Ensaios e Opiniões

Relatos sobre a conservação ex situ de anfíbios no Equador: como as experiências do Centro Jambatu e da Balsa de los Sapos podem ser aplicadas no Brasil

Gabriel Jorgewich-Cohen[1,3], Pedro Henrique dos Santos Dias[1], Mariane Targino[1,2]

1 Instituto de Biociências, Departamento de Zoologia, Universidade de São Paulo, 05508-090 São Paulo, Brasil
2 Endereço atual: Departamento de Vertebrados, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista, 20940-040 Rio de Janeiro, Brasil
3 Autor correspondente: gabrieljcohen2@gmail.com

Os últimos 30 anos foram marcados por inúmeros relatos de declínios acentuados nas populações de alguns grupos de animais, especialmente vertebrados. Testudines, por exemplo, é uma das ordens com a maior proporção de espécies ameaçadas de extinção (Rhodin *et al.*, 2017). Algo similar ocorreu com algumas populações naturais de anfíbios, grupo que atualmente apresenta mais de 30% de suas espécies conhecidas sob ameaça de extinção (Stuart *et al.*, 2004, 2008; IUCN, 2019). Todos os grupos de vertebrados, atualmente, têm mais de 20% de suas espécies inseridas em alguma das classificações de ameaças propostas pela IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) — *i.e.*, "criticamente ameaçadas", "ameaçadas", "vulneráveis", além das consideradas "quase ameaçadas".

Os anfíbios compõem o grupo mais ameaçado, com cerca de 40% de suas espécies em alguma dessas categorias (IUCN, 2019). Mudanças climáticas, perda de habitat, comércio ilegal, pesticidas, introdução de espécies invasoras e patologias, como as causadas por Ranavirus e pelo fungo *Batrochochytrium dendrobatidis*, são algumas das principais causas desses declínios (Lips, 1999; Lips *et al.*, 2005, 2008; La Marca *et al.*, 2005; Mendelson *et al.*, 2006; Bosch *et al.* 2018; Berger *et al.* 2018; Scheele *et al.* 2019; Puschendorf *et al.* 2019). Embora a maioria dos registros de declínio e/ou extinção de anfíbios seja relativamente recente — os primeiros relatos datam de 1980 (*e.g.*, Dubois, 1980) — os prognósticos não são bons e projeções indicam uma taxa cada vez mais alta de perda de espécies (*e.g.*, McCallum, 2007; Alroy, 2015).

Algumas medidas com o intuito de remediar esses problemas foram implementadas em diferentes partes do mundo (*e.g.*, Gascon *et al.*, 2005; Stuart, 2012). No entanto, o conhecimento atual a respeito da dinâmica dos fatores que afetam as populações de anfíbios é restrito, e as medidas que podem ser tomadas para contorná-los são limitadas pela disponibilidade de recursos, bem como por questões políticas. Assim, vários pesquisadores defendem a conservação *ex situ* (em zoológicos, criadouros, aquários, etc.) como uma alternativa para salvar espécies criticamente ameaçadas ou consideradas extintas na natureza (Stuart *et al.*, 2004; Griffiths e Pavajeau, 2008; Zacariotti *et al.*, 2013).

Existem vários grupos organizados para proteger a diversidade ameaçada de vertebrados por meio de reprodução em cativeiro, como a *Turtle Survival Alliance* (TSA) ou a *World Association of Zoos and Aquariums* (WAZA), que buscam reproduzir e reintroduzir em seu habitat natural espécies ameaçadas de extinção. Existem também programas com ações mais pontuais, como o de recuperação do boto do Yangtze (*Lipotes vexillifer*) pelo Instituto de Hidrologia da Academia Chinesa de Ciências, o de reintrodução do mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*) pela Associação Mico-Leão-Dourado no Brasil, os esforços internacionais de reprodução da ararinha-azul brasileira (*Cyanopsitta spixii*), e da tartaruga gigante (*Chelonoidis nigra*) das ilhas Galápagos, entre outros. Com relação à conservação de anfíbios, existem algumas instituições focadas em esforços *ex situ* em todo o mundo que, em sua maioria, estão associadas à *Amphibian Ark*, entidade que busca organizar todas essas iniciativas.

A conservação *ex situ* é particularmente interessante para os países da América do Sul, região com maior diversidade de anfíbios no mundo, onde as taxas de declínio e extinção são especialmente altas devido à presença constante de fatores de ameaça (Heyer *et al.*, 1988; Lips *et al.*, 2005). O Equador, por exemplo, é o país com a quarta maior diversidade de anfíbios do mundo, com quase 600 espécies, das quais cerca de 160 foram classificadas em algum grau de ameaça pela IUCN (Ron *et al.*, 2018). Algumas iniciativas surgiram em face a essa realidade e algumas instituições do país estão trabalhando para controlar o declínio das populações e evitar novas extinções através de esforços de reprodução em cativeiro. Tivemos a oportunidade de conhecer dois centros de gestão *ex situ* localizados no Equador - *a Balsa de los Sapos* e o *Centro Jambatu*. Aprendemos sobre a gestão e a rotina dessas instituições, entrevistamos os diretores e fizemos uma documentação fotográfica das ins-

talações. O texto apresentado aqui é um resumo de nossas observações com comentários sobre as perspectivas de conservação *ex situ* com foco em anfíbios anuros. Aqui discutiremos a rotina e funcionamento destes centros de conservação, com o objetivo de fornecer informações para aprofundar a discussão sobre conservação *ex situ* e sua possível implementação no Brasil.

Instituições Equatorianas

A Balsa de los Sapos é uma iniciativa da Pontifícia Universidade Católica do Equador, em Quito sendo liderada pelo pesquisador Dr. Andrés Merino (Fig. 1). O *Centro Jambatu*, integra a Fundação Otonga, também em Quito, sendo dirigido pelo pesquisador Dr. Luis Coloma (Fig. 2). Ambos relataram que os estímulos para a criação de anfíbios em cativeiro foram suas experiências de campo. Eles notaram a diminuição ou desaparecimento de populações, anteriormente abundantes, de muitas espécies equatorianas entre o final dos anos 1980 e início dos anos 1990. Segundo eles, esse declínio e desaparecimento ocorreram em ritmo acelerado e suas causas permanecem desconhecidas. Viram então a necessidade de alguma ação emergencial, iniciando assim as primeiras tentativas de reprodução em cativeiro. Mesmo assim, segundo Dr. Coloma, para algumas espécies, essa medida chegou tarde demais; três espécies equatorianas do gênero *Telmatobius*, por exemplo, são hoje consideradas extintas.

O Dr. Merino relata que um trabalho de campo foi feito no início do projeto *Balsa de los Sapos*, com o objetivo de avaliar o *status* de algumas populações, e protocolos de reprodução em cativeiro foram desenvolvidos para as espécies cujas populações vinham diminuindo ao longo do tempo. O pesquisador relata que algumas espécies são facilmente adaptáveis, enquanto outras exigem maiores esforços para sobreviver em cativeiro. Para desenvolver novos protocolos de reprodução, os testes são feitos em terrários grandes, que fornecem condições que simulam o ambiente natural (Fig. 3). As condições ideais para reprodução baseiam-se em dados ambientais das áreas de ocorrência das espécies e em sua história natural. Os protocolos de reprodução são melhorados por meio de experimentos que testam, por exemplo, a proporção ideal entre machos e fêmeas e diferentes valores de temperatura e umidade. Em alguns casos, é possível utilizar a reprodução assistida, por meio de aplicações hormonais e reprodução *in vitro*. Apesar dos esforços, os pesquisadores ainda não conseguiram reproduzir algumas espécies mais desafiadoras, como as pererecas pertencentes ao gênero *Hyloscirtus*, que se reproduzem em riachos de água corrente.

Alimentos para girinos e adultos também são produzidos nos centros (Fig. 4), garantindo o adequado equi-

líbrio nutricional dos animais — por exemplo, as taxas de fósforo e cálcio são monitoradas para que os animais não apresentem deficiências nutricionais ou anormalidades morfológicas. O *Centro Jambatu* também possui uma área externa com vegetação nativa e uma fonte permanente de água usada em experimentos iniciais de reintrodução de algumas espécies na natureza (Fig. 5). Até o momento, a espécie *Gastrotheca riobambae* (Fig. 6) tem sido o foco de tais experimentos. Em breve, os mesmos experimentos serão realizados com o sapo-arlequim, *Atelopus ignescens*.

Atualmente, o *Centro Jambatu* abriga 36 espécies, das quais sete são usadas para fins de pesquisa, enquanto a manutenção das demais está diretamente relacionada a fins conservacionistas, além de fornecerem indivíduos para o comércio de animais de estimação em países como Estados Unidos e Japão (Fig. 7). Esta é uma maneira legal de fornecer espécies para esses mercados, atividade anteriormente mantida de forma ilegal por meio de coletas irregulares, que pressionam ainda mais as populações nativas sob ameaça. Os fundos obtidos com a venda dos animais são usados para manter o centro, que também possui uma coleção científica de animais, amostras de tecido para estudos moleculares e peles liofilizadas. Esses recursos são utilizados por pesquisadores que desenvolvem projetos com defesa química, morfologia e sistemática de anfíbios, além de colaborar com outras pesquisas de universidades no Equador e no exterior. O centro também oferece treinamento para estudantes de graduação interessados em contribuir com projetos de conservação de anfíbios.

A *Balsa de los Sapos* (Fig. 8) atualmente mantém 70 espécies, das quais 30 estão ameaçadas. O projeto está associado à coleção científica de anfíbios da Divisão de Anfíbios do Museu de Zoologia da Pontifícia Universidade Católica do Equador e a outros laboratórios da mesma universidade, que trabalham com biologia do desenvolvimento, citogenética e análise e prospecção de moléculas de importância médica na pele de anfíbios, para os quais fornece material regularmente. No próprio centro, há também realização de pesquisas em áreas como ecofisiologia térmica de girinos e estudos dos peptídeos encontrados na pele de anfíbios (Fig. 9), testando os efeitos antimicrobianos e anticancerígenos. O financiamento do centro é feito por meio de fundos angariados pelos laboratórios associados.



Figura 1. Dr. Andrés Merino, pesquisador da Balsa de los Sapos, Pontifícia Universidade Católica do Equador. Quito, Equador.



Figura. 2. Dr. Luis Coloma, pesquisador do Centro Jambatu. Quito, Equador.

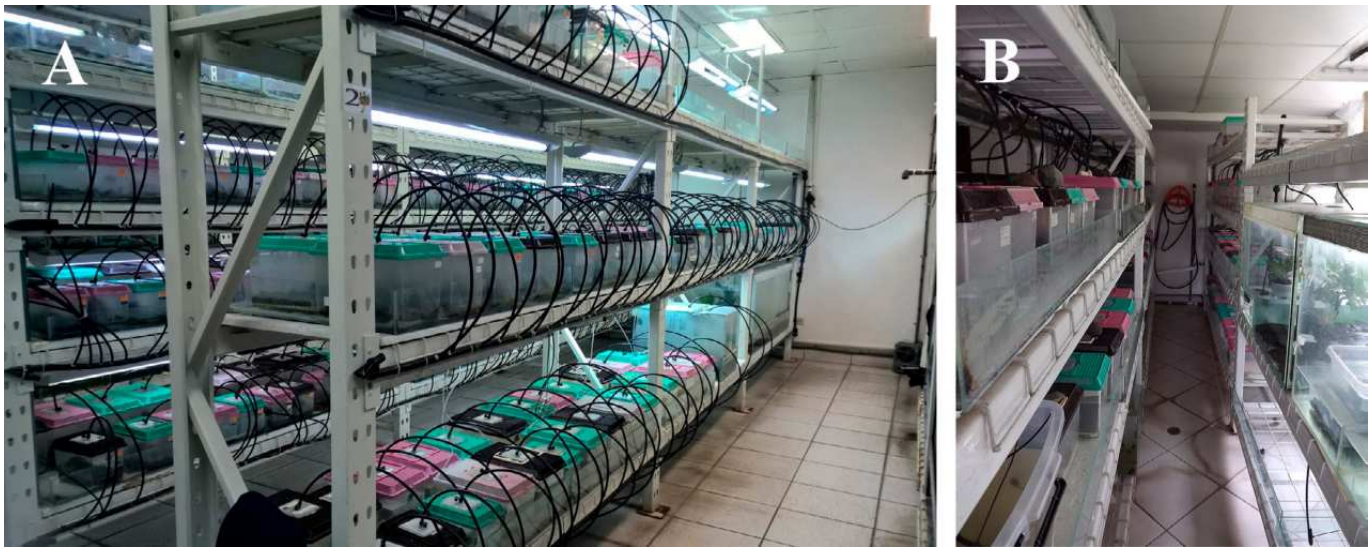

Figura 3. Instalações controladas para manutenção das espécies em cativeiro do Centro Jambatu (A) e Balsa de los Sapos (B).

60

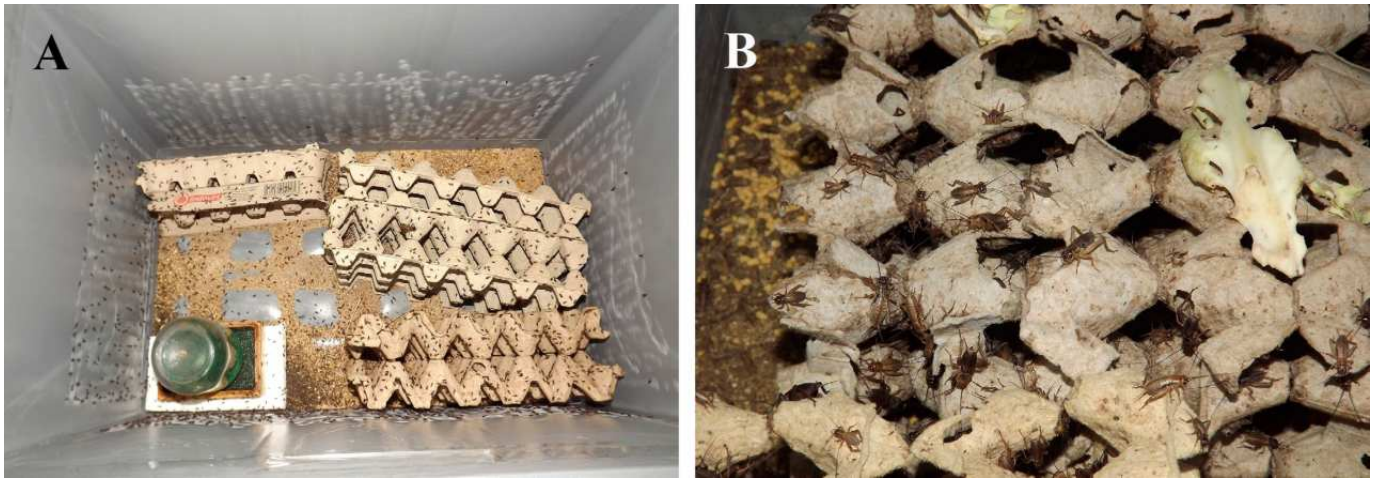

Figura 4. Criação de grilos (Grillus grillus) para a alimentação das espécies em cativeiro. Centro Jambatu (A) e Balsa de los Sapos (B).



Figura 9. Pesquisador da Balsa de los Sapos realizando procedimentos para a extração e estudo de peptídeos em Agalychnis sp.



Figura 6. Indivíduo adulto de Gastrotheca riobambae, Balsa de los Sapos



Figura 5. Área externa com vegetação e aporte de água no Centro Jambatu utilizada para projetos piloto de reintrodução da espécie Gastrotheca riobambae.

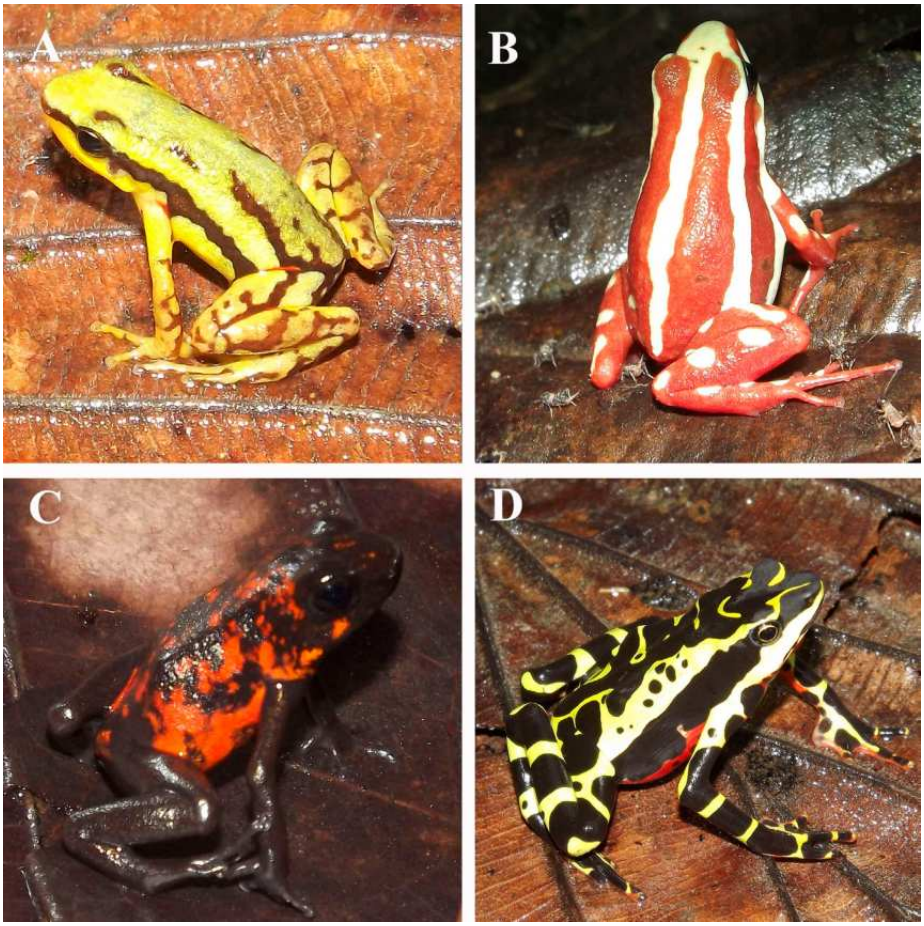

Figura 7. Algumas das espécies criadas e reproduzidas no Centro Jambatu. Epipedobates tricolor (A e B) com dois morfotipos distintos; Oophaga histrionica (C); Atelopus sp. (D).

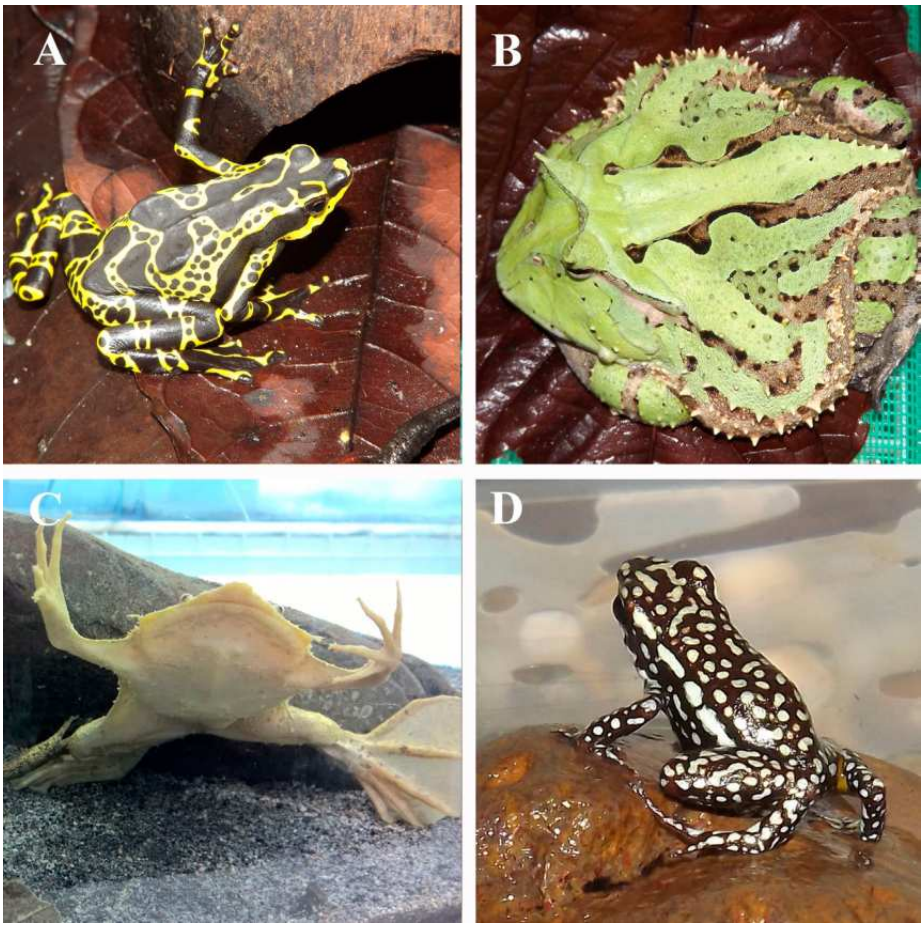

Figura 8. Algumas das espécies criadas e reproduzidas na Balsa de los Sapos. Atelopus sp. (A); Ceratophrys sp. (B); Pipa pipa (C); Epipedobates tricolor (D).

Quando perguntado sobre a criação de centros de reprodução *ex situ* em países onde essa prática não é comum, como no caso do Brasil, Dr. Coloma aconselha que o primeiro passo a ser dado é reconhecer o declínio das populações de anfíbios como um problema, o que ainda é debatido e encarado com desconfiança por alguns pesquisadores. Há aqueles que argumentam que, em alguns casos, essa redução é uma flutuação populacional natural de algumas espécies, que se tornam menos abundantes por alguns períodos (e.g., Peachmann & Wilbur, 1994). Estudos de longo prazo que acompanham populações selvagens são escassos e, para muitas espécies, não há dados suficientes para se conhecer o real estado de suas populações (IUCN, 2019). Mesmo que uma oscilação populacional natural seja um fator potencialmente importante para explicar esses eventos de redução, devemos nos posicionar com cautela para evitar danos irreversíveis resultantes da má interpretação desses eventos.

Em segundo lugar, Dr. Coloma aconselha que estas iniciativas sejam acompanhadas por uma forte decisão política e envolvimento de órgãos ambientais. Sobre o mesmo tema, Dr. Merino acrescenta que o ideal é começar com poucas espécies, representantes de uma determinada região, por exemplo, para reduzir custos e ganhar experiência. Ele também recomenda a associação com centros de pesquisa para que também tenham o objetivo de gerar conhecimento científico. Aconselha, também, que essas iniciativas sejam divulgadas ao público leigo na forma de exposições associadas a museus e zoológicos, para que as pessoas entrem em contato com o grupo e reconheçam a importância de tais iniciativas de conservação.

Aplicações no Brasil

Embora não apresente um grande número de instituições envolvidas na conservação *ex situ*, o Brasil possui uma situação ambiental semelhante à do Equador. Vários anfíbios brasileiros apresentam grande vulnerabilidade. De acordo com a última lista feita pelo ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade) em 2014, 41 espécies de anfíbios estão na lista de espécies ameaçadas de extinção. Uma espécie é considerada extinta (*Phrynomedusa fimbriata*), 18 são consideradas criticamente ameaçadas, 11 consideradas ameaçadas de extinção e 11 vulneráveis (Tabela I). Algumas espécies têm populações estáveis, mas com distribuições restritas, enquanto outras têm, além da distribuição restrita, ameaças ao seu habitat, como a rã *Physalaemus soaresi*, que teve seu entorno afetado pela construção do Arco Metropolitano do Rio de Janeiro. Outras espécies não foram coletadas novamente desde suas descrições originais, como *Boana cymbalum*, em 1963. Espécies como *Aplastodiscus musicus*,

Holoaden bradei, *Paratelmatobius lutzii* e *Thoropa petropolitana* não são avistadas há mais de 20 anos, apesar dos esforços de campo de pesquisadores em suas áreas de ocorrência, e podem estar extintas. Estes são apenas alguns dos casos nos quais esforços de conservação *ex situ* podem não ser mais uma opção.

A única espécie brasileira de anfíbio contemplada em um programa de conservação *ex situ* é *Ololygon alcatraz*, considerada criticamente ameaçada, e endêmica da Ilha de Alcatraz, na costa do Estado de São Paulo. A ilha foi usada pelo exército brasileiro para exercícios de artilharia naval que eventualmente se transformaram em incêndios, causando a redução da população do anfíbio. O Zoológico de São Paulo mantém e reproduz a espécie em cativeiro. O programa começou com um projeto piloto envolvendo *Ololygon perpusilla* (ver Lisboa & Vaz, 2012), no qual o conhecimento gerado foi utilizado posteriormente para os testes com *O. alcatraz* — ambas pertencem ao mesmo grupo de espécies (Faivovich, 2002; Faivovich *et al.*, 2005) e apresentam hábitos reprodutivos semelhantes, utilizando bromélias como local de deposição de ovos e desenvolvimento larval. Esforços focados na conservação *ex situ*, no entanto, ainda são restritos, enquanto a lista de espécies ameaçadas no Brasil tende a crescer à medida que mais dados são gerados. Muitas espécies ainda são classificadas como "dados insuficientes" e poucos estudos visam aumentar nosso conhecimento sobre esses organismos, especialmente em estudos de longo prazo (Silvano & Segalla, 2005).

O Brasil possui atualmente a maior diversidade de anfíbios do mundo, com 1137 espécies, muitas das quais são endêmicas (Segalla *et al.*, 2019). Também apresenta várias áreas prioritárias para conservação, e *hotspots* como a Mata Atlântica e o Cerrado (Myers *et al.*, 2000). Muitas espécies estão virtualmente protegidas em unidades de conservação e muitas outras ainda podem ser salvas na natureza com medidas para mitigar os danos e preservar os habitats. No entanto, é possível que várias outras venham a desaparecer de seus habitats naturais. Desta forma, a manutenção *ex situ* pode ser uma alternativa viável para que possamos preservar indivíduos de várias espécies até que possam ser reintroduzidos em segurança. Além de protegê-los, pesquisadores têm uma excelente oportunidade de aprender mais sobre biologia, desenvolvimento, comportamento e outros aspectos da história natural de diferentes espécies, além de tê-las disponíveis para experimentos a qualquer momento, a exemplo das pesquisas feitas nos centros equatorianos e em colaboração com pesquisadores de diversas outras instituições.

Conservação ex situ ou in situ?

Apesar da manutenção de animais ameaçados de extinção em cativeiro representar alguma segurança para a perpetuação dessas espécies, e potencialmente algum conforto para as pessoas que entendem a importância da preservação da biodiversidade, ela também apresenta pontos discutíveis. A importância da conservação de ambientes e populações naturais nem sequer está sob debate. Quando, no entanto, uma política focada na conservação *ex situ* deve ser considerada uma prioridade? Considerando a potencial subjetividade desse tipo de decisão, a conservação *ex situ* pode ser acusada de levantar recursos que, *a priori*, deveriam ser direcionados à conservação *in situ*. Por outro lado, há aqueles que argumentam que a conservação *ex situ* recebeu apenas uma pequena fração dos esforços e recursos dedicados à conservação dos ambientes naturais nos últimos anos, que inclusive cresceram muito ao longo do último século (Zippel *et al.*, 2011). Ainda hoje, o investimento em esforços de conservação *in situ* recebe a maior parte dos investimentos destinados à conservação (Zippel *et al.*, 2011). Essa é a realidade também no Brasil, apesar da drástica redução de investimentos na última década, e do aparente desmonte das instituições responsáveis pela conservação do meio ambiente e da negação da necessidade de conservação pelo atual governo.

A possibilidade de investir em centros de conservação em cativeiro pode ainda criar efeitos colaterais, nos quais as empresas depositariam valores de compensação ambiental nesse tipo de instituição, ao invés de direcioná-los para outras estratégias de conservação, como a conservação *in situ*. Esses centros poderiam ser usados para uma plataforma de "*marketing* verde", com uma aplicação potencialmente menos eficaz do que a contraparte. Investir em determinados tipos de centros de conservação *ex situ*, como zoológicos e aquários, ainda pode representar desvantagens em relação ao investimento em ações de conservação *in situ*, pois muitos desses estabelecimentos escolhem as espécies de acordo com o que é mais rentável e chamativo, muitas vezes não mostrando preocupação com aspectos conservacionistas (Bowkett, 2014). O Protocolo de Nagoya, assinado em 2010 pelo Brasil e por outros países participantes da Convenção sobre Diversidade Biológica, ressalta que zoológicos e aquários deveriam priorizar a manutenção de espécies ameaçadas de extinção, como um esforço de conservação. No entanto, o que foi estabelecido pelo protocolo deveria ser ratificado pelo Congresso Nacional, o que não foi feito no tempo estabelecido, deixando o Brasil de fora desse acordo internacional.

Segundo Conde *et al.* (2011), os esforços de conservação *ex situ* não devem ser tratados apenas como casos de emergência, mas sim como uma apólice de seguro para populações suscetíveis a ameaças. A manutenção contínua de espécies menos ameaçadas pode ser mais eficaz do que programas de emergência, pois estes trabalham com poucos indivíduos remanescentes, aumentando o número de problemas, como a endogamia. A manutenção contínua de animais em cativeiro como um plano de contingência também apresenta vários problemas. Embora não sofra de endogamia tão severa quanto no caso de espécies quase extintas (Saura *et al.*, 2008), existem várias questões relacionadas às características genéticas desses organismos. Em cativeiro, a maioria dos indivíduos é reproduzida sem um estudo anterior sobre a dinâmica populacional da espécie, mesmo que recomendado (Witzenberger & Hochkirch, 2011), levando à miscigenação de diferentes linhagens e até mesmo entre espécies crípticas (Crawford *et al.*, 2013). A longo prazo, a reprodução entre indivíduos de diferentes populações contribui para a diminuição da diferenciação genética entre elas e pode, consequentemente, inibir a diversificação. Também pode causar diversos impactos em populações naturais quando espécimes cativos são reintroduzidos sem critério, como a supressão de uma característica genética através da introdução sucessiva de um genótipo comum no cativeiro que se sobrepõe por estar em maior abundância, levando outros genótipos à extinção por deriva genética. Essa situação pode ser especialmente severa nos casos em que os genótipos reintroduzidos foram selecionados positivamente em uma condição de cativeiro, mas não são adequados para uma condição natural (Waldman & McKinnon, 1993; Kraaijeveld-Smit *et al.*, 2006), fazendo com que as populações selvagens sejam ainda mais prejudicadas. Algumas entidades envolvidas na criação em cativeiro demonstraram consciência sobre essas questões e desenvolveram protocolos para tentar minimizar os riscos (*e.g.*, *The Amphibian Ark*).

Devem aqui ser também consideradas as doenças que podem aparecer no ambiente cativo. É aconselhável que as espécies selecionadas para programas de reprodução sejam nativas da mesma região onde está localizado o estabelecimento onde estas serão mantidas, reduzindo assim as chances de contaminação por novos patógenos para os quais as populações naturais não são necessariamente expostas e adaptadas (Zippel *et al.*, 2011); e para evitar a fuga potencial de animais exóticos que podem se tornar invasivos. Muitos centros assumiram a responsabilidade de evitar a introdução de espécies e doenças exóticas, mantendo apenas espécies locais, tratando a água usada para impedir a fuga de patógenos para o meio ambiente e submetendo a um período de quarentena os animais que

serão reintroduzidos (Fisher & Garner, 2007; Pessier & Mendelson, 2010).

A reintrodução de indivíduos cativos no ambiente natural é um processo desafiador, especialmente nos casos em que os ambientes naturais foram destruídos ou estão ameaçados. Unir as abordagens de conservação *in situ* e *ex situ* como um programa unificado pode ser um caminho promissor (Pritchard *et al.*, 2012), levando-se sempre em consideração os fatores acima mencionados. Além dos benefícios para as espécies ameaçadas, a manutenção *ex situ* de indivíduos pode ser acompanhada por benefícios sociais e econômicos para as populações humanas. O potencial educacional e de divulgação científica associado a essas práticas é notório e amplamente documentado. Além disso, existem benefícios econômicos associados, que vão desde a contratação de mão de obra para a construção da infraestrutura, à contratação de funcionários e até o fomento do ecoturismo.

É importante lembrar que, embora a maioria das espécies ameaçadas seja encontrada em áreas tropicais e subtropicais, localizadas em países em desenvolvimento como o Brasil, essa é uma preocupação que afeta a todos. O surgimento de sérias iniciativas de conservação, onde a falta de recursos é um obstáculo, poderia ser o primeiro passo em um processo de captação de recursos internacionais que potencialmente traria benefícios para o país em um efeito cascata. Considerando as questões discutidas sobre os benefícios de manter apenas espécies nativas em cativeiro e a diferença no custo de manter um funcionário em um país desenvolvido em comparação com um país em desenvolvimento - o zoológico de Houston informou que o salário de um empregado nos EUA é equivalente à renda de 5,5 de seus funcionários panamenhos, capazes de fornecer resultados pelo menos 5,5 vezes mais eficientes (Zippel *et al.*, 2011) - obter investimentos internacionais não deve ser tão complexo quanto possa parecer.

Apesar de existirem problemas associados à conservação *ex situ*, essa abordagem representa uma importante ferramenta na conservação da biodiversidade. Este ensaio pretendeu ponderar sobre benefícios e potenciais problemas associados ao uso da reprodução *ex situ* como recurso de conservação das espécies, levantando alguns dos principais pontos de discussão, bem como fornecendo exemplos práticos da técnica. Independentemente da posição do leitor sobre o assunto, é importante reconhecer que a conservação *ex situ* pode ser uma ferramenta valiosa para a preservação da fauna de anfíbios brasileiros. Esperamos que os relatos e comentários aqui apresentados contribuam para futuras discussões sobre as melhores formas de preservar nossa fauna.

TABELAS

Tabela I. Lista de espécies brasileiras ameaçadas de acordo com a lista do ICMBio e da IUCN. CR, criticamente ameaçada; DD, dados deficientes; EN, em perigo; LC, pouco preocupante; VU, vulnerável.

Família	Espécie	Avaliação ICMBio	Avaliação IUCN
Aromobatidae			
	Allobates brunneus (Cope, 1887)	CR	LC
	Allobates goianus (Bokermann, 1975)	EN	DD
	Allobates olfersioides (A. Lutz, 1925)	VU	VU
Brachycephalidae			
	Brachycephalus pernix Pombal, Wistuba & Bornschein, 1998	CR	DD
	Ischnocnema manezinho (Garcia, 1996)	VU	NT
Bufonidae			
	Melanophryniscus admirabilis Di Bernardo, Maneyro & Grillo, 2006	CR	CR
	Melanophryniscus cambaraensis Braun & Braun, 1979	VU	DD
	Melanophryniscus dorsalis (Mertens, 1933)	VU	VU

	Melanophryniscus macrogranulosus Braun, 1973	EN	VU
	Melanophryniscus setiba Peloso, Faivovich, Grant, Gasparini & Haddad, 2012	CR	-
Craugastoridae			
	Holoaden bradei B. Lutz, 1958	CR	CR
	Holoaden luederwaldti Miranda-Ribeiro, 1920	EN	DD
Cycloramphidae			
	Cycloramphus diringshofeni Bokermann, 1957	CR	DD
	Cycloramphus faustoi Brasileiro, Haddad, Sawaya & Sazima, 2007	CR	CR
	Cycloramphus ohausi (Wandolleck, 1907)	EN	DD
	Thoropa petropolitana (Wandolleck, 1907)	EN	VU
	Thoropa saxatilis Crocoft & Heyer, 1988	VU	NT
Eleutherodactylidae			
	Adelophryne maranguapensis Hoogmoed, Borges, & Cascon, 1994	VU	EN

Hylidae			
	Aparasphenodon pomba Assis, Santana, Silva, Quintela & Feio, 2013	CR	-
	Boana curupi Garcia, Faivovichi & Haddad, 2007	VU	LC
	Boana cymbalum (Bokerman, 1963)	CR	EN
	Boana semiguttatus (A. Lutz, 1925)	EN	LC
	Bokermannohyla vulcaniae (Vasconcelos & Giaretta, 2005)	CR	VU
	Hylomantis granulosa (Cruz, 1989)	VU	LC
	Phyllodytes gyrinaethes Peixoto, Caramaschi & Freire, 2003	CR	DD
	Scinax alcatraz (B. Lutz, 1973)	CR	CR
	Scinax duartei (B. Lutz, 1951)	VU	LC
	Scinax faivovichi Brasileiro, Oyamaguchi & Haddad, 2007	VU	CR
	Scinax peixotoi Brasileiro, Haddad, Sawaya & Martins, 2007	CR	CR
	Xenohyla truncata (Izecksohn, 1959)	EN	NT
Hylodidae			
	Crossodactylus dantei Carcerelli & Caramaschi, 1993	EN	DD

	Crossodactylus lutzorum Carcerelli & Caramaschi, 1993	CR	DD
Leptodactylidae			
	Paratelmatobius lutzii Lutz & Carvalho, 1958	CR	DD
	Physalaemus caete Pombal & Madureira, 1997	EN	DD
	Physalaemus maximus Feio, Pombal, & Caramaschi, 1999	VU	DD
	Physalaemus soaresi Izecksohn, 1965	CR	EN
Microhylidae			
	Chiasmocleis alagoana Cruz, Caramaschi & Freire, 1999	EN	DD
Odontophrynidae			
	Proceratophrys moratoi (Jim & Caramaschi, 1980)	EN	CR
	Proceratophrys palustris Giaretta & Sazima, 1993	CR	DD
	Proceratophrys sanctaritae Cruz & Napoli, 2010	CR	-
Plethodontidae			
	Bolitoglossa paraensis (Unterstein, 1930)	EN	DD

Agradecimentos

Somos gratos aos pesquisadores Dr. Andrés Merino e Dr. Luis Coloma, bem como a todos os funcionários da Balsa de los Sapos e Centro Jambatu, por nos receberem e disponibilizarem um pouco de seu tempo para responder nossas perguntas. Agradecemos também à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (Proc. 2012/10000-5, 2013/20420-4, 2015/11239-0, 2012/09401-5, 2015/14959-3). Somos gratos a Rafael Henrique dos Santos por comentários e discussões numa primeira versão desse manuscrito, mas ressaltamos que qualquer erro é de responsabilidade exclusiva dos autores.

Referências Bibliográficas

Alroy, J. 2015. Current extinction rates of reptiles and amphibians. Proceedings of National Academy of Sciences, 112(42):13003-13008. https://doi.org/10.1073/pnas.1508681112.

Berger, G., F. Graef, B. Pallut, J. Hoffmann, C. A. Brühl, & N. Wagner. 2018. How Does Changing Pesticide Usage Over Time Affect Migrating Amphibians: A Case Study on the Use of Glyphosate-Based Herbicides in German Agriculture Over 20 Years. Frontiers in Environmental Science,6(6):1-10.

Bosch, J., S. Fernández Beaskoetxea, T. W. Garner & L. M. Carrascal. 2018. Long-term monitoring of an amphibian community after a climate change- and infectious disease-driven species extirpation. Global Change Biology, 24(6):2622-32.

Bowkett, A. E. 2014. Ex situ conservation planning is more complicated than prioritizing the keeping of threatened species in zoos. Animal Conservation, 17(2):101-103. https://doi.org/10.1111/acv.12116

Conde, D. A., N. Flesness, F. Colchero, O. R. Jones & A. Scheuerlein. 2011. An emerging role of zoos to conserve biodiversity. Science, 331(6023):1390-1391. https://doi.org/10.1126/science.1200674

Crawford, A. J., C. Cruz, E. Griffith, H. Ross, R. Ibanez, K. R. Lips & P. Crump. 2013. DNA barcoding applied to ex situ tropical amphibian conservation program reveals cryptic diversity in captive populations. Molecular ecology resources, 13(6):1005-1018. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12054

Dubois, A. 1980. L'influence de l'hommer sur la répartition des Amphibiens dans l'Himalaya central et occidental. Competes rendus de Séances de la Societé de Biogéographie, 55:155-178.

Faivovich, J. 2002. A cladistic analysis of *Scinax* (Anura: Hylidae). Cladistics, 18(4):367-393.

Faivovich, J., C. F. B. Haddad, P. C. Garcia, D. R. Frost, J. A. Campbell & W. C. Wheeler. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with spe-

cial reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. Bulletin of the American Museum of Natural History 294:1-240.

Fisher, M. C. & T. W. J. Garner. 2007. The relationship between the emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the international trade in amphibians and introduced amphibian species. Fungal Biology Reviews, 21(1):2-9. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.02.002

Gascon, C., J. P. Colins, R. D. Moore, D. R. Church, J. E. McKey & J. R. Medelson III. 2005. Amphibian Conservation Action Plan. The World Conservation Union (IUCN), Gland, Switzerland, 64 p.

Griffiths, R. A. & L. Pavajeau. 2008. Captive breeding, reintroduction, and the conservation of amphibians. Conservation Biology, 22:852-861. https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00967.x

Heyer, R. W., A. S. Rand, C. A. G. Cruz & O. L. Peixoto. 1988. Decimations, extinctions, and colonizations of frog populations in southern Brazil and their evolutionary implications. Biotropica, 20(1):230-235.

IUCN. 2019. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019-1. http://www.iucnredlist.org.

Kraaijeveld-Smit, F. J., R. A. Griffiths, R. D. Moore & T. J. Beebee. 2006. Captive breeding and the fitness of reintroduced species: a test of the responses to predators in a threatened amphibian. Journal of Applied Ecology, 43(2):360-365. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2006.01137.x

La Marca, E., K. R. Lips, S. Lötters, R. Puschendorf, R. Ibáñez, J. V. Rueda-Almonacid, J. E. García-Pérez. 2005. Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae: *Atelopus*). Biotropica, 37(2):190-201. https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2005.00026.x

Lips, K. R. 1999. Mass mortality and population declines of anurans at un upland site in western Panama. Conservation Biology, 13:117-125. https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1999.97185.x

Lips, K. R., P. A. Burrowes, J. R. Medelson III, & G. Parra-Olea. 2005. Amphibian declines in Latin America: widespread population declines, extinctions, and impacts. Biotropica, 37:163-165. https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2005.00023.x

Lips, K. R., J. Diffendorf, J. R. Medelson III & M. W. Sears. 2008. Riding the wave: reconciling the roles of disease and climate change in amphibian's declines. PLoS Biology, 6:441-454. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060072

Lisboa, C. S. & R. I. Vaz. 2012. Captive breeding and husbandry of *Scinax perpusilus* at São Paulo Zoo: preliminary actions for ex situ conservation of *Scinax alcatraz* (Anura: Hylidae). Herpetological Review, 43:435-443.

McCallum, M. L. 2007. Amphibian decline or extinction? Current declines dwarf background extinction rate. Journal of Herpetology, 41:483-491. https://doi.org/10.1670/0022-1511

Mendelson III, J. R., K. R. Lips, R. W. Gagliardo, G. B. Rabb, J. P. Collins, J. E. Diffendorfer & K. M. Wright. 2006. Responding to amphibian loss. Science, 314(5805):1541-1542.

Myers, N., R. A. Mittermeier, G. A. B. Fonseca & J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature, 403: 853-858. https://doi.org/10.1038/35002501

Peachmann, J. H. K. & H. M. Wilbur. 1994. Putting decline amphibian population in perspective: natural fluctuations and human impacts. Herpetologica, 50:65-84.

Pessier, A. P. & J. R. Mendelson (eds.). 2010. A manual for control of infectious diseases in amphibian survival assurance colonies and reintroduction programs. IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group Working Paper. Apple Valley, MN. 230p.

Pritchard, D. J., J. E. F, S. Oldfield & S. R. Harrop. 2012. Bring the captive closer to the wild: redefining the role of ex situ conservation. Oryx, 46(1):18-23. https://doi.org/10.1017/S0030605310001766

Puschendorf, R., M. Wallace, M. M. Chavarría, A. J. Crawford, F. Wynne, M. Knight, D. H. Janzen, W. Hallwachs, C. V. Palmer & S. J. Price. 2019. Cryptic diversity and ranavirus infection of a critically endangered Neotropical frog before and after population collapse. Animal Conservation: in press.

Rhodin, A. G. J., J. B. Iverson, R. Bour, U. Fritz, A. Georges, B. H. Shaffer & P. P. Dijk. 2017. Turtles of the world - Annotated Checklist and Atlas of Taxonomy, Synonymy, Distribution, and Conservation Status (8th Ed.). Turtle taxonomy working group. Chelonian Research Monographs, 7:1-292. 10.3854/crm.7.checklist.atlas.v8.2017

Ron, S., A. Merino-Viteri & D. A. Ortiz. 2018. Anfíbios del Ecuador. Version 2018.0. Museo de Zoología, Pontifícia Universidad Católica del Ecuador. 01 de outubro de 2018, https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb.

Saura, M., A. Pérez-Figueroa, J. Fernández, M. A. Toro & A. Caballero. 2008. Preserving population allele frequencies in ex situ conservation programs. Conservation Biology, 22(5):1277-1287. https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00992.x

Scheele B. C., F. Pasmans, L. F. Skerratt, L. Berger, A. Martel, W. Beukema, A. A. Acevedo, P. A. Burrowes, T. Carvalho, A. Catenazzi & I. De la Riva. 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. Science, 363(6434):1459-1463.

Segalla, M. V., U. Caramaschi, C. A. G. Cruz, P. C. A. Garcia, T. Grant, C. F. B. Haddad, D. J. Santana, L. F. Toledo & J. A. Langone, 2019. Brazilian amphibians: list of species. Herpetologia Brasileira, 3(1): 65-96.

Silvano, D. L. & M. V. Segalla. 2005. Conservação de anfíbios. Megadiversidade, 1:79-86.

Stuart, S. N., J. S. Chanson, N.A. Cox, B. E. Young, A. S. L. Rodrigues, D. L. Fischman & R. W. Waller. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. Science, 306:1783-1786. https://doi.org/10.1126/science.1103538

Stuart, S. N., M. Hoffmann, J. Chanson, N. Cox, R. Berridge, P. Ramani & B. Young. 2008. Threatened amphibians of the world. In: Lynx (Ed) Barcelona, Spain; IUCN, Gland, Switzerlad; and Conservation International, Arlignton, Virgina. 134p.

Stuart, S. N. 2012. Responding to the amphibian crisis: too little, too late? Alytes, 29:9-12.

Waldman, B. & J. S. McKinnon. 1993. Inbreeding and outbreeding in fishes, amphibians, and reptiles; pp. 250-282. In: N.W. Thornhill (Ed.), The natural history of inbreeding and outbreeding: theoretical and empirical perspectives. University of Chicago Press, Chicago.

Witzenberger, K. A. & A. Hochkirch. 2011. Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species. Biodiversity and Conservation, 20(9):1843-1861. https://doi.org/10.1007/s10531-011-0074-4

Zacariotti, R. L., E. Bondan & B. Durrant. 2013. A importância da conservação ex-situ para a preservação de espécies ameaçadas de extinção e/ou endêmicas. Herpetologia Brasileira, 2: 33-35.

Zippel, K., K. Johnson, R. Gagliardo, R. Gibson, M. McFadden, R. Browne & E. Townsend. 2011. The Amphibian Ark: a global community for ex situ conservation of amphibians. Herpetological Conservation and Biology, 6(3):340-352.