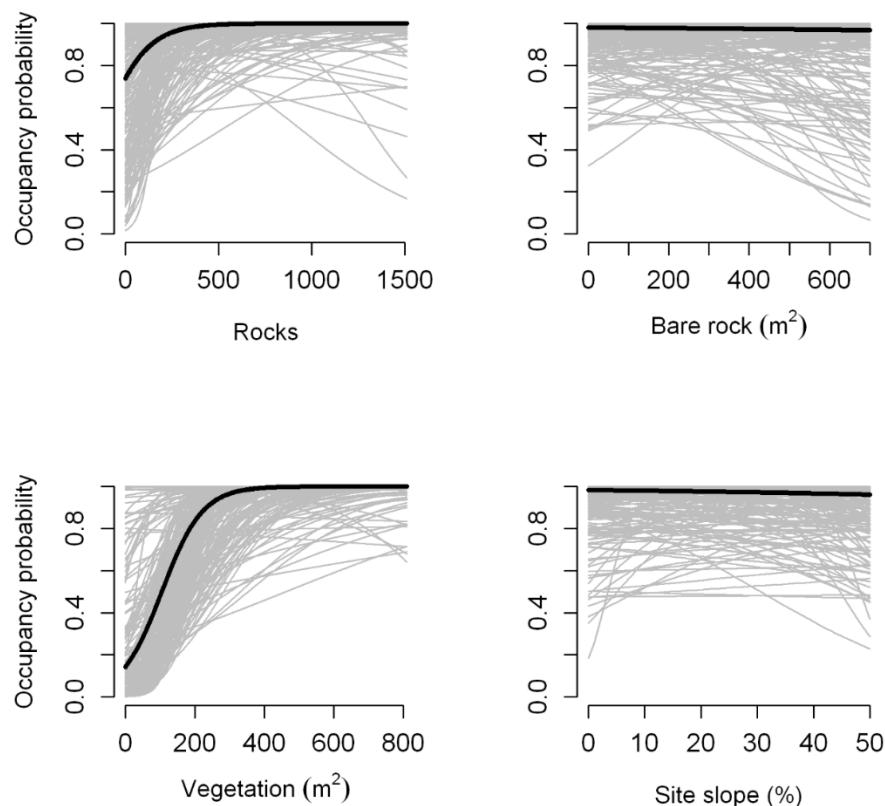


Fig S4 Predictions of occupancy probability in relation to the covariates in the model for the red-belly toad. Black lines represent the mean prediction and gray lines are 200 random draws from the posterior distribution of the predictions as a way to depict the prediction uncertainty.

Online Resource 5

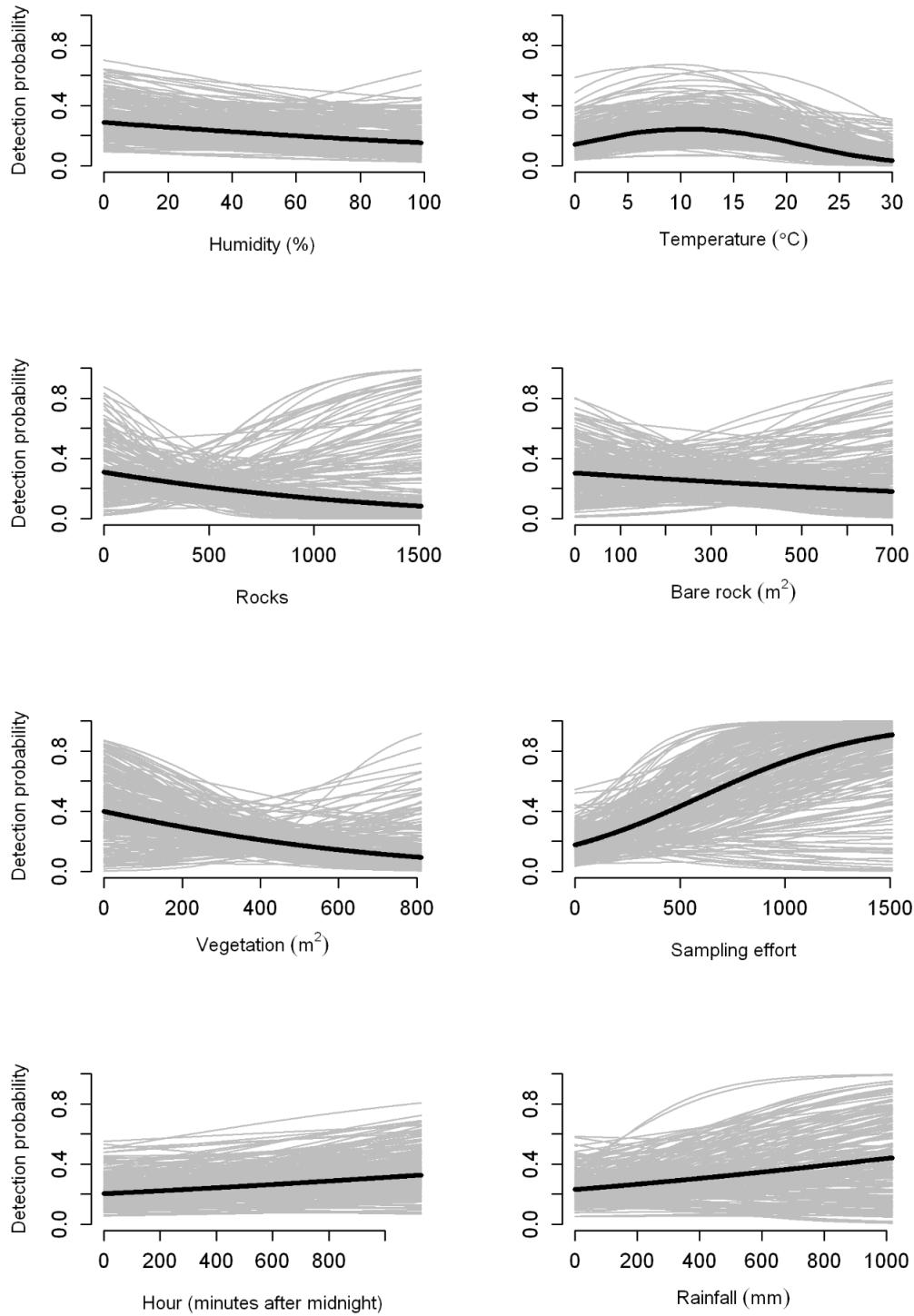


Fig S5 Predictions of detection probability in relation to the covariates in the model for the red-belly toad. Black lines represent the mean prediction and gray lines are 200 random draws from the posterior distribution of the predictions as a way to depict the prediction uncertainty.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dado o cenário alarmante de declínios populacionais em espécies de anfíbios e a importância em focar as atenções nas populações locais, este estudo avança o conhecimento sobre o uso de habitat por anfíbios quando não estão se reproduzindo e, aspectos importantes da distribuição em fina escala de uma das espécies de sapinho-da-barriga-vermelha. Até então, as pesquisas abordando o uso do habitat por espécies do gênero *Melanophrynniscus* estavam concentradas em descrições simplificadas ou eram realizadas durante a atividade reprodutiva. Trouxemos aqui pela primeira vez um estudo enfatizando a distribuição espacial em alta resolução de uma espécie de sapinho-da-barriga-vermelha fora do ambiente reprodutivo. Nossos resultados reforçam a importância no uso de abordagens analíticas que incorporam erros amostrais, bem como a importância de um delineamento amostral, mostrando que a chance de encontrar a espécie quando ela ocorre aumenta com visitas replicadas e ambas probabilidades de ocupação e detecção são estimadas com maior precisão.

A seleção por um ambiente em específico é uma característica de qualquer espécie, sendo algumas mais plásticas que outras. Percebemos que a espécie-alvo ocorre associada à vegetação arbustiva característica de áreas abertas dos campos sulinos, circundando os afloramentos rochosos, refugiando-se na maioria das vezes sob rochas soltas espalhadas em meio a vegetação. Tal constatação nos permite concluir que para a manutenção da população estudada, é necessário manter a heterogeneidade de habitats, mantendo mosaicos de áreas que permitam a vegetação campestre alcançar o estágio sucessional arbustivo, isentas de intervenção humana que degrade o habitat e reduza o crescimento vegetativo natural das espécies de área aberta.

Percebemos neste estudo que a grande amplitude térmica diária, característica dos ambientes de afloramentos rochosos, favorece adaptações comportamentais para lidar com os extremos. Em temperaturas extremas houve maiores dificuldades para encontrar esse sapinho e concluímos que essa dificuldade se deve ao comportamento da espécie em buscar abrigos alternativos às rochas. Uma das possíveis explicações para isso é de que a espécie busca abrigo em meio a vegetação arbustiva, que parece ter um efeito negativo na detecção da mesma.

Alternativamente a espécie estaria usando uma estratégia comportamental de movimentação vertical, enterrando-se no solo quando as condições são desfavoráveis. Inclusive, já foi documentado o uso dessa estratégia em resposta a condições ambientais severas para outras espécies de anuros e, essa pode ser uma explicação para muitas espécies do gênero *Melanophrynniscus* serem difíceis de encontradas quando não estão se reproduzindo.

Considerando a importância dos afloramentos rochosos como ambientes heterogêneos que abarcam muitas espécies endêmicas e o crescente aumento de atividades humanas degradando essas áreas, esse estudo nos trouxe novas questões sobre possíveis impactos que podem afetar a persistência das populações de *Melanophrynniscus pachyrhynus*. Em escala local, foi possível entender em detalhes as demandas ecológicas e a distribuição da espécie pelos elementos dos campos que circundam as rochas expostas. Entretanto, aumentando um pouco a escala seria possível mensurar impactos que podem ter efeitos sobre a distribuição da população estudada. Entre esses impactos, existe um crescente aumento de silvicultura na área de estudo, que vêm substituindo as matas de galeria e avançando sobre as áreas abertas. Além disso, também percebemos a criação de gado em pequenas proporções e, o uso do fogo como forma de manejo do campo para pastejo. Nossos sítios amostrais não sofreram influência das atividades citadas, devido a nossa perspectiva ser muito local. Levantamos essa questão porque esses impactos podem estar afetando a estrutura da vegetação arbustiva de áreas abertas com a qual a espécie está associada

Considerando então que a seleção de habitat ocorre em múltiplas escalas e a associação entre espécie e habitat frequentemente varia entre as escalas de investigação, algumas questões permanecem carentes de informação e podem possibilitar pesquisas futuras sobre o assunto abordando escalas distintas, como por exemplo: Como é o uso diário do microhabitat pela espécie? As condições extremas de temperatura influenciam a movimentação da espécie por diferentes microhabitats no mesmo dia e/ou em diferentes estações? A crescente silvicultura substituindo áreas nativas, assim como a criação de animais domésticos como principal atividade econômica da região podem impactar as populações desta espécie?

Esperamos que este trabalho seja útil como um protocolo funcional para as próximas pesquisas com a espécie *Melanophrynniscus pachyrhynus*, pois fornece as primeiras descrições quantitativas da ocupação do habitat pela mesma.