



Ovidius University Constanța, Romania

Doctoral School of Applied Sciences

Biology



University of Liège, Belgium

Laboratory of Fish and Amphibian Ethology

FOCUS, Faculty of Sciences

# **LIFE-HISTORY AND BEHAVIOURAL ADAPTATIONS TO XERIC ENVIRONMENTS IN FOSSORIAL AMPHIBIANS**

**Diana Székely**

**Thesis submitted for the degree of Doctor in Sciences**

**Promotors (joint PhD thesis):**

**Professor Dan Cogălniceanu,**

**Ovidius University Constanța**

**Doctoral School of Applied Sciences**

**Professor Mathieu Denoël,**

**University of Liège**

**F.R.S. - FNRS Research Director**

**Constanța, 2018**

# TABLE OF CONTENTS

ACKNOWLEDGEMENTS .....	iii
ABSTRACT .....	v
REZUMAT .....	vii
RÉSUMÉ .....	ix
INTRODUCTION .....	1
i. Xeric environments .....	1
ii. Seasonally dry tropical forest .....	7
iii. Life in xeric environments .....	11
iv. Aims of the study .....	24
GENERAL PRESENTATION OF THE STUDY SITE AND STUDY SPECIES .....	28
v. Study site .....	28
vi. Study species .....	32
CHAPTER I PLASTICITY IN LARVAL STAGES .....	37
I.1 Density effects on tadpole behaviour, survival and post-metamorphic performance .....	38
I.2 Pond drying cues and their effects on growth and metamorphosis .....	55
CHAPTER II JUVENILE STAGE AND REACH OF MATURITY .....	67
II.1 Adult - juvenile interactions determine a temporal niche partitioning between life-stages .....	68
II.2 Carry-over effects across aquatic and terrestrial life-stages: size at metamorphosis affects growth and survival .....	78
II.3 Breed fast, die young: demography and growth patterns .....	91

CHAPTER III BEHAVIOURAL ADAPTATIONS TO DRY ENVIRONMENTS IN TERRESTRIAL STAGE .....	103
III.1 Dryness affects burrowing depth .....	104
III.2 Fossorial amphibians in xeric environments - spatially-restricted, precipitation- dependent activity .....	110
III.3 What does a Pacman eat? Macrophagy and necrophagy in a generalist predator ( <i>Ceratophrys stolzmanni</i> ) .....	128
CHAPTER IV REPRODUCTIVE STRATEGIES.....	141
IV.1 Random size-assortative mating despite size-dependent fecundity in a Neotropical amphibian with explosive reproduction.....	142
GENERAL CONCLUSIONS.....	157
REFERENCES .....	163
SUPPLEMENTARY MATERIAL .....	211
REFERENCES FOR SUPPLEMENTARY MATERIAL.....	241

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

First and foremost, I am hugely indebted to my promotors. Both of them have supplied equally invaluable, complementary contribution to my research. They generously provided their deep insight, extensive experience and most appreciated critiques, without ever restricting my freedom. This work is as much mine as it is theirs.

Many thanks to my guidance committee - Dragomir Coprean, Teodora Onciu and Marius Skolka for investing their time, experience and patience in my project. A particular mention to the one who focused my interest towards herpetology, Ioan Ghira. Even after so many years, he remains a main driving force of my research.

I was incredibly fortunate to benefit from interactions with several great specialists and receive help from so many wonderful people. I would like to thank the Romanian team – Florina Stănescu, Iosif Ruben, Elena Buhaciuc, Marian Tudor, Daniyar Memedemin, Raluca Băncilă, Rodica Plăiașu - along with making the field - and lab - work equal FUN, each of you have taught me so many lessons, that I will use forever.

I am grateful to the Ecuadorian team – Diego Armijos-Ojeda, Carlos Ivan Espinosa, Andrea Jara-Guerrero, Leonardo Ordóñez-Delgado, Rodrigo Cisneros, for constantly sharing their broad understanding of tropical ecosystems, along with providing support and guidance, and contributing to my deep love of Ecuador.

Many other researchers have contributed their experience and irreplaceable insights to many aspects of my studies - Ulrich Sinsch, Santiago R. Ron, Andrés Merino-Viteri, Cecilia Bardier, Rodrigo Cajade, and Martin Carlsson. Amongst them, a special place holds Federico Marangoni, who was the first to show me a Pacman and start it all.

Special thanks to the amazing “guardaparques” from Reserva Ecologica Arenillas, who made all the efforts to support my idiotic search for biting frogs. My fieldwork would have been impossible without the contribution of Carlos Domaui Tinoco, Andrez Chacha Bastidas, Lenin Ramon Jacome, Ángel Freire Díaz, Omar Aguilar Illescas, Luis Gainza Proaño, Rodolfo Arias Pintado, Gabriel Miranda Arias, Aldo Cecone Buenaño, and Paul Medranda Rodriguez.

This project would not have been even imaginable without Paul. I cannot begin to express how grateful I am for this gift. My deepest gratitude to my parents, who have helped, supported and influenced me in countless ways.

The research received financial support from the Romanian National Authority for Scientific Research CNCS – UEFISCDI, through the grants PN-II-ID-PCE-2011-3-0173 “Is range limited by life history, environmental conditions, or biogeographical barriers? A study case using spadefoot toads (genus *Pelobates*)”, PN-II-CAPACITĂȚI-732/2013 “The impact of global changes on populations at the limit of their ranges” and the Wallonie-Bruxelles International and CCCDI-UEFISCDI (ANCS) joint grant 105BM/2017 “Adaptive strategies in amphibians under environmental stress”. Fieldwork was partially supported by the Prometeo Project of the Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación, Ecuador (SENESCYT) granted to Dan Cogălniceanu and Paul Székely. Necessary permits were issued by Ministerio del Ambiente de Ecuador (research permit number MAE-DNB-CM-2015-0016) and UTPL Ethics Committee (ethical permit UTPL-CBEA-2016-001).

## ABSTRACT

Amphibians are particularly sensitive to environmental water availability due to their particularities in physiology, mainly related to permeable tegument and ectothermy, to their water-dependent reproduction, and their reduced mobility compared to other vertebrates. However, amongst anurans, some fossorial species have adapted to xeric environments, either extremely dry or drastically seasonal and unpredictable in precipitation distribution. The present study aims at advancing the understanding of the complexity of life-history adaptations and behavioural strategies that allow fossorial anurans to survive in such demanding environments, through each particular stage in the life-cycle of the study organism (larvae, juveniles, adults, and finally reproduction and egg-laying). To test the research predictions, a seasonally dry tropical forest located in the Pacific Ecuador, Arenillas Ecological Reserve, was chosen as the study site. The climate at this location is characterized by severe seasonality in terms of precipitation regime, but with a minimal variation in temperature throughout the year. The project is focused on the Pacific horned frog *Ceratophrys stolzmanni*, the only fossorial anuran present at the study site.

The effects of water limitations were evident in the species starting with the first and most sensitive life-stage, the aquatic tadpoles. The larvae responded to both tested types of cues related to the danger of pond desiccation: an increase in tadpole density as well as a decrease in water level, by rapidly modifying their development and growth in response to the environmental conditions. When not experiencing water limitations, tadpoles were able to capitalize on favourable aquatic conditions by intensifying their growth rates, delaying their transition to terrestrial habitat and metamorphosing at large size. The size at metamorphosis was a particularly important parameter for the fitness of individuals, since the detrimental conditions experienced during larval development were carried-over to the juvenile stage, and froglets metamorphosing at a small size experienced higher mortality and achieved lesser performance in food acquiring and predator avoidance traits.

The activity of the horned frogs was strongly related to the precipitation pattern, individuals coming out of the ground mainly during or shortly after rains. This means that at the study site there are a limited number of opportunities for them to acquire food even during the short rainy season. However, the species showed intense growth rates both before and after metamorphosis, and both males and females were able to sexually mature in their first year of

life. Some of the investigated behavioural strategies contribute to reduce their overall energetic expenditures: low individual mobility, the choice of burrows depth in accordance with substrate humidity and an abbreviated mating season. Additionally, to diversify the modalities of resource exploitation, the Pacific horned frogs employed some mechanisms that are rather unusual for most anurans. Amongst them, they exhibited a divergence in temporal niche between terrestrial life-stages, which probably reduces intraspecific interactions and allows increased access to food for the smaller juveniles. The other mechanism refers to the capacity to consume a wide variety of prey items, including vertebrates.

The intense growth rates and rapid maturation probably come at a cost of increased mortality, reflected in the low longevity of individuals from the studied population. In this aspect, the permanence of the species in such an unpredictable environment suggests that mass tadpole mortality caused by pond desiccation is rather uncommon. This is due at least partially to the synchronized reproduction that takes place at the first heavy storm of the rainy season, as soon as breeding pond become available, giving the tadpoles the longest interval possible to develop. Additionally, the female investment in a relatively large number of eggs and the overall short larval duration should contribute to successful yearly recruitment.

Our study enhances the understanding of this poorly-known species and of the potential risks to its long-term survival. Due to the strong influence of rainfall regime on all life-stages, the predicted changes in precipitation patterns are likely to lead to further restriction of the activity of the frogs and to reductions of recruitment or juvenile fitness. Additionally, the short reproductive lifespan of the species makes the persistence of the population vulnerable to persistent droughts of 2–3 consecutive years. The population parameters that we provide in this thesis serve as base-line information for the present welfare of the population, and can be a starting point for the detection of potential declines. This knowledge should be included in future management plans for the effective conservation of the species.

## **KEYWORDS**

**Aridity; burrowing; *Ceratophrys*; life cycle; life-history traits; mate choice; metamorphosis; phenotypic plasticity; sexual selection.**

## REZUMAT

Amfibienii sunt în mod special afectați de cantitatea de apă din mediul înconjurător, deoarece au pielea permeabilă, sunt ectotermi, reproducerea lor este dependentă de prezența apei și, în comparație cu alte vertebrate, au mobilitate redusă. Totuși, printre anure, există specii care s-au adaptat la condițiile xerice, fie ele aride sau cu o distribuție a precipitațiilor dramatic sezonieră și imprevizibilă, prin adoptarea unui stil de viață obligat săpător. Proiectul de față este focalizat pe înțelegerea complexității strategiilor comportamentale și de ciclu de viață care au permis anurelor fosoriale să supraviețuiască în astfel de medii ostile, pe parcursul întregului ciclu de viață (larvar, juvenil, adult, și în final reproducere și depozitarea pondei). Pentru a testa ipotezele de lucru, ca zonă de studiu a fost aleasă o pădure tropicală sezonier uscată de pe coasta Pacifică a Ecuadorului, și anume Rezervația Ecologică Arenillas. Aria este caracterizată printr-o variație meteorologică sezonieră extremă în ceea ce privește regimul precipitațiilor, dar cu o variație redusă a temperaturii pe parcursul anului. Specia țintă este broasca cu coarne sau broasca Pac-Man *Ceratophrys stolzmanni*, singura specie de amfiban fosorial din zona de studiu.

Efectele limitării disponibilității de apă asupra acestei specii au fost evidente începând încă din primul - și cel mai sensibil stadiu de viață - mormolocii. Larvele au reacționat la cele două semnale corelate cu riscul de secare a habitatului acvatic – creșterea densității și descreșterea nivelului apei – modificându-și rapid ritmul de creștere și dezvoltare. Atunci când mormolocii nu au fost expuși riscului secării bălții, au fost capabili să valorifice condițiile favorabile din mediul acvatic, intensificându-și rata de creștere, amânându-și tranziția spre mediu terestru și metamorfozându-se la dimensiuni mai mari. Dimensiunea la metamorfoză a reprezentat un parametru important pentru fitness-ul indivizilor, deoarece condițiile defavorabile suferite pe parcursul dezvoltării larvare au avut consecințe în stadiul terestru juvenil, astfel că indivizii mici la metamorfoză au avut mortalitate mai mare și performanțe mai slabe în relație cu capturarea hranei și evitarea prădătorilor.

Activitatea broaștelor săpătoare a fost determinată în mare măsură de regimul de precipitații, indivizii ieșind la suprafață în principal în timpul sau imediat după ploi. Ca rezultat, la locația unde s-a desfășurat studiul, broaștele dispun de un număr limitat de ocazii când pot să se hrănească, chiar și pe parcursul sezonului ploios. Totuși, specia a avut rate intense de creștere atât înainte, cât și după metamorfoză, și ambele sexe au fost capabile să atingă



maturitatea în primul an de viață. Unele din strategiile comportamentale investigate contribuie la reducerea consumului energetic: mobilitatea redusă a indivizilor, alegerea adâncimii refugiului în funcție de umiditatea substratului, precum și un sezon reproductiv redus ca durată. În plus, pentru diversificarea modalităților de exploatare a resurselor, broaștele săpătoare au aplicat unele mecanisme destul de neobișnuite pentru majoritatea anurelor. Dintre acestea, divergența ontogenetică în nișa temporală utilizată reduce interacțiunile intraspecifice și permite juvenilor un acces îmbunătățit la sursa de hrană. Pe de altă parte, această specie a demonstrat o dietă diversificată, ce include vertebrate.

Ratele intense de creștere și maturizarea rapidă probabil determină o mortalitate crescută, reflectată în longevitatea scăzută a indivizilor în populația studiată. În acest sens, persistența speciei în acest mediu imprevizibil sugerează că mortalitatea în masă a mormolocilor determinată de secarea bălților de reproducere este un eveniment excepțional. Acest fapt se datorează măcar parțial reproducerii sincronizate care are loc în timpul primelor furtuni puternice de la începutul sezonului ploios, imediat ce se formează bălți, ceea ce oferă mormolocilor cel mai lung interval posibil pentru dezvoltare. În plus, faptul că femelele investesc într-un număr mare de ouă și perioada larvară scurtă probabil contribuie la succesul reproductiv anual.

Studiul contribuie la înțelegerea acestei specii puțin cunoscute și a riscurilor potențiale pentru supraviețuirea pe termen lung. Din cauza efectului important pe care ploile îl au asupra tuturor stadiilor de viață ale speciei, schimbările pronosticate în regimul precipitațiilor ar putea avea ca efect reducerea suplimentară a activității adulților, scăderea succesului reproductiv și diminuarea fitness-ului juvenilor. În plus, speranța de viață redusă a speciei face ca persistența speciei să fie vulnerabilă în cazul succesiunii a 2-3 ani secetoși. Parametrii populaționali furnizați în această teză pot servi ca informație de bază pentru estimarea stării de sănătate a populației, și ca punct de plecare pentru detectarea unui potențial declin. Aceste informații ar trebui folosite în elaborarea viitoarelor planuri de management pentru conservarea eficientă a speciei.

## RÉSUMÉ

Les amphibiens sont particulièrement sensibles à la disponibilité en eau dans l'environnement, en raison de leurs particularités physiologiques, principalement liées au tégument perméable et à l'ectothermie, à leur reproduction dépendante de l'eau et à leur mobilité réduite par rapport aux autres vertébrés. Cependant, parmi les amphibiens anoures, certaines espèces fouisseuses se sont adaptées aux environnements xériques, extrêmement secs, ou saisonniers et imprévisibles dans la distribution des précipitations. La présente étude vise à mieux comprendre la complexité des adaptations de l'histoire de la vie et des stratégies comportementales permettant aux anoures fouisseurs de survivre dans des environnements aussi exigeants, à chaque étape de leur cycle de vie (larve, juvénile, adulte et ce, compris lors de la reproduction et de la ponte). Pour notre recherche, une forêt tropicale saisonnièrement sèche, située dans le Pacifique, en Équateur, la réserve écologique Arenillas, a été choisie comme site d'étude. Le climat y est caractérisé par une forte saisonnalité en termes de régime de précipitations, mais avec une variation minimale de la température tout au long de l'année. Le projet se concentre sur la grenouille à cornes du Pacifique, *Ceratophrys stolzmanni*, le seul anoure fouisseur présent sur le site de l'étude.

Les effets des limitations de la disponibilité l'eau étaient évidents chez cette espèce à partir du premier et plus sensible stade de vie, le têtard aquatique. Les têtards ont répondu aux deux types de signaux testés, liés au danger de dessiccation des points d'eau: l'augmentation de la densité des têtards et la diminution du niveau de l'eau, en modifiant rapidement leur développement et leur croissance en fonction des conditions environnementales. En l'absence de limitations en eau, les têtards ont pu capitaliser sur des conditions aquatiques favorables en intensifiant leurs taux de croissance, en retardant leur transition vers l'habitat terrestre et en se métamorphosant à une grande taille. La taille au moment de la métamorphose était un paramètre particulièrement important pour la condition physique ultérieure des individus. En effet, les conditions néfastes rencontrées au cours du développement larvaire ont été reportées au stade juvénile et les grenouilles se métamorphosant à petite taille ont connu une mortalité plus élevée et ont eu une performance diminuée en termes d'acquisition de nourriture et d'évitement des prédateurs.

L'activité des grenouilles cornues était fortement liée au régime des précipitations, les individus sortant du sol principalement pendant ou peu de temps après les pluies. Cela signifie

que sur le site d'étude, les possibilités d'acquérir de la nourriture sont limitées, même pendant la courte saison des pluies. Cependant, l'espèce a montré des taux de croissance intenses avant et après la métamorphose et les mâles et les femelles ont été capables d'acquérir leur maturité sexuelle au cours de leur première année de vie. Certaines des stratégies comportementales étudiées contribuent à réduire leurs dépenses énergétiques globales: faible mobilité individuelle, choix de la profondeur des terriers en fonction de l'humidité du substrat et une saison d'accouplement abrégée. De plus, lors de l'exploitation des ressources, les grenouilles cornues du Pacifique ont eu recours à des mécanismes plutôt inhabituels pour la plupart des anoues. Parmi ceux-ci, ils ont montré une divergence de niche temporelle entre les stades de vie terrestre, ce qui réduit probablement les interactions intraspécifiques et permet un accès accru à la nourriture pour les plus petits juvéniles. L'autre mécanisme fait référence à la capacité de consommer une grande variété de proies, comprenant les vertébrés.

Les taux de croissance intenses et la maturation rapide ont probablement un coût en terme de mortalité accrue, ce qui se traduit par la faible longévité des individus de la population étudiée. À cet égard, la permanence de l'espèce dans un environnement aussi imprévisible suggère que la mortalité massive de têtards causée par la dessiccation des points d'eau est un phénomène plutôt rare. Ceci est dû au moins en partie par la reproduction synchronisée qui a lieu à la première forte tempête de la saison des pluies, dès que les points d'eau de reproduction sont disponibles, donnant aux têtards le plus long intervalle possible pour se développer. De plus, l'investissement des femelles dans un nombre relativement important d'œufs et la durée généralement courte de l'intervalle larvaire devraient contribuer au succès du recrutement annuel.

Notre étude contribue à la compréhension de la biologie de cette espèce méconnue et des risques potentiels pour sa survie à long terme. En raison de la forte influence du régime pluviométrique sur tous ses stades de vie, les changements prévus dans la structure des précipitations vont probablement conduire à une réduction supplémentaire de l'activité des grenouilles et à une réduction du recrutement ou de la condition physique des juvéniles. En outre, la courte durée de vie de reproduction de l'espèce rend la persistance de la population vulnérable aux sécheresses persistantes de deux à trois années consécutives. Les paramètres de population que nous fournissons dans cette thèse peuvent servir d'informations de base pour le bien-être actuel de la population et peuvent constituer un point de départ pour la détection des

déclins potentiels. Ces données devraient être incluses dans les futurs plans de gestion pour une conservation efficace de l'espèce.