



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA)

Efeito de fragmentação de habitat sobre a associação entre ectoparasitos e morcegos na Mata Atlântica

PEDRO HENRIQUE MIGUEL

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia).

Julho - 2019



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO CLARO



PEDRO HENRIQUE MIGUEL

**Efeito de fragmentação de habitat sobre a associação entre ectoparasitos
e morcegos na Mata Atlântica**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências do Câmpus de Rio Claro,
Universidade Estadual Paulista Júlio de
Mesquita Filho, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em
Ciências Biológicas (Zoologia).

Orientador: Ariovaldo P. Cruz-Neto

Rio Claro
2019

M636e Miguel, Pedro Henrique
Efeito de fragmentação de habitat sobre a associação
entre ectoparasitos e morcegos na mata atlântica / Pedro
Henrique Miguel. -- Rio Claro, 2019
85 p. : il., tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Ariovaldo P. Cruz-Neto

1. Fisiologia. 2. Ecologia. 3. Morcegos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do
Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Efeito de Fragmentação de Habitat sobre a associação entre ectoparasitos e morcegos na Mata Atlântica.

AUTOR: PEDRO HENRIQUE MIGUEL

ORIENTADOR: ARIIVALDO PEREIRA DA CRUZ NETO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ARIIVALDO PEREIRA DA CRUZ NETO
Departamento de Zoologia / Instituto de Biociências de Rio Claro - SP

Prof.^a. Dr.^a. DÉBORA NOGUEIRA CAMPOS LOBATO
Ciências Biológicas / Universidade do Estado de Minas Gerais

Prof. Dr. FERNANDO RIBEIRO GOMES
Departamento Fisiologia Geral / Universidade de São Paulo

Rio Claro, 25 de junho de 2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao professor Ariovaldo P. Cruz-Neto pela orientação, discussões, presença em todos os passos e paciência durante todo esse processo. Ao professor Miltinho pela parceria, discussões, ensinamentos, preocupação e amizade.

A professora Rosa Maria Feitero Cavalari pelas inúmeras conversas sobre pesquisa, pela amizade e por me dar a oportunidade de fazer estágio docência em uma das disciplinas que havia sido uma das mais importantes do período que fiz graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, processo nº 2014/16320-7, em que o Ariovaldo P. Cruz-Neto é membro do INCT-EECBio, pelo financiamento das saídas de campo e materiais usados para que eu pudesse realizar a pesquisa.

A todos os mais de 30 ajudantes de campo, sem vocês eu não conseguiria ter realizado as coletas, obrigado pela parceria, companheirismo e responsabilidade.

Ao Urucum pela amizade e por todos os ensinamentos antes e durante a dissertação, sua ajuda foi essencial para que eu conseguisse realizar todas as coletas de campo sem grandes problemas.

Agradeço principalmente aos meus pais, Nelson Miguel Junior e Glamis V. Bullo Nunes Miguel, pela confiança, apoio e amor incondicional. Vivo tendo como meta ser uma pessoa tão grande quanto vocês.

Agradeço também aos meus pais por cuidarem do Kombi nos períodos que estive fora nas coletas de campo.

Resumo

A perda de habitat é vista como um dos principais efeitos decorrentes das perturbações da paisagem causada pelo homem aos ambientes naturais. Essa gera maior isolamento dos fragmentos e diminui as áreas de contato entre habitat e matriz, com efeitos negativos sobre a biodiversidade. Os efeitos da perda de habitat nos padrões de biodiversidade são geralmente analisados usando dados de distribuição de espécies e / ou abundância relativa. No entanto, eles não podem ser identificados em populações em que esses efeitos ainda não foram refletidos na abundância e incidência de espécies, e não nos informam sobre os mecanismos causais subjacentes às respostas diferenciais de espécies ou populações a essas perturbações. Uma opção para preencher esta lacuna é concentrar-se em quantificar a miríade de processos fisiológicos em que diferentes espécies lidam com ambientes em mudança. Os morcegos apresentam uma grande diversidade morfológica, fisiológica e comportamental, estando presentes em uma diversa variedade de nichos ecológicos, estabelecendo diversas relações críticas para a manutenção dos ecossistemas onde ocorrem. Os morcegos frugívoros estão entre os mais importantes dispersores de sementes do Neotrópico. Juntamente com os morcegos, investigações com seus ectoparasitas específicos são de grande relevância, visto que, os ectoparasitas exercem pressões seletivas importantes sobre a evolução dos seus hospedeiros. Assim, perda de habitat pode trazer importantes mudanças para as populações de morcegos e em algumas interações bióticas como o parasitismo. Neste contexto, utilizamos algumas análises fisiológicas para (1) avaliar os impactos da perda de habitat sobre a condição fisiológica e nível de estresse de morcegos neotropicais frugívoros, (2) entender como o ectoparasitismo específico dos morcegos varia de acordo com a perda de habitat, e como esse afeta na condição e saúde de morcegos frugívoros (Família Phyllostomidae). Usamos Modelos Lineares Generalizados (MLG) para testar a variação nas variáveis de respostas. Para cada variável de resposta, foi realizada uma seleção de variáveis através dos critérios de informação corrigidos de Akaike (AICc), buscando os modelos mais plausíveis como aqueles com menores valores de AICc. Em nossos resultados não encontramos nenhuma evidência que comprove que a perda de habitat esta afetando a condição fisiológica, nível de estresse, intensidade ectoparasitária e condição de saúde dos morcegos frugívoros. Com a pesquisa concluímos que a perda de habitat aparentemente não prejudica a condição fisiológica (condição corporal e estado de saúde) dos morcegos frugívoros e que o nível de estresse e intensidade ectoparasitária aparentemente não são altos o suficiente para ter qualquer efeito deletério.

Palavras chave: Perda de habitat, Morcegos frugívoros, Fisiologia, Ectoparasitas

Abstract

Habitat loss is seen as one of the main effects of man-made landscape disturbances on natural environments. This generates greater isolation of the fragments and reduces the contact areas between habitat and matrix, with negative effects on biodiversity. The effects of habitat loss on biodiversity patterns are generally analyzed using species distribution and / or relative abundance data. However, they cannot be identified in populations where these effects have not yet been reflected in species abundance and incidence, and do not inform us of the causal mechanisms underlying the differential responses of species or populations to these disturbances. One option to bridge this gap is to focus on quantifying the myriad physiological processes in which different species deal with changing environments. Bats have a great morphological, physiological and behavioral diversity, being present in a diverse variety of ecological niches, establishing several critical relationships for the maintenance of the ecosystems where they occur. Fruit bats are among the most important seed dispersers of the Neotropics. Together with bats, investigations with their specific ectoparasites are of great relevance, as ectoparasites exert important selective pressures on their host evolution. Thus, habitat loss can bring about major changes to bat populations and in some biotic interactions such as parasitism. In this context, we use some physiological analysis to (1) evaluate the impacts of habitat loss on the physiological condition and stress level of frugivorous neotropical bats, (2) understand how bat-specific ectoparasitism varies with habitat loss, and how it affects the condition and health of fruit bats (Family Phyllostomidae). We use Generalized Linear Models (GLM) to test for variation in response variables. For each response variable, a selection of variables was performed using the Akaike Corrected Information Criteria (AICc), searching for the most plausible models such as those with lower AICc values. In our results we found no evidence that habitat loss is affecting the physiological condition, stress level, ectoparasitic intensity and health condition of frugivorous bats. With the research we conclude that habitat loss apparently does not affect the physiological condition (body condition and health status) of frugivorous bats and that the stress level and ectoparasitic intensity apparently are not high enough to have any deleterious effect.

Key-words: Habitat loss, Frugivorous Bats, Physiology, Ectoparasites

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	6
INTRODUÇÃO GERAL	7
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
CAPÍTULO 1: THE EFFECTS OF HABITAT AMOUNT ON PHYSIOLOGICAL CONDITION AND STRESS LEVEL IN NEOTROPICAL FRUIT-EATING BATS	17
Introduction	20
Material and Methods	23
Results	27
Discussion.....	30
Acknowledgements	36
Reference	37
<u>SUPPLEMENTARY MATERIAL</u>	46
CAPITULO 2: EFEITO DA PERDA DE HABITAT PARA A ASSOCIAÇÃO DE ECTOPARASITAS DE MORCEGOS FRUGÍVOROS E IMPACTO NA SUA CONDIÇÃO DE SAÚDE	59
Introdução	61
Material e métodos	64
Resultados	68
Discussão	72
Conclusões	76
Referências bibliográfica	77
<u>MATERIAL SUPLEMENTAR</u>	85

INTRODUÇÃO GERAL

Desde a primeira revolução industrial, o homem intensificou a modificação da paisagem global, de modo que ela possa acomodar e fornecer recursos para a crescente população humana (EWERS; DIDHAM, 2006; VITOUSEK et al., 2008). Paisagens anteriormente intocadas, sofreram intensas transformações antrópicas (BENDER et al., 1998; SANDERSON et al., 2002), como a agricultura, extração de recursos minerais, silvicultura, produção de eletricidade (queima de combustíveis fósseis e hidrelétricos) e outras atividades humanas (BENDER et al., 1998; SANDERSON et al., 2002; VITOUSEK et al., 2008). Considerando o ritmo acelerado em que esses habitats foram alterados, é essencial entender o impacto que o homem tem na vida silvestre (BRADLEY; ALTIZER, 2007; MARZLUFF et al., 2008). Dos impactos antrópicos, a fragmentação e a perda de habitat estão entre as principais mudanças na paisagem (BETTS et al., 2014; FAHRIG, 2003; FRANKLIN; NOON; GEORGE, 2002).

A perda de habitat é definida como a diminuição de áreas florestais, resultando em diferentes configurações remanescentes na paisagem (BROOKS et al., 2002; FAHRIG, 2003). Esse processo gera maior isolamento dos fragmentos e diminui as áreas de contato entre habitat e matriz, com efeitos negativos sobre a biodiversidade (FAHRIG, 2003; FLETCHER et al., 2018). Esse fenômeno reduz a diversidade local (BENDER et al., 1998; ORTEGA-ÁLVAREZ; MACGREGOR-FORS, 2009), exclui espécies sensíveis e favorece as espécies que estão mais adaptadas a ambientes alterados (DAR; RESHI, 2014; ESTAVILLO; PARDINI; DA ROCHA, 2013).

Uma maneira de ajudar a analisar os efeitos e intensidade de estressores ambientais, como a perda de habitat e o parasitismo para a vida selvagem, é através de estudos com a fisiologia individual de espécies amplamente distribuídas, isso permite diagnosticar esses efeitos antes que comecem a se manifestar em populações reduzidas (DAVIS; MANEY; MAERZ, 2008; HENRY; COSSON; PONS, 2007). Dentre as medidas fisiológicas, as que utilizam parâmetros hematológicos estão sendo cada vez mais usadas, uma vez que, podem fornecer informações valiosas sobre o impacto de vários estressores na saúde fisiológica dos animais (JOHNSTONE; LILL; REINA, 2015a; MADLIGER et al., 2018; SCHULTE-HOSTEDDE; ELSASSER, 2011).

As medidas de hematócrito (Hct), hemoglobina (Hb) e relação neutrófilos / linfócitos são consideradas excelentes indicadores de deficiências nutricionais e estressores ambientais crônicos (ELITH; LEATHWICK, 2009; FAIR; WHITAKER; PEARSON, 2007; LILL et al., 2013). Com a análise desses parâmetros, podemos obter informações sobre a vulnerabilidade

das diferentes espécies às mudanças causadas pela adequação do homem e do habitat, que são fundamentais para as ações de conservação (DAVIS; MANEY; MAERZ, 2008; MADLIGER et al., 2018).

Parasitas são organismos que vivem em associação estreita com outro organismo vivo de uma espécie diferente à sua (hospedeiro), sendo diferenciados em endoparasitas, que são organismos que vivem no interior do corpo do seu hospedeiro, e os ectoparasitas, que são organismos que vivem sobre o seu hospedeiro (JAKOB; MARSHALL; UETZ, 1996; PILOSOFF et al., 2012). Mesmo sendo muito diversos e apresentando ampla distribuição no ambiente, a compreensão sobre a dinâmica hospedeiro parasita ainda não está totalmente clara (PILOSOFF et al., 2012). A maioria dos estudos de parasitismo está focado nos endoparasitas, como Santos e Gibson (1998), que descreveram um novo trematódeo, parasitando a vesícula biliar de morcegos frugívoros e insetívoros e Nogueira et al. (2004), que descreveu a ocorrência de helmintos gastrintestinais em morcegos frugívoros da Amazônia. No entanto, pesquisas realizadas com ectoparasitas muitas vezes sendo negligenciadas (LEHMANN, 1993; PILOSOFF et al., 2012).

Investigações com ectoparasitismo são de grande relevância, visto que, os ectoparasitas exercem pressões seletivas importantes sobre a evolução dos seus hospedeiros, podendo diminuir a sua aptidão, tendo com consequências negativas para a dinâmica da manutenção de populações viáveis (LEHMANN, 1993; PILOSOFF et al., 2012). Os ectoparasitas podem retardar o tempo da reprodução, reduzir a sobrevivência e crescimento dos hospedeiros jovens, além de interferirem em eventos reprodutivos, exercendo, portanto, forte pressão nos traços da história de vida do hospedeiro (FITZE; TSCHIRREN; RICHNER, 2004; MØLLER et al., 1994). Desta forma, a análise da inter-relação entre parasita e hospedeiro pode fornecer informações significativas sobre os diferentes processos ecológicos citados acima (MØLLER et al., 1994; URBIETA; TORRES; ANJOS, 2019).

Entre os mamíferos os morcegos apresentam a maior diversidade de hábitos, podendo ser fitófagos (frugívoros, nectarívoros, polinívoros, folívoros ou granívoros), animalívoros (insetívoros, carnívoros generalistas, piscívoros, ranívoros ou hematófagos) ou onívoros (que consomem plantas e animais) (KUNZ; FENTON, 2003). Dentre os morcegos, a família Phyllostomidae, que é endêmica do Neotrópico, é a que possui a maior diversidade de hábitos alimentares, destacando-se entre eles a frugivoria (ROJAS et al., 2011). Essas interações mutualísticas da frugivoria são fundamentais para a manutenção das comunidades naturais e da grande biodiversidade nos trópicos (uma vez que possuem papel importante na dispersão de

sementes), o que torna os morcegos frugívoros um importante grupo de estudos (JORDANO et al., 2006).

O presente trabalho foi dividido em dois capítulos para que pudéssemos analisar como a perda de habitat está afetando os morcegos, a sua condição fisiológica e a relação com os seus ectoparasitas. O primeiro capítulo, intitulado “**Habitat amount partially affects physiological condition and stress level in Neotropical fruit-eating bats**”, teve como objetivo analisar os parâmetros hematológicos para investigar os impactos da perda de habitat sobre a condição fisiológica (condição corporal e estado de saúde) e nível de estresse de morcegos neotropicais frugívoros. O segundo capítulo, intitulado “**Análise do efeito da perda de habitat na saúde e ectoparasitismo de morcegos frugívoros**”, teve como objetivo entender como os ectoparasitas específicos de morcegos frugívoros variam de acordo com a perda de habitat, e como isso afeta na condição de saúde desses animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALROY, J. Effects of habitat disturbance on tropical forest biodiversity. PNAS, 1–6, 2017.
- ANDRÉN, H. Effects of Habitat Fragmentation on Birds and Mammals in Landscapes With Different Proportions of Suitable Habitat - a Review. **Oikos**, v. 71, n. 3, p. 355–366, 1994.
- AUTINO, A. G. et al. Ectoparasitic insects (Diptera : Streblidae and Siphonaptera : Ischnopsyllidae) of bats from Iquitos and surrounding areas (Loreto , Peru). v. 106, n. December, p. 917–925, 2011.
- BARBIER, E. From the Atlantic Forest to the borders of Amazonia : species richness , distribution , and host association of ectoparasitic flies (Diptera : Nycteribiidae and Streblidae) in northeastern Brazil. 2017.
- BARBIER, E.; GRACIOLLI, G. Community of bat flies (Streblidae and Nycteribiidae) on bats in the Cerrado of Central-West Brazil: hosts, aggregation, prevalence, infestation intensity, and infracommunities. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 51, n. 3, p. 176–187, 2016.
- BENDER, D. J. et al. Habitat Loss and Population Decline : A Meta-Analysis of the Patch Size Effect. **Ecology**, v. 79, n. 2, p. 517–533, 1998.
- BENNETT, A. F.; SAUNDERS, D. A. Habitat fragmentation and landscape change. n. August

2014, 2011.

- BERNARD, E.; FENTON, M. B. Bat Mobility and Roosts in a Fragmented Landscape in Central Amazonia, Brazil1. **Biotropica**, v. 35, n. 2, p. 262, 2003.
- BERNARD, E.; FENTON, M. B. Bats in a fragmented landscape: Species composition, diversity and habitat interactions in savannas of Santar??m, Central Amazonia, Brazil. **Biological Conservation**, v. 134, n. 3, p. 332–343, 2007.
- BETTS, M. G. et al. A species-centered approach for uncovering generalities in organism responses to habitat loss and fragmentation. n. January, p. 1–11, 2014.
- BOL, B. et al. Habitat fragmentation and the prevalence of parasites (Diptera , Streblidae) on three Phyllostomid bat species. v. 50, n. 1, p. 90–97, 2018.
- BRADLEY, C. A.; ALTIZER, S. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 22, n. 2, p. 95–102, 2007.
- BROOKS, T. M. et al. Habitat Loss and Extinction in the Hotspots of Biodiversity doi:10.1046/j.1523-1739.2002.00530.x. **Conservation Biology**, v. 16, n. 4, p. 909–923, 2002.
- BUSH, A. O. et al. PARASITOLOGY ON ITS OWN TERMS : MEETS ECOLOGY MARGOLIS. v. 83, n. 4, p. 575–583, 2015.
- COTTONTAIL, V. M.; WELLINGHAUSEN, N.; KALKO, E. K. V. Habitat fragmentation and haemoparasites in the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis* (Phyllostomidae) in a tropical lowland forest in Panamá. **Parasitology**, v. 136, n. 10, p. 1133–1145, 2009.
- DAR, P. A.; RESHI, Z. A. Components , Processes and Consequences of Biotic Homogenization : a Review. v. 2, 2014.
- DAVIS, A. K.; MANEY, D. L.; MAERZ, J. C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. **Functional Ecology**, v. 22, n. 5, p. 760–772, 2008.
- DE VASCONCELOS, P. F. et al. Parasite-host interactions of bat flies (Diptera: Hippoboscoidea) in Brazilian tropical dry forests. **Parasitology Research**, v. 115, n. 1, p. 367–377, 2016.
- DICK, C. W.; PATTERSON, B. D. Against all odds : Explaining high host specificity in dispersal-prone parasites. v. 37, p. 871–876, 2007.
- DITTMAR, K. et al. Bat fly evolution from the Eocene to the Present (Hippoboscoidea , Streblidae and Nycteribiidae). p. 246–264, 2016.
- ELITH, J.; LEATHWICK, J. R. Species Distribution Models: Ecological Explanation and

- Prediction Across Space and Time. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, v. 40, p. 677–697, 2009.
- ELLIS, R. D.; MCWHORTER, T. J.; MARON, M. Integrating landscape ecology and conservation physiology. **Landscape Ecology**, v. 27, n. 1, p. 1–12, 2012.
- ERIKSSON, A.; GRACIOLLI, G.; FISCHER, E. Bat flies on phyllostomid hosts in the Cerrado region : component community , prevalence and intensity of parasitism. v. 106, n. December 2004, p. 274–278, 2011.
- ESTAVILLO, C.; PARDINI, R.; DA ROCHA, P. L. B. Forest loss and the biodiversity threshold: An evaluation considering species habitat requirements and the use of matrix habitats. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, p. 1–10, 2013.
- EWERS, R. M.; DIDHAM, R. K. Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 81, n. 1, p. 117–42, 2006.
- FAHRIG, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annu Rev Ecol Evol Syst**, v. 34, p. 487–515, 2003.
- FAIR, J.; WHITAKER, S.; PEARSON, B. Sources of variation in haematocrit in birds. p. 535–552, 2007.
- FARNEDA, Z. et al. Trait-related responses to habitat fragmentation in Amazonian bats. p. 1381–1391, 2015.
- FITZE, P. S.; TSCHIRREN, B.; RICHNER, H. Life history and fitness consequences of ectoparasites. **Journal of Animal Ecology**, v. 73, n. 2, p. 216–226, 2004.
- FLETCHER, R. J. et al. Is habitat fragmentation good for biodiversity? **Biological Conservation**, v. 226, n. April, p. 9–15, 2018.
- FRANK, H. K. et al. Anthropogenic impacts on Costa Rican bat parasitism are sex specific. **Ecology and Evolution**, v. 6, n. 14, p. 4898–4909, 2016.
- FRANKLIN, A. B.; NOON, B. R.; GEORGE, T. L. WHAT IS HABITAT FRAGMENTATION ? n. 25, p. 20–29, 2002.
- GANNON, M. R.; WILLIG, M. R. Ecology of Ectoparasites from Tropical Bats. **Environmental Entomology**, v. 24, n. 6, p. 1495–1503, 1995.
- GORRESEN, P. M.; WILLIG, M. R. Landscape Responses of Bats To Habitat Fragmentation in Atlantic Forest of Paraguay. **Journal of Mammalogy**, v. 85, n. 4, p. 688–697, 2004.
- GRACIOLLI, G.; AUTINO, A. G.; CLAPS, G. L. Catalogue of American Nycteribiidae (Diptera , Hippoboscoidea). n. 2004, p. 142–159, 2005.

- HENRY, M.; COSSON, J. F.; PONS, J. M. Abundance may be a misleading indicator of fragmentation-sensitivity: The case of fig-eating bats. **Biological Conservation**, v. 139, n. 3–4, p. 462–467, 2007.
- HOFSTEDE, H. M.; FENTON, M. B. Relationships between roost preferences, ectoparasite density, and grooming behaviour of neotropical bats. **Journal of Zoology, London**, v. 266, n. 4, p. 333–340, 2005.
- JAKOB, E. M.; MARSHALL, S. D.; UETZ, G. W. Estimating Fitness: A Comparison of Body Condition Indices. **Oikos**, v. 77, n. 1, p. 61, 1996.
- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Response of the Agile Antechinus to Habitat Edge , Configuration and Condition in Fragmented Forest. v. 6, n. 11, 2011.
- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Does habitat fragmentation cause stress in the agile antechinus ? A haematological approach. p. 139–155, 2012.
- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Habitat loss , fragmentation and degradation effects on small mammals : Analysis with conditional inference tree statistical modelling. **BIOLOGICAL CONSERVATION**, v. 176, p. 80–98, 2014.
- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Use of erythrocyte indicators of health and condition in vertebrate ecophysiology : A review and appraisal Use of erythrocyte indicators of health and condition in vertebrate ecophysiology : a review and appraisal. n. June 2016, 2015a.
- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Use of erythrocyte indicators of health and condition in vertebrate ecophysiology: A review and appraisal. **Biological Reviews**, n. SEPTEMBER, 2015b.
- JOHNSTONE, C. P.; REINA, R. D.; LILL, A. Impact of anthropogenic habitat fragmentation on population health in a small , carnivorous marsupial Impact of anthropogenic habitat fragmentation on population health in a small , carnivorous marsupial. v. 91, n. 6, p. 1332–1341, 2010.
- JOHNSTONE, C. P.; REINA, R. D.; LILL, A. Interpreting indices of physiological stress in free-living vertebrates. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 182, n. 7, p. 861–879, 2012.
- JONES, G. et al. Carpe noctem: The importance of bats as bioindicators. **Endangered Species Research**, v. 8, n. 1–2, p. 93–115, 2009.
- KOMENO, C. A.; LINHARES, A. X. Batflies Parasitic on Some Phyllostomid Bats in Southeastern Brazil: Parasitism Rates and Host-parasite Relationships. **Memorias do**

- Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 2, p. 151–156, 1999.
- KORINE, C.; ZINDER, O.; ARAD, Z. Diurnal and seasonal changes in blood composition of the free-living Egyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*). **Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 169, n. 4–5, p. 280–286, 1999.
- LEHMANN, T. Ectoparasites : Direct Impact on Host Fitness. v. 9, n. I, 1993.
- LILL, A. et al. Are haematocrit and haemoglobin concentration reliable body condition indicators in nestlings : the Welcome Swallow as a case study. v. 6, n. 1, 2013.
- LINDENMAYER, D. B.; FISCHER, J. Tackling the habitat fragmentation panchreston. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 22, n. 3, p. 127–132, 2007.
- LOAYZA, A. P.; LOISELLE, B. A. Preliminary Information on the Home Range and Movement Patterns of *Sturnira lilium* (Phyllostomidae) in a Naturally Fragmented Landscape in Bolivia. v. 40, n. 5, p. 630–635, 2008.
- MADLIGER, C. L. et al. The conservation physiology toolbox : status and opportunities. v. 6, n. June, p. 1–16, 2018.
- MARSHALL, A. G. Ecology of Insects Ectoparasitic on Bats. p. 369–370, 1982.
- MARZLUFF, J. M. et al. Urban ecology: An international perspective on the interaction between humans and nature. **Urban Ecology: An International Perspective on the Interaction Between Humans and Nature**, n. July, p. 1–807, 2008.
- MBORA, D. N. M.; MCPEEK, M. A. Host density and human activities mediate increased parasite prevalence and richness in primates threatened by habitat loss and fragmentation. p. 210–218, 2009.
- MEEHAN, C. L.; MENCH, J. A. The challenge of challenge : Can problem solving opportunities enhance animal welfare ? §. v. 102, p. 246–261, 2007.
- MELLO, M. A. R. et al. Keystone species in seed dispersal networks are mainly determined by dietary specialization. **Oikos**, v. 124, n. 8, p. 1031–1039, 2015.
- MEYER, J. et al. Ecological correlates of vulnerability to fragmentation in Neotropical bats. p. 381–391, 2008.
- MINIAS, P. The use of haemoglobin concentrations to assess physiological condition in birds : a review. v. 3, p. 1–15, 2015a.
- MINIAS, P. The use of haemoglobin concentrations to assess physiological condition in birds: A review. **Conservation Physiology**, v. 3, n. 1, p. 1–15, 2015b.
- MØLLER, A. P. et al. Ectoparasites and host energetics: house martin bugs and house martin

- nestlings. **Oecologia**, v. 98, n. 3–4, p. 263–268, 1994.
- MULLU, D. A Review on the Effect of Habitat Fragmentation on Ecosystem. n. January, 2018.
- MUYLAERT, R. L.; STEVENS, R. D.; RIBEIRO, M. C. Threshold effect of habitat loss on bat richness in cerrado-forest landscapes. **Ecological Applications**, v. 26, n. 6, p. 1854–1867, 2016.
- NOGUEIRA, M. R.; FABIO, S. P.; PERACCHI, A. L. Gastrointestinal helminthparasitism in fruit-eatingbats (Chiroptera, Stenodermatinae) from western Amazonian Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, v. 52, n. 2. p. 387- 392, 2004
- ORTEGA-ÁLVAREZ, R.; MACGREGOR-FORS, I. Landscape and Urban Planning Living in the big city : Effects of urban land-use on bird community structure , diversity , and composition. v. 90, p. 189–195, 2009.
- PATTERSON, B. D.; DICK, C. W.; DITTMAR, K. Roosting habits of bats affect their parasitism by bat flies (Diptera : Streblidae). p. 177–189, 2007.
- PEIG, J.; GREEN, A. J. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: The scaled mass index as an alternative method. **Oikos**, v. 118, n. 12, p. 1883–1891, 2009.
- PEIXOTO, F. P. et al. A synthesis of ecological and evolutionary determinants of bat diversity across spatial scales. **BMC Ecology**, p. 1–14, 2018.
- PILOSOFF, S. et al. Effects of Anthropogenic disturbance and climate on patterns of bat fly parasitism. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7, 2012.
- RIBEIRO, M. C. et al. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141–1153, 2009.
- SANDERSON, E. W. et al. The Human Footprint and the Last of the Wild. **BioScience**, v. 52, n. 10, p. 891, 2002.
- SAPOLSKY, ROBERT; ROMERO, M. M. A. U. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses ? Preparative Actions *. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 1, p. 55–89, 2000.
- SCHULTE-HOSTEDDE, A. I.; ELSASSER, S. C. Spleen mass, body condition, and parasite load in male American mink (Neovison vison). **Journal of Mammalogy**, v. 92, n. 1, p. 221–226, 2011.
- SPONCHIADO, J. et al. Association patterns of ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae, argasidae) of small mammals in cerrado fragments, western Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, n. 3, p. 389–401, 2015.

- TREVELIN, L. C. et al. Enhancing sampling design in mist-net bat surveys by accounting for sample size optimization. p. 1–16, 2017.
- URBIETA, G. L.; TORRES, J. M.; ANJOS, E. Parasitism of Bat Flies (Nycteribiidae and Streblidae) on Bats in Urban Environments : Lower Prevalence , Infracommunities , and Specificity Parasitism of bat flies (Nycteribiidae and Streblidae) on bats in urban environments : lower prevalence , infracommunities , and specificity. n. February, 2019.
- VALDIVIESO, D.; TAMSITT, J. R. Hematological data from tropical American bats. **Canadian Journal Of Zoology**, v. 49, n. 1, p. 31–36, 1971.
- VELAZCO, P. M.; PATTERSON, B. D. Diversification of the Yellow-shouldered bats, Genus Sturnira (Chiroptera, Phyllostomidae), in the New World tropics. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 68, n. 3, p. 683–698, 2013.
- VITOUSEK, P.M., MOONEY, H.A., LUBCHENCO J. Human Domination of Earth's Ecosystems. **Science, New Series**. v. 277, n. 5325, p. 494–9, 2008

**Capítulo 1: The effects of habitat amount on physiological condition and stress
level in Neotropical fruit-eating bats**

Habitat amount partially affects physiological condition and stress level in Neotropical fruit-eating bats

Pedro Henrique Miguel^{1,*}, Patricia Kerches-Rogeri², Bernardo Brandão Niebuhr^{2,4,5} Rafael Souza Cruz Alves², Milton Cezar Ribeiro^{1,2}, Ariovaldo Pereira da Cruz Neto^{1,3}

¹ Graduate Program in Zoology, State University of Sao Paulo (UNESP), Rio Claro, SP, Brazil

² Spatial Ecology and Conservation lab (LEEC), Department of Ecology, State University of Sao Paulo (UNESP), Rio Claro, SP, Brazil

³ Department of Zoology, State University of Sao Paulo (UNESP), Rio Claro, SP, Brazil

⁴ Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Mamíferos Carnívoros (CENAP), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), Atibaia, SP, Brazil

⁵ Instituto Pró-Carnívoros, Atibaia, SP, Brazil

* Corresponding author: Telephone number: +55 (16) 997548455,

pedrohmiguel2@gmail.com

Declarations of interest: none

*This article is part of a special issue entitled: Physiology from the Neotropics, edited by: Dr. Bicego Kenia, Dr. Luciane Gargaglioni and Dr. Mike Hedrick

*Received 18 March 2019; Received in revised form 30 July 2019; Accepted 5 August 2019.

Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 237 (2019) 110537

ABSTRACT

Hematological measures are increasingly being used to analyse the impact of several stressors on the physiological condition of animals. Landscape degradation and habitat loss impacts terrestrial and volant mammals occurrence, however rarely the effects of these factors on physiological conditions and stress levels were analysed. Here, we measured several hematological parameters to analyse the impacts of habitat amount on the physiological condition (body condition and health status) and stress level of four species of Neotropical fruit-eating bats. We measured haematocrit, haemoglobin concentration and calculated the hemoglobin-hematocrit residuals (HHR) and mean cell haemoglobin concentration (MCHC), as well as the neutrophil to lymphocyte ratio (N/L ratio) of four common frugivores bat species (*Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris*, *Sturnira lilium* and *Carollia perspicillata*). The bats were captured in 20 landscapes within the Atlantic Forest biodiversity hotspot, in a gradient from 10 to 85% of habitat amount. We tested the influence of habitat amount, species, sex and reproductive condition on the physiological variables. We fit GLM to each of the response variables and performed a model selection to identify the most plausible to explain the patterns. . N/L ratio was negatively influenced by habitat amount, while the other variables were not related to habitat amount. Overall, we found that habitat loss apparently did not jeopardize the physiological condition of fruit-eating bats and that stress level apparently is not high enough to have any deleterious effect. We suggest that the increase in glucocorticoids, indirectly assessed by the N/L ratio, is a predictive, beneficial response, that allow these bats to cope efficiently with the stressors associated with habitat loss.

Keywords: conservation physiology, habitat loss, habitat fragmentation, hematology, stress, landscape ecophysiology, Atlantic Forest, Brazil.

Introduction

In the last century, anthropogenic pressures over forested areas, especially in the Neotropics, are dramatically changing landscapes, with habitat loss and fragmentation being the two most conspicuous effects of these pressures (Alroy, 2017; Newbold et al., 2015; Vitousek et al., 2008). Recent studies suggest that habitat loss and fragmentation per se (sensu Fahrig 2003) do not affect Neotropical biodiversity in the same way, with the loss of suitable habitats (reduction in habitat amount) being more important than the effects of fragmentation per se (Fahrig, 2003, 2017; Fahrig et al., 2019; but see Fletcher et al., 2018). It has also been suggested that these effects are deleterious for some species, whilst others are not affected or are even favoured by some degree of habitat loss and fragmentation, as forest edge associated species (Keinath et al., 2017; Vetter et al., 2011). Understanding the idiosyncratic responses of species to these effects, and how they differ accordingly to the specific driver, is pivotal from both a theoretical and conservation point of view.

The effects of habitat loss and fragmentation on biodiversity patterns are usually analyzed using species-distribution and/or relative abundance data (Henle et al., 2004; Rapport et al., 1998). This approach can inform us whether a given population is at risk due to anthropogenic landscape alterations only after it has already declined (Mouillot et al., 2013). However, they cannot be identified in populations in which these effects were not yet reflected on species abundance and occurrence (Metzger et al., 2009), and do not inform us about the causal mechanisms underlying the differential responses of species or populations to these disturbing factors. As such, they have a low predictive power, in which species or populations would be more prone to be negatively affected by man-made landscape alterations (Mayfield et al., 2010; Violle et al., 2007). An option to fill this gap is to focus on quantifying the myriad of physiological processes whereby different species cope with changing environments. In fact, the use of physiological concepts, tools and techniques is now a well-established and powerful research agenda that may contribute to clarify the mechanistic basis that links anthropogenic impacts in landscapes to species-specific responses to such changes (Cook et al., 2013; Chown and Gaston, 2008; Ellis et al., 2012; Madliger et al., 2018; Todgham and Stillman, 2013).

The use of physiological indices, especially those derived from the analysis of blood parameters (erythrocytes and leukocytes profiles), have witnessed a burgeoning use to assess physiological condition and stress level of different vertebrate species facing potentially stressful conditions (Davis et al., 2008; Johnstone et al., 2012b, 2015; Madliger et al., 2018). In a broad sense, physiological condition refers to a composite of intertwined factors, including

nutritional state and health level (Minias, 2015; Notre et al., 2010). Body condition refers to bodily energy reserves (fat and proteins), and it is implicitly assumed that healthy species, or populations, are those whose individuals where able to meet their nutritional and energetic requirements without the use of stored fat and protein (Peig and Green, 2009; 2010). Erythrocytes variables especially mean packed cell volume (hematocrit – Hct) and hemoglobin concentration (Hb), have also been used to assess body condition and health status. A high Hb and Hct is associated with a high blood oxygen capacity, which presumably is advantageous to meet the metabolic demands such as, for example, those imposed by stressful conditions (Withers et al., 2016). Thus, it follows that the maintenance of a healthy physiological condition in an otherwise stressful habitats require an increase in body oxygen capacity and, hence a high level of Htc and Hb. However, Htc and Hb can vary independently from each other, and might be high, or low, due to several other stress related problems, such as dehydration or anemias, which can result from conditions such as starvation, parasite infections, or hemolytic diseases (Fair et al., 2017; Minias 2015). Thus, the sole use of these two metrics to infer body condition and health status has been criticized, and some derivative metrics, such as the hemoglobin-hematocrit residuals (HHR), Mean Cell Hemoglobin Content (MCH) or Concentration (MCHC) and Mean Cell Volume (MCV) have been proposed as alternative indices to disentangle these potential confounding effects (Johnstone et al., 2011, 2012b, 2015). Notwithstanding these caveats, measurements of body condition – Hct and Hb and their derivative metrics – have been used as proxy to gauge the impacts of habitat loss and fragmentation in several species of birds and mammals (Johnstone et al., 2010, 2011, 2012b, 2014; Mazerolle and Hobson, 2002).

The definition of stress is contentious, but is generally assumed that involves the activation of the hypothalamus–pituitary–adrenal axis (HPA axis) by the release of stress hormones such as cortisol and/or corticosterone (McEwen and Wingfield, 2010; Boonstra, 2013). These hormones in turn may increase the number of neutrophils (or heterophils) and decreases the number of leukocytes (Davis et al., 2008). Thus, the measurements of the ratio between neutrophils (or heterophils) and leukocytes (N/L or H/L ratio) have been used as proxy to gauge stress level in vertebrates (Davis et al, 2008; Johnstone et al., 2012b). As such, this index has been used to assess the stress level of animals, especially birds and mammals, facing habitat loss and fragmentation (Mazerolle and Hobson, 2002; Suorsa et al., 2004; Hinam and St Clair, 2008; Johnstone et al., 2011, 2014). The release of these stress hormones also leads to the production of immature red blood cells (reticulocytes), an indicative of regenerative

anemia (Breuner et al., 2013; Minas 2015). In this regard it has been suggested that erythrocyte variables such as MCH and/or MCHC could also be used as indicative of HPA activation, and hence, of stress level (Breuner et al., 2013; Minias 2015; Johnstone et al., 2012b, 2015). However, the use of such variables to assess the stress level resulting from habitat loss and fragmentation is not as widespread as the use of the N(H)/L ratios (Mazerolle and Hobson, 2012; Johnstone et al., 2011, 2014).

Bats (Order Chiroptera) present their greatest diversity in the Neotropics, where the evolution of a wide range of trophic niches is consider central to this diversification (Jones et al., 2009; Peixoto et al., 2018). Bats are pivotal to the maintenance of important ecological services in the Neotropics, such as pest control, pollination, seed dispersal, and restoration of degraded areas (Gorresen and Willig, 2004; Muscarella and Fleming, 2007). In this context, it is no surprise that studies on the effects of habitat loss and fragmentation on tropical bats have witnessed an increased interest. In general, the few generalizations provided by these studies pointed that the responses to habitat loss and fragmentation are species-specific, and that the reduction of habitat amount triggers more pronounced responses of bat species than the effects caused by fragmentation per se (Farneda et al., 2015; Meyer et al., 2016; Rocha et al., 2017). As hitherto stated, such generalizations cannot inform on the mechanistic reasons underlying these responses nor can they provide an immediate analysis of how these effects are causing stress and impairing the health status of bats.

In this context, we measured body condition (Hct, Hb, and calculated HHR, MCHC and N/L ratio) to assess the health status and stress level of four Neotropical fruit-eating bats (Family Phyllostomidae). These bats are considered resilient to anthropogenic disorders (Cosson et al., 1999; Meyer and Kalko, 2008), in response to a reduction in habitat amount in the landscape. We had three *a priori* competing hypotheses. Hypothesis 1 states that habitat amount affects physiological condition and stress level of the bats. Hypothesis 2 also considers that species differ in the way they are affected by habitat amount. The third (and null) hypothesis is that there is no effect of habitat amount on the physiology of bats (Table 1).

Table 1. Hypotheses and expected responses of bats across habitat loss gradients for each of the physiological response variables within Atlantic Forest.

	Hypothesis 1: habitat amount effect	Hypothesis 2: effect of habitat amount only among the analyzed species
--	--	---

Body condition	Body condition of bats decreases with increased habitat loss, due to energy needs to move over greater distances in search of food.	Although the studied species are considered resilient to disturbances, large species tend to be less affected by habitat loss because they can still move farther and reach suitable habitat.
Hematocrit	With habitat loss, bats would be in poorer health, what means high hematocrit, high hemoglobin concentration, low HHR and high MCHC.	We expect small species to have higher hematocrit, hemoglobin, MCHC and lower HHR with greater habitat loss due to possible reduction in the amount of food and consequently greater need to travel long distances.
Hemoglobin		
HHR		
MCHC		
N/L ratio	Areas with less habitat show a homeostasis disturbance, increasing the neutrophil/lymphocyte ratio (Lewanzik et al., 2012; Milenkaya et al., 2013, Seltsmann et al., 2017). Thus, we expect a negative effect of the habitat amount on the N/L ratio.	We expect small species to have higher N/L ratio values due to stress from traveling longer distances in search of food.

Material and Methods

Study area

The study area was a fragmented region in the Atlantic Forest biodiversity hotspot (Myers et al., 2000), State of São Paulo, southeastern Brazil (23 °14' 18"S, 46 ° 22' 40" W). This region is characterized by the presence of tropical forest fragments of different sizes and shapes, interspersed by a matrix composed of pasture, small crops, forestry (eucalypt and pine plantations), urban areas and wetlands (Ribeiro et al., 2009). Most of the deforestation took place between 1900 and 2000, and since then most of the land use change corresponds to transitions between pasture and different types of perennial and annual crops (Victor et al. 2005, Calaboni et al. 2018). Within this region, we selected 20 landscapes with forest cover (hereafter habitat amount) ranging from 10 to 85% within a 2 km radius buffer size. This was used as a proxy for habitat loss, which allowed us to assess its effect on health status and stress levels of bats (Fig. 1). The choice of this 2-km buffer size was based on previous studies, which documented that 2 km is a suitable spatial extent for the analysis of the diversity and abundance of frugivorous bats in a similarly fragmented context (Muylaert et al., 2016). Additionally, we also explored the effects of landscape habitat amount on bat physiological parameters using two

other spatial extents (0.5 and 1 km), but the patterns were consistent with the previous results. Therefore, we kept only the 2-km spatial extent on our analysis.

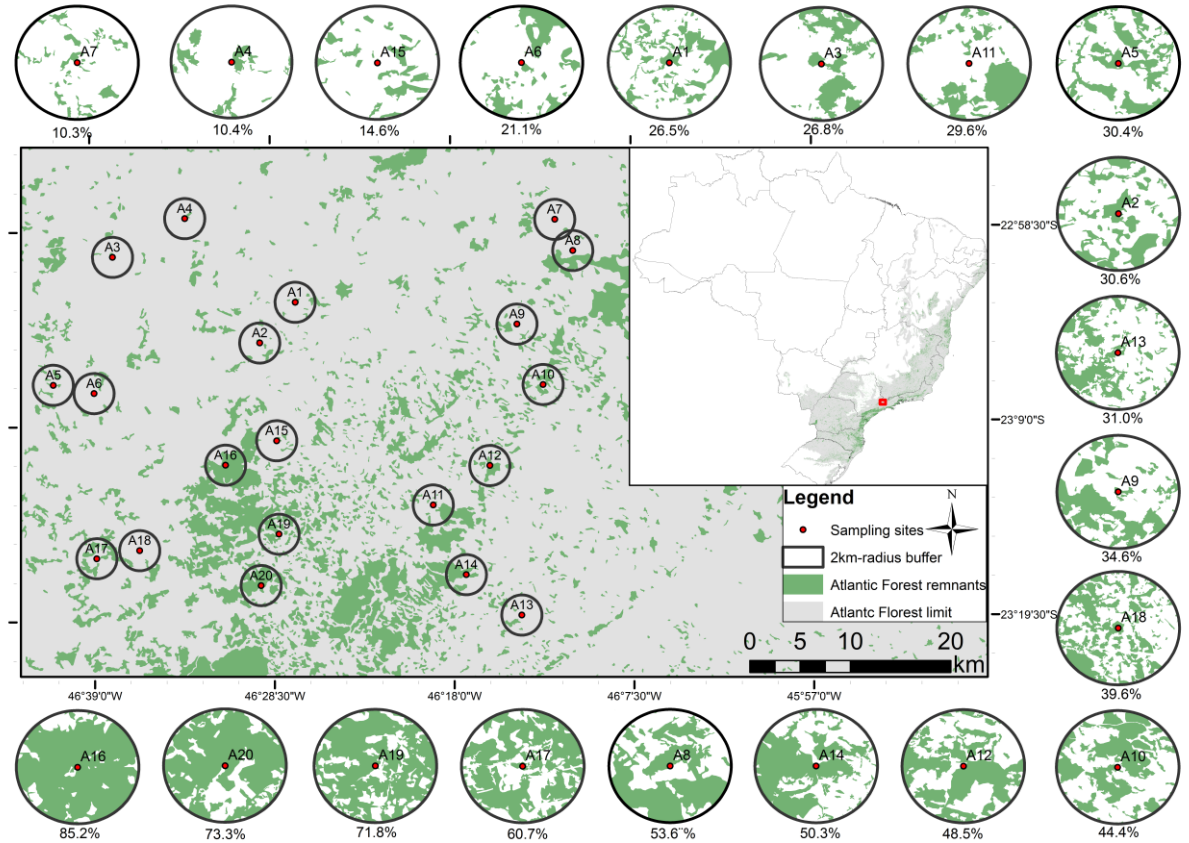


Fig 1. Map of the study area, within the Atlantic Forest patches, and illustration of the twenty 2 km-radius sampling landscapes, that present a gradient of forest amount.

Prior to calculate habitat amount, we mapped the forest remnants through visual interpretation of aerial and satellite images of the study area (Esri, DigitalGlobe, GeoEye, Earthstar Geographics, CNES / Airbus DS, USDA, USGS, AEX, Getmapping, Aerogrid, IGN, IGP, swisstopo, and GIS User Community) with 1-m spatial resolution, available in the Basemap extension (ArcGIS 10.2). habitat amount (forest cover % in the 2-km radius landscape) was calculated within GRASS 6.4 GIS (GRASS Development Team 2014).

Bat sampling

Bats were sampled between September 2017 to March 2018, which refers to the reproductive season. Although we collected 20 species, we focused our analysis on the four

most abundant in the study area: *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris*, *Carollia perspicillata* and *Sturnira lilium* (see also Muylaert et al., 2016). All these species have a wide distribution through Central and South America, being common in disturbed habitats, with a roost preference for foliage and hollow trees. The diet of these species are mostly comprised of fruits of the genus *Piper*, *Solanum*, *Cecropia* and *Ficus*, albeit with different levels of preference (Fleming and Heithaus, 1981; Velazco and Patterson 2013).

We captured bats by placing six mist-nets at each landscape (12 x 3m, 16 x 16mm mesh), at locations such as trails, road sides and forest edges. Mist-nets were open for 6 hours starting at dusk, for two nights in each landscape, totaling 2592 h.m² of sampling effort (Trevelin et al., 2017). Upon capture, we identified the bats taxonomically according to Reis et al. (2007), and recorded the sex and reproductive status of each adult individual (reproductive or non-reproductive). The reproductive condition was assessed through the visualization of the secondary sexual characteristics: scrotum evident or not in the males, according to the swelling of the testicles; pregnant female, when the animal shows greater volume in the abdominal region, with perception of the fetus in the abdomen, through probing; breastfeeding, when the mammary glands are well developed and without surrounding hairs, lactating when pressed; non-lactating female, when they do not have developed mammary glands (Anthony, 1988).

After measuring body mass (g) with a spring balance (Pesola, LIGHT LINIE, accuracy 0.1 g, Switzerland) and forearm length (mm) with a digital caliper (Digimess 100.041A, accuracy 0.02mm, Brazil), we took a blood sample (up to 100 µl; less than 1% of blood volume for all 4 species) by puncturing the antebrachial vein with a 26-gauge sterile needle as described by Voigt and Cruz-Neto (2009). Time between capture and blood sampling took on average 60 minutes. These samples were transferred to heparinized capillaries for measurements of hemoglobin content, hematocrit, and for the quantification of the neutrophil/lymphocyte ratio. After blood collection, each individual was banded with a uniquely numbered aluminum band placed at the forearm (Omega LOG, Brazil) and released at the site of capture.

Permits to collect bats were issued by Instituto Brasileiro do Meio ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA permit: #58458-1). Ethical permits for this study were issued by the Comitê de Ética no Uso de Animal of the Universidade Estadual Paulista (UNESP) at Rio Claro, São Paulo, Brazil (Authorization: #21/2017)

Blood analysis

Immediately after collection, a 10 µl blood sample was used to measure the hemoglobin concentration (in g/dL) with a Vet Hemoglobin Analyzer (HemoVet, EKF Diagnostics, Barleben, Germany). Right after these measurements, an additional aliquot of 10 µl was placed on a glass slide and then smeared across the surface using the clean edge of another slide used to obtain blood smears, which were fixed with methanol. After air-drying the smear was fixed with Giemsa (20%) and then latter analyzed under oil immersion in a microscope, with a magnification of 100x. We calculated the differential white blood cell counts (DWBC) by identifying and counting in 100 leukocytes, the relative number of lymphocytes, neutrophils, eosinophils and monocytes (Paksuz et al., 2009). From this data we then calculated the N/L ratio. All these analyses were carried out blindly with the respect to the individual/species identity, always by the same person (P.H.M.). The remaining blood was stored at 4°C for no more than 12 hours and then used to determine the hematocrit (%), by capillary centrifugation (micro Coleman SH-120/1, Brazil), at 12 000 rpm for 10 minutes. We conducted a linear regression between time (in minutes, counted from blood collection) and hematocrit values to ensure that there were no blood quality impairments for hematocrit results (Appendix A).

Data Handling and Statistical Analysis

We used the scaled mass index (Mi) as a surrogate for body condition (Peig and Green, 2009, 2010). Since body mass and forearm length differed between species, Mi was calculated by adjusting body mass for a common linear measurement of size (mean forearm length of all individuals for the four species). As expected, hemoglobin was highly correlated with hematocrit for all species (Appendix B). Thus, we used the residuals of a regression between Hct and Hb for all species as a measure of the variation in Hb independent of the variation in Hct (Hemoglobin-Hematocrit Residuals – HHR; Johnstone et al., 2011). The mean cell hemoglobin concentration (MCHC, in grams per liter), a measurement of the amount of Hb per total number of erythrocytes, was calculated as $MCHC = Hb \times 10 / Hct$ (Johnstone et al., 2012b).

We used Generalized Linear Models (GLM) to model the response variables (Mi, hematocrit, hemoglobin concentration, HHR, MCHC, and N/L ratio) as a function of habitat amount and species. We also considered the interaction between these covariates to account for the differential effect of habitat amount between species. Since most of the variation in body mass was due to the difference between species (these variables were highly correlated, see Appendix C), we did not include body mass as an explanatory variable in the models. GLMs

were built with a Gaussian error structure for the response variables, since all of them are continuous. The N/L ratio, the only variable constrained to a range between zero and one, was standardized to guarantee the optimization of the GLM fit: for each value we subtracted the mean and divided the result by the standard deviation of the N/L ratio, to allow for both positive and negative values. We built all univariate and multivariate models formed by the combination of habitat amount and species, including the interaction between them. For each response variable, we performed a variable selection through corrected Akaike information criteria (AICc), searching for the most plausible models as the ones with lowest AICc values. We considered as equally plausible all models with a difference of AICc smaller than 2 from the model with lower AICc (i.e. ΔAICc). In case there was more than one model among the most plausible, we considered the simplest (with the one with less parameters) as the most likely, using the principle of parsimony (Burnham and Anderson 2002). To account for the effect of spatial extent (i.e. buffer size) when estimating habitat amount, the same models were fit for each landscape extent (2, 1, and 0.5 km radius landscapes), and their effects were also compared via AICc. The analyses were performed in R (R Core team 2018), using the MuMIn package, a tool for performing model selection and model averaging (Bartón 2018). All code and data are publicly available at a GitHub repository: https://github.com/LEEClab/ms_landscape_physiology_bats.

Results

For the four focal species, we captured 275 bats on our study (64 *A. lituratus*, 75 *A. planirostris*, 34 *C. perspicillata*, and 102 *S. lilium*). On average, 14 individuals were captured per sampling landscape, although the number of individuals captured in each of the 20 sampling areas varied considerably between species (Appendix D). The effect of habitat amount in all physiologic parameters was qualitatively similar between landscape extents, therefore we only report the results for 2km-radius landscapes. The comparison between scales is shown in Appendix E.

Body condition

Most difference in body condition was due to the variation in body size between species, and the effect of habitat amount on body condition was negligible for all species (Table 2, Appendix E). As expected from their body sizes, *A. lituratus* presented higher body condition, followed by *A. planirostris*, *C. perspicillata*, and *S. lilium* (Table 3).

Erythrocyte Analysis

No erythrocyte parameters (hemotocrit, hemoglobin, HHR, MCHC) were affected by habitat amount, since the model was among the most plausible for all these response variables (Table 2). For hemoglobin, the most likely models considered species differed in their hemoglobin levels, but it was as likely as the no effect model ($\Delta AICc = 0.93$, Table 2). For hemoglobin, HHR and MCHC the model that considers the summed effect of habitat amount at 0.5 km and species was among the best ranked, but again the no effect model was as likely as these ones.

N/L ratio

N/L ratio was the only variable that was affected by habitat amount. Although for all species N/L ratio decreased with an increase in habitat amount, the trend was different between species (Table 2 and 3). *C. perspicillata*, *A. lituratus*, and *A. planirostris* were more strongly, and similarly, affected by forest loss [effect size (95% CI) = -0.041 (-0.051 to -0.032) for *A. lituratus*, -0.042 (-0.056 to -0.029) for *A. planirostris*, and -0.045 (-0.063 to -0.027) for *C. perspicillata*]. The effect of habitat loss on *S. lilium*, in turn, was up to 1.62 times smaller than the other species, on average – effect size (95% CI) = -0.027 (-0.039 to -0.016) (Fig. 2). The increase in N/L ratio with forest loss followed an increase in N and a decrease in L for all species (Appendix F).

Table 2. Result of the model selection through AICc for each response variable. All equally plausible models ($\Delta AICc < 2$) are shown; the most parsimonious are in bold. For each model, the number of parameters (degrees of freedom, df), the AICc value, the difference between the model's AICc and the most plausible one ($\Delta AICc$), and the AICc weights are shown. Here, the habitat amount (%) effect refers to the 2km landscape extent. '+' corresponds to the summed effect of the variables (difference in intercepts between species) and '*' correspond to the interaction effect between the variables (difference in intercepts and slopes between species).

<i>Response variable</i>	<i>Model</i>	<i>Df</i>	<i>ΔAICc</i>	<i>AIC weight</i>
Mi	Species	5	0.00	0.459
	Habitat amount + Species	6	2.08	0.162
Hematocrit	No effect	2	0.00	0.368
	Habitat amount	3	1.89	0.143
Hemoglobin	Species	5	0.00	0.223
	No effect	2	0.93	0.140

	Habitat amount + Species	6	1.85	0.088
HHR	No effect	2	0.00	0.641
	Habitat amount + Species	3	1.45	0.310
MCHC	No effect	2	0.00	0.574
	Habitat amount + Species	3	1.81	0.232
N/L ratio	Habitat amount * Species	9	0.00	0.705

Table 3. Maximum likelihood estimates and 95% confidence interval (2.5 and 97.5% percentiles) for all parameters for the most plausible and parsimonious model, for each response physiological variable for which the no effect model was not selected, considering habitat amount calculated in landscapes of 2km radius. Models that include the continuous variable (habitat amount) present slopes and intercepts. For models that include only species, the intercept parameters correspond to mean (expected) values of the response variable for each species.

Physiologic variable	Model	Parameter	Maximum likelihood estimate (95% IC)
Body condition	Species	Mean (<i>A. lituratus</i>)	37.75 (36.9 to 38.61)
		Mean (<i>A. planirostris</i>)	36.71 (35.92 to 37.49)
		Mean (<i>C. perspicillata</i>)	28.2 (27.05 to 29.36)
		Mean (<i>S. lilium</i>)	35.38 (34.71 to 36.06)
N/L ratio	Habitat amount	Intercept (<i>A. lituratus</i>)	1.77 (1.36 to 2.17)
		Intercept (<i>A. planirostris</i>)	1.87 (1.43 to 2.41)
		Intercept (<i>C. perspicillata</i>)	1.69 (1.10 to 2.28)
		Intercept (<i>S. lilium</i>)	1.04 (0.71 to 1.37)
		Slope (<i>A. lituratus</i>)	-0.041 (-0.051 to -0.032)
		Slope (<i>A. planirostris</i>)	-0.042 (-0.056 to -0.029)
		Slope (<i>C. perspicillata</i>)	-0.045 (-0.063 to -0.027)
		Slope (<i>S. lilium</i>)	-0.027 (-0.039 to -0.016)

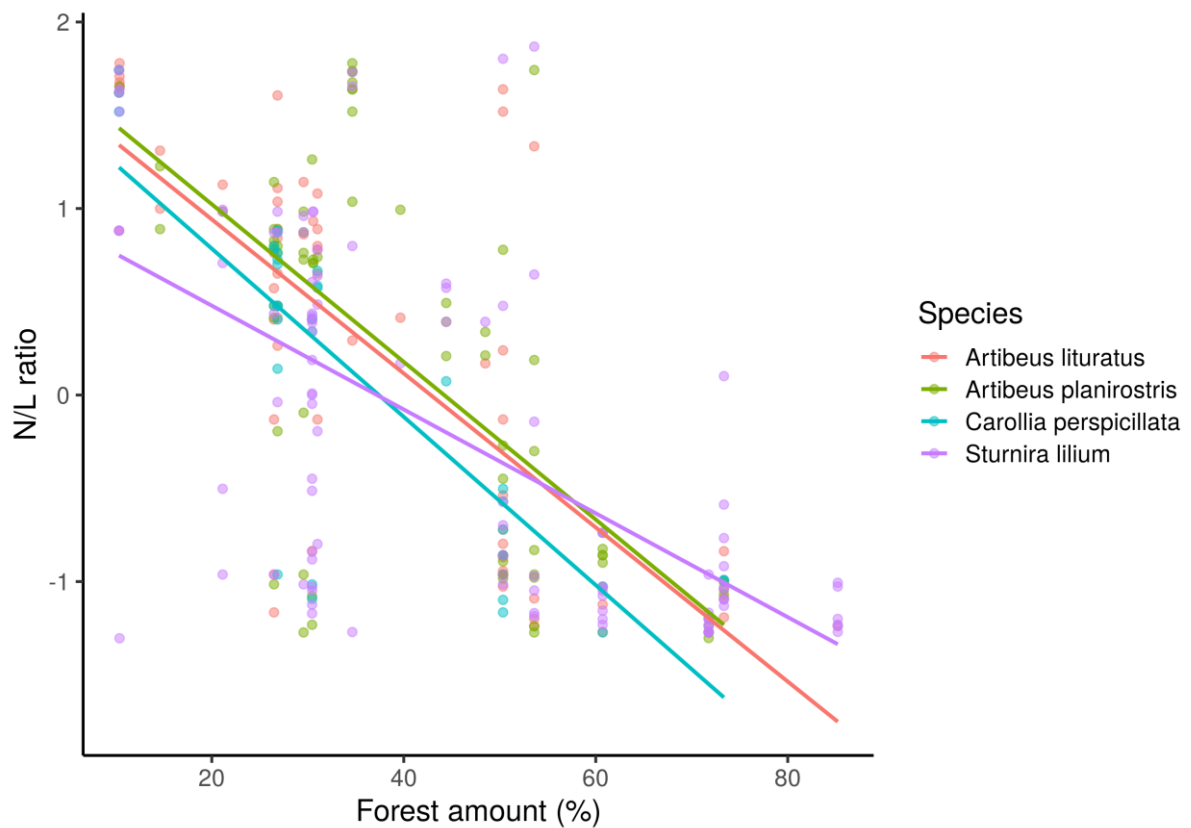


Fig 2. Variation in the N/L ratio as a function of forest amount for the 4 species of fruit-eating bat

Discussion

In this study we aimed to evaluate the impact of habitat loss on the health status and stress level of four species of Neotropical fruit-eating bats, considered resilient to anthropogenic disturbances (Cosson et al., 1999; Meyer and Kalko, 2008). Except for the data on N/L ratio, the results of the other physiological indices do not support our initial predictions that a reduction in the habitat amount in the landscape would be associated with a decrease in body condition and health status. As discussed below, even the increase in N/L ratio as habitat amount decreases cannot fully support the idea that these bats are more stressed when using patches with a reduced amount of forest.

Body condition and health status

It is assumed that species or populations with a better body condition were those whose individuals are able to meet their nutritional and energetic requirements without the use of stored fat and protein reserves (Peig and Green, 2009, 2010). Given that landscapes with less

habitat tend to have a low food availability (Bennett and Saunders, 2011; Mulla, 2018), it is conceivable to expect that individuals in these areas would have a lower body condition. However, results of several studies with small mammals and birds that tested this idea provided controversial results. Also, it seems that a complex interaction between factors such as sex, reproductive condition and certain landscape characteristics (such as edges amount, patch size and habitat amount) likely affect the outcome of the results (non-flying mammals - Johnstone et al., 2011, 2012a, 2014. birds - Habel et al., 2014; Lens et al., 2002; Mazerolle and Hobson 2002; Suorsa et al., 2003, 2004). In bats, Selmann et al. (2017) found that habitat disturbance caused species-specific effects in body condition in a guild of Palearctic insectivorous species. This idiosyncratic response mostly depended on roost type-specificity, being more acute for foliage-roosting than for cave-roosting species, irrespective of the effects of level of habitat disturbance, . We also found that body condition of fruit-eating bats vary between species, but roost-specificity was not a confounding factor in our study, as our focal species uses the same type of roost (Lopez and Vaughan, 2007). More important, however, we did not find a deterioration in body condition of individuals in patches surrounded by a lower amount of forest, for any of these species.

The use of erythrocyte measurements (Hct and Hb) and its derivative metrics (HHR and MCHC), has also been used as a proxy to infer the effects of reduced food availability associated with fragmentation and habitat loss on health status and body condition in small birds and mammals. Like the outcomes of the studies that used morphological-based metrics to assess the same relationship, results of such studies are controversial and, to some extent, affected by the same factors outlined above (see references above; see also Fair et al., 2007; Minias et al., 2005 and Johnstone et al., 2015). In bats, Henry et al. (2007) compared Hct levels of two closed-related Neotropical frugivore species (*Artibeus jamaicensis* and *Artibeus obscurus*) to test this idea. These authors found Hct of *A. obscurus*, especially females, to be higher in fragmented areas and suggested that this species was probably facing nutritional stress in this area. We did not find that Hct, or any other erythrocyte metrics (Hb, HHR and MCHC) were affected by habitat amount among the four species of fruit-eating bats we studied.

Why habitat loss seems not to affect the condition and health status of these species of fruit-eating bats? It is worth noting that most results discussed above, including those with bats, came from studies that (i) used habitat patches as units of analysis, and patch-level measurements such as patch size as fragmentation variables; (ii) used continuous vs. fragmented designs, comparing individuals from small and large patches; or (iii) did not specify

the fragmentation measurement strictly (e.g. Seltman et al. 2017). This means that most studies either called habitat amount as ‘fragmentation’ variables (e.g. patch size) or measured fragmentation variables that confound the effects of habitat amount and habitat fragmentation per se, if they were measured at the landscape level, as in the present study. Although it is difficult to separate the relative influence of each specific effect, there is a consensus that the effects of habitat loss are generally more deleterious than the effects of fragmentation (Fahrig, 2003, 2017), a pattern that seems to hold for bats (e.g. Muylaert et al., 2016). However, the metrics used to assess these effects were based on species-distribution and/or relative abundance data, and they might not give the same conclusions as those derived from physiological data (Ellis et al., 2012). For example, Henry et al. (2007) found that abundance data did not correlate with physiological data for two species of Neotropical fruit-eating bats: the most abundant species in fragmented areas (*Artibeus obscurus*) was the one suffering from nutritional stress, as analyzed by Hct level. Johnstone et al. (2014) found that the body condition and health status of small non-flying mammals (marsupial and rodents) to be more affected by habitat amount, although their relative abundance was also affected by factors associated with landscape configuration.

A tentative explanation for the capacity of fruit-eating bats to maintain body condition and health status irrespective of the amount of forest in the landscape can be elaborated if we consider these traits as being related to an intertwined suite of functional response of these bats to disturbance. Habitat loss can be seen as a selective filter, and several studies with bats showed that frugivores, with relative small body mass and whose wings present high aspect ratio and relative high load, would be those more resilient to habitat loss and fragmentation (Marinello and Bernard, 2014; Meyer, 2014). Although overall productivity decrease in landscapes with less habitat, the relative abundance of some species of fruits, especially pioneering ones such as *Vismia*, *Cecropia* and *Piper*, tends to increase (Castro-Luna and Galindo-González, 2012; Santo-Silva et al., 2012). Frugivore bats would then be favored, especially if they have a broad diet or show strong preferences for these types of fruits. Finally, wings with a high aspect ratio and relative high load assure a more flexible and less costly flight (Findley et al., 1972; Norberg and Rayner, 1987), which would be advantageous in the altered landscape. Muylaert et al. (2016) found that the relative abundance of our four focal species decreased with habitat amount, but was less affected by when compared to the responses of bats with different functional traits. Taken together, these results suggest that the functional traits that render these species less sensitive to forest loss may apply not only for abundance but also individual

physiology: to some extent, the physiological correlates of the ecological traits might explain why a decrease in habitat amount did not affect body condition and health status in our focal species. For example, frugivore bats, especially those that feed on pioneering fruits, tend to have lower basal metabolic rates (Batista et al., 2017) and, due to their wing morphology, are able to minimize the energetic costs associated with movement, which further reduces their energy expenditure (Marinello and Bernard, 2014). Also, the flexibility associated with this particular wing morphology facilitates movement between patches, which probably increases their foraging efficiency. Coupled with the use of pioneering fruits, which are abundant in fragmented landscapes, such traits allow these species to meet their energetic and nutritional requirements and, hence, maintain their body condition and health status.

Our hypothesis implies that the physiological condition of these fruit-eating bats, at least those related to their capacity to maintain body condition and health, can change in response to fragmentation to some optimum level that would be beneficial also to mitigate the effects of habitat loss. However, to test this hypothesis, we need comparative data for body condition and erythrocyte profiles for these species in studies with a landscape approach, that consider landscapes as units of analysis and that disentangle the effects of habitat amount and habitat fragmentation per se. Also, we implicitly assumed that the physiological responses are closely related to fitness, via their effect on reproductive output, an assumption also made by other studies that used ecological traits to assess the response and vulnerability to fragmentation and habitat loss (Johnstone et al., 2012a). Such assumption needs to be tested. Embodied in this assumption is the idea that a link exists between ecological and physiological traits, and that such link shapes the response and vulnerability of animals to disturbances. Although this link has been tested for responses associated with other man-made disturbances such as climate change (Bourbonnais et al., 2014; Cooke et al., 2013; Ewers and Didham, 2006; Pilosof et al., 2012), they need to be tested for the effects of habitat loss and fragmentation.

A final remark on the scale of effect should be done. We detected similar (absence of) effects of habitat amount for landscape extents from 0.5 to 2 km radius, the same extents in which these species' abundances were shown to be affected (Muylaert et al. 2016). However, these bat species present high mobility (Trevelin et al., 2013) and may use areas farther from 2 km in their daily activities, so there may be an effect of habitat amount at larger landscape extents. At the same time, habitat amount may affect species in multiple ways and scales, through different mechanisms. Jaguars (*Panthera onca*), for instance, have home range areas between ~35 and ~1,200 km² (Morato et al., 2016), but forest cover has a very small (but still

positive) effect on their resource selection behavior at the home range scale. At the foraging scale (i.e., considering individual fine-scale displacements), on the opposite, the effect of forest cover on resource selection is much stronger (Morato et al., 2018). In another study (Lyra-Jorge et al., 2010) conducted in the same region of our research (the Northeast of São Paulo State, Brazil), researchers analyzed the multi-scale effects of landscape parameters (habitat amount and edge density) on richness and frequency of three large and highly mobile species, *Puma concolor*, *Chrysocyon brachyurus* and *Leopardus pardalis*, which have the potential to cross up to 80-100 km per night. However, even being able to travel such large distances, landscape effects were detected in scales that varied between 250 m and 2 km. Therefore, the effects of habitat amount measured on wider and multiple scales on body condition and health level of the bat species studied here remain to be tested.

Stress Level

Our results showed a significant and negative association between the N/L ratio and habitat amount for all species; bats collected in areas with a lower habitat amount had significantly higher N/L ratios. An increase in N/L ratio was also found between populations of antechinus living in fragmented as compared to continuous areas (Johnstone et al., 2012). In birds, results were inconsistent (Hinam and Clair, 2008; Mazerolle and Hobson 2002; Suorsa et al., 2004;). In bats, Seltsmann et al. (2017) found N/L ratio to be higher in populations living in fragmented areas as compared to those living in restored or continuous areas. It is assumed that an increase in N/L ratios is associated with the activation of the HPA axis by glucocorticoids hormones, which causes lymphopenia and neutrophilia (Breuner et al., 2013; Davis et al., 2008; Johnstone et al., 2015). Even though the relationship between N/L ratio and levels of circulating glucocorticoids has not been validated for bats, our results showed that this change in fruit-eating bats was caused by a concomitant decrease in lymphocytes and increase in neutrophils as habitat amount decrease (see Appendix F). Thus, we suggested that an increase in N/L ratio as habitat amount decreases in fruit-eating bats is probably caused, at least partially, by an increase in the level of circulation glucocorticoids.

Although we found that stress level increased as habitat amount decreased, we found no evidence that such increase had a suppressive effect of physiological condition of fruit eating-bats. For example, we found no correlation between N/L ratio and any of the metrics associated with health status of body conditions for any of the bats, which did not vary with habitat amount. As hitherto discussed, these bats can explore the landscape efficiently so that their nutritional

and energetic requirements can be fully achieved. In this regard, it might be that the increase in glucocorticoid levels is a predictive, short-term, response that probably prepared these bats to efficiently cope with the stressors associated with habitat (Boonstra 2013; McEwen and Wingfield, 2010; Sapolsky, Robert, Romero, 2010;). This hypothesis seems also be corroborated by our findings that MCHC, a metric that might be indicative of chronic, suppressive, stress (Breuner et al., 2013; Johnstone et al., 2012a) did not vary in response to a decrease in habitat amount for any of the fruit-eating bats we studied.

The relative counts of lymphocytes were higher than the average counts of neutrophils in our focal species, a pattern similar to found for other phyllostomid fruit-eating bats (Schneeberger et al., 2013). Even though the rate of change of neutrophils and lymphocytes are similar with respect to changes in habitat amount within each species, the relative contribution of each cell to the change in N/L ratio is quite different (Appendix F). In fact, we found that, neutrophils, despite being less abundant, increased, on average, by between 7-9 times from areas with high (> 73%) to low habitat amount (< 20%). Lymphocytes, albeit being more abundant, decreased, on average, between 2 to 3 times from areas with high (> 73%) to low habitat amount (< 20%). Given our considerations above, and given that neutrophils constitute the first line of immune defense against invading pathogens (Withers et al., 2016), it might be that the high rate of hormones-induced neutrophilia is a beneficial response that would increase the ability of these bats to cope with an increase in injuries and pathogens associated with a decrease in habitat loss, because in environments with lower habitat amount pathogen-transmission lesions tend to occur more often because populations are more concentrated in the same patches. However, this hypothesis warrants a more direct analysis of the immune system of these bats to be confirmed.

Concluding Remarks

Overall, we found that habitat loss apparently did not jeopardize the physiological condition (body condition and health status) of fruit-eating bats and that stress level apparently is not high enough to have any deleterious effect. In fact, we suggested that the increase in glucocorticoids, indirectly assessed by the N/L ratio, is a predictive, beneficial response, that allow these bats to cope efficiently with the stressors associated with habitat loss. We suggested that this fact is probably associated with life-history traits that render these bats more resilient to habitat discontinuation and thus, minimize the further effects of degradation in the habitat, such as reduction in the habitat amount. The four species we used to test our study hypotheses,

due to their functional traits, are considered resilient to anthropogenic disturbances (Cosson et al., 1999; Meyer and Kalko, 2008). Further studies are needed with species whose traits make them less resilient.

Acknowledgements

PHM was financed by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES). APCN is a member of the INCT-EECBio and would like to thanks Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo for financial support (FAPESP grant # 2014/16320-7). M.C.R. thanks to CNPq (Brazilian Government Research Council) for research grants (312045/2013-1 and 312292/2016-3), to FAPESP (process 2013/50421-2) and CAPES (Procad project # 88881.068425/2014-0) for their financial supports. We would like to thank the owners for allowing us the access to the private areas.

PHM designed the study, collected field and laboratory data, carried out the statistical analysis, and wrote the paper PKR designed the study, collected field data, carried out the statistical analysis, and wrote the paper. BBN carried out the statistical analysis and wrote the paper. RS collected field data. MCR designed the study. APCN conceived and designed the study, carried out the statistical analysis, wrote the paper and provided financial support. All authors gave final approval for publication.

References

- Allen, L. C., Turmelle, A. S., Mendonca, M. T., Navara, K. J., Kunz, T. H., McCracken, G. F., 2009. Roosting ecology and variation in adaptive and innate immune system function in the Brazilian free-tailed bat (*Tadarida brasiliensis*). *Journal of Comparative Physiology B* 179: 315–323.
- Alroy, J., 2017. Effects of habitat disturbance on tropical forest biodiversity. *PNAS*, 1–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1611855114>

- Anthony, E.L.P., 1988. Age determination in bats. In: Kunz, T.H. (Ed.), *Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. 47–58.
- Batista, C.B., Reis, N.R., Rezende, M.I., 2017. Nutritional content of bat-consumed fruits in a forest fragment in Southern Brazil. *Braz. J. Biol.*, 77, 244–250.
- Bartón, Kamil. 2018. MuMIn. R package version 1.42.1. <https://cran.r-project.org/web/packages/MuMIn/MuMIn.pdf>
- Bennett, A.F., Saunders, D.A., 2011. Habitat fragmentation and landscape change. *Conservation biology for all*. <https://doi.org/10.1093/acprof>
- Bennett, D.J., Choimes, A., Collen, B., Day, J., Palma, A. De, Di, S., Edgar, M.J., Feldman, A., Garon, M., Harrison, M.L.K., Alhusseini, T., Echeverria-london, S., Ingram, D.J., Itescu, Y., Kattge, J., Kemp, V., Kirkpatrick, L., Kleyer, M., Laginha, D., Correia, P., Martin, C.D., Meiri, S., Novosolov, M., Pan, Y., Phillips, H.R.P., Purves, D.W., Robinson, A., Simpson, J., Tuck, S.L., Weiher, E., White, H.J., Ewers, R.M., Mace, G.M., 2015. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. <https://doi.org/10.1038/nature14324>
- Bourbonnais, M.L., Nelson, T.A., Cattet, M.R.L., Darimont, C.T., Stenhouse, G.B., Janz, D.M., 2014. Environmental factors and habitat use influence body condition of individuals in a species at risk, the grizzly bear. *Conserv. Physiol.* 2, 1–14. <https://doi.org/10.1093/conphys/cou043>
- Boonstra, R., 2013. Reality as the leading cause of stress: rethinking the impact of chronic stress in nature. *Funct Ecol* 27: 11–23.
- Burnham, K. P., and Anderson, D.R.2002. *Model selection and multimodel inference : a practical information-theoretic*. 2nd ed.
- Breuner, C.W., Delehanty, B., Boonstra, R., 2013. Evaluating stress in natural populations of vertebrates : total CORT is not good enough. *Functional Ecology* 27, 24–36. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12016>
- Calaboni, A., L. R. Tambosi, A. T. Igari, J. S. Farinaci, J. P. Metzger, and M. Uriarte. 2018. The forest transition in São Paulo, Brazil: historical patterns and potential drivers. *Ecology and Society*, 23: 4- 7.
- Castro-Luna, A.A.A., Galindo-gonzález, J., 2012. Seed Dispersal by Phyllostomid Bats in Two Contrasting Vegetation Types in a Mesoamerican Reserve Seed dispersal by phyllostomid bats in two contrasting vegetation types in a Mesoamerican reserve. *Acta*

- Chiropterologica 14, 33–142. <https://doi.org/10.3161/150811012X654349>
- Cook, J., Nuccitelli, D., Green, S.A., Richardson, M., 2013. Quantifying the consensus on anthropogenic global warming in the scientific literature. *Environ. Res. Lett.* 8 <https://doi.org/10.1088/1748-9326/8/2/024024>
- Cooke, S.J., Sack, L., Franklin, C.E., Farrell, A.P., Beardall, J., Wikelski, M., Chown, S.L., 2013. What is conservation physiology? Perspectives on an increasingly integrated and essential science. *Conserv. Physiol.* 1, 1–23. <https://doi.org/10.1093/conphys/cot001>
- Cosson, J. F., Pons, J. M., Masson, D., 2012. Effects of forest fragmentation on frugivorous and nectarivorous bats in French Guiana Effects of forest fragmentation on frugivorous and nectarivorous bats in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology.* 15, 515-534.
- Chown S.L. and K.J. Gaston. 2008. Macrophysiology for a changing world. *Proceedings for the Royal Society of London B* 275: 1469-1478.
- Davis, A.K., Maney, D.L., Maerz, J.C., 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. *Funct. Ecol.* 22, 760–772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>
- Ellis, R.D., McWhorter, T.J., Maron, M., 2012. Integrating landscape ecology and conservation physiology. *Landsc. Ecol.* 27, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10980-011-9671-6>
- Ewers, R.M., Didham, R.K., 2006. Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 81, 117–42. <https://doi.org/10.1017/S1464793105006949>
- Fahrig, L., 2017. Ecological Responses to Habitat Fragmentation Per Se. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 48. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022612>
- Fahrig, L., 2013. Rethinking patch size and isolation effects: The habitat amount hypothesis. *J. Biogeogr.* 40, 1649–1663. <https://doi.org/10.1111/jbi.12130>
- Fahrig, L., 2003. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34, 487–515. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419>
- Fahrig, L., Arroyo-Rodríguez, V., Bennett, J.R., Boucher-Lalonde, V., Cazetta, E., Currie, D.J., Eigenbrod, F., Ford, A.T., Harrison, S.P., Jaeger, J.A.G., Koper, N., Martin, A.E., Martin, J.-L., Metzger, J.P., Morrison, P., Rhodes, J.R., Saunders, D.A., Simberloff, D., Smith, A.C., Tischendorf, L., Vellend, M., Watling, J.I., 2019. Is habitat fragmentation bad for biodiversity? *Biol. Conserv.* 230, 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.12.026>
- Fair, J., Whitaker, S., Pearson, B., 2007. Sources of variation in haematocrit in birds. *Ibis* 149,

535–552.

- Farneda, Z., Rocha, R., Palmeirim, J.M., Bobrowiec, P.E.D., Meyer, C.F.J., 2015. Trait-related responses to habitat fragmentation in Amazonian bats. *Journal of Applied Ecology* 52, 1381–1391. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12490>
- Findley, J.S., Studier, E.H., Wilson, D.E., 1972. Morphologic properties of bat wings. *Journal of Mammalogy* 53, 429–444.
- Fleming, T. H., Heithaus, E. R. 1981. Frugivorous bats, seed shadows, and the structure of tropical forests. *Biotrop. Reprod. Bot.* 13: 45-53
- Fletcher, R.J., Didham, R.K., Banks-Leite, C., Barlow, J., Ewers, R.M., Rosindell, J., Holt, R.D., Gonzalez, A., Pardini, R., Damschen, E.I., Melo, F.P.L., Ries, L., Prevedello, J.A., Tschamtker, T., Laurance, W.F., Lovejoy, T., Haddad, N.M., 2018. Is habitat fragmentation good for biodiversity? *Biol. Conserv.* 226, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.07.022>
- Gorresen, P.M., Willig, M.R., 2004. Landscape Responses of Bats To Habitat Fragmentation in Atlantic Forest of Paraguay. *J. Mammal.* 85, 688–697. <https://doi.org/10.1644/BWG-125>
- Habel, J. C., Mulwa, R. K., Gassert, F., Roedder, D., Ulrich, W., Borghesio, L., Husemann, M., Lens, L. 2014. Population signatures of large-scale, long-term disjunction and small-scale, short-term habitat fragmentation in an Afrotropical forest bird. *Heredity* 113: 205–214.
- Henle, K., Davies, K.F., Kleyer, M., Margules, C. & Settele, J. 2004. Predictors of species sensitivity to fragmentation. *Biodiversity and Conservation* 13: 207–251.
- Henry, M., Cosson, J.F., Pons, J.M., 2007. Abundance may be a misleading indicator of fragmentation-sensitivity: The case of fig-eating bats. *Biol. Conserv.* 139, 462–467. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.06.024>
- Hinam, H. L., St. Clair, C.C., 2008. High levels of habitat loss and fragmentation limit reproductive success by reducing home range size and provisioning rates of Northern sawwhet owls. *Biol Conserv* 141:524–535
- Jones, G., Jacobs, D.S., Kunz, T.H., Willig, M.R., Racey, P.A., 2009. Carpe noctem: The importance of bats as bioindicators. *Endanger. Species Res.* 8, 93–115. <https://doi.org/10.3354/esr00182>
- Johnstone, C.P., Lill, A., Reina, R.D., 2015. Use of erythrocyte indicators of health and condition in vertebrate ecophysiology: A review and appraisal. *Biol. Rev.*

<https://doi.org/10.1111/brv.12219>

- Johnstone, C.P., Lill, A., Reina, R.D., 2014. Habitat loss , fragmentation and degradation effects on small mammals : Analysis with conditional inference tree statistical modelling. *Biol. Conserv.* 176, 80–98. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.04.025>
- Johnstone, C.P., Lill, A., Reina, R.D., 2012a. Does habitat fragmentation cause stress in the agile antechinus ? A haematological approach. *J Comp Physiol B*, 182. 139–155. <https://doi.org/10.1007/s00360-011-0598-7>
- Johnstone, C.P., Reina, R.D., Lill, A., 2012b. Interpreting indices of physiological stress in free-living vertebrates. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 182, 861–879. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0656-9>
- Johnstone, C.P., Lill, A., Reina, R.D., 2011. Response of the Agile Antechinus to Habitat Edge , Configuration and Condition in Fragmented Forest. *PLoS ONE*. 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027158>
- Johnstone, C.P., Reina, R.D., Lill, A., 2010. Impact of anthropogenic habitat fragmentation on population health in a small , carnivorous marsupial. *Journal of Mammalogy*, 91, 1332–1341. <https://doi.org/10.1644/10-MAMM-A-034.1>
- Keinath, D.A., Daniel F. Doak, Karen E. Hodges, Laura R. Prugh, William Fagan, Cagan H. Sekercioglu, Stuart H. M. Buchart and Matthew Kauffman. 2017. A global analysis of traits predicting species sensitivity to habitat fragmentation. *Global Ecology and Biogeography* 26: 115-127
- Lens, L., Van Dongen, S., Matthysen, E. 2002. Fluctuating asymmetry as an early warning system in the critically endangered taita thrush. *Conserv Biol* 16: 479–487.
- Lill, A., Rajchl, K., Yachou-wos, L., Johnstone, C.P., 2013. Are haematocrit and haemoglobin concentration reliable body condition indicators in nestlings: the Welcome Swallow as a case study 6. <https://doi.org/10.3184/175815513X13578996906605>
- Lopez, J.E., Vaughan, C., 2007. Food niche overlap among neotropical frugivorous bats in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 55, 301–313.
- Lyra-Jorge, M.C., Ribeiro, M.C., Pivello, V.R., 2010. Influence of multi-scale landscape structure on the occurrence of carnivorous mammals in a human-modified savanna , Brazil. *Eur. J. Wildl. Res.* 56, 359–368. <https://doi.org/10.1007/s10344-009-0324-x>
- Madliger, C.L., Love, O.P., Hultine, K.R., Cooke, S.J., 2018. The conservation physiology toolbox : status and opportunities. *Conservation Physiology* 6, 1–16. <https://doi.org/10.1093/conphys/coy029>

- Marinello, M.M., Bernard, E., 2014. Wing morphology of Neotropical bats : a quantitative and qualitative analysis with implications for habitat use. *Canadian Journal of Zoology*. 147, 141–147.
- Martínez-Mota, R., Valdespino, C., Sánchez-Ramos, M.A., Serio-Silva, J.C., 2007. Effects of forest fragmentation on the physiological stress response of black howler monkeys. *Anim. Conserv.* 10, 374–379. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2007.00122.x>
- Mayfield, M.M., Bonser, S.P., Morgan, J.W., Aubin, I., McNamara, S. & Vesk, P.A. 2010. What does species richness tell us about functional trait diversity? Predictions and evidence for responses of species and functional trait diversity to land-use change. *Global Ecology and Biogeography* 19: 423–431.
- Mazerolle, D.F. and K. A. Hobson. 2002. Physiological ramifications of habitat selection in territorial male ovenbirds: consequences of landscape fragmentation. *Oecologia* 130: 356-362.
- Metzger, J.P., Martensen, A.C., Dixo, M., Bernacci, L.C., Ribeiro, M.C., Teixeira, A.M.G., Pardini, R., 2009. Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. *Biol. Conserv.* 142, 1166–1177. [doi:10.1016/j.biocon.2009.01.033](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.01.033)
- Meyer, C.F., Struebig, M. J., Willig, M. R., 2016. Responses of tropical bats to habitat fragmentation, logging, and deforestation. In: Voigt CC, Kingston T, eds, *Bats in the Anthropocene: Conservation of Bats in a Changing World*, Ed 1, Springer, Cham, Germany. 63–103.
- Meyer, C.F.J., 2014. Effects of rainforest fragmentation Land-bridge islands as a model system.
- Meyer, C.F.J., Kalko, E.K. V, 2008. Bat assemblages on Neotropical land- bridge islands : nested subsets and null model analyses of species co-occurrence patterns. *Diversity Distrib.* 14, 644–654. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00462.x>
- Minias, P., 2015. The use of haemoglobin concentrations to assess physiological condition in birds: A review. *Conserv. Physiol.* 3, 1–15. <https://doi.org/10.1093/conphys/cov007>.
- Morato, R.G., Connette, G.M., Stabach, J.A., Paula, R.C. De, Ferraz, K.M.P.M., Kantek, D.L.Z., Miyazaki, S.S., Pereira, T.D.C., Silva, L.C., Paviolo, A., Angelo, C. De, Bitetti, M.S. Di, Cruz, P., Lima, F., Cullen, L., Sana, D.A., Ramalho, E.E., Carvalho, M.M., Sartorello, L., Araujo, G.R., Wittemyer, G., Ribeiro, M.C., Leimgruber, P., 2018. Resource selection in an apex predator and variation in response to local landscape

- characteristics. Biol. Conserv. 228, 233–240.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.10.022>
- Morato, R.G., Stabach, J.A., Fleming, C.H., Calabrese, J.M., Paula, C. De, Ferraz, M.P.M., Kantek, D.L.Z., Miyazaki, S.S., Pereira, T.D.C., Araujo, G.R., Paviolo, A., Angelo, C. De, Bitetti, M.S. Di, Cruz, P., Lima, F., Cullen, L., Sana, D.A., Soares, H.S., Zimbres, B., Silva, M.X., Moraes, M.D.F., Vogliotti, A., May, J.A., Haberfeld, M., Rampim, L., Sartorello, L., Ribeiro, M.C., Leimgruber, P., 2016. Space Use and Movement of a Neotropical Top Predator: The Endangered Jaguar. *Plos one*. 11, 1–17.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168176>
- Mouillot, D., Graham, N.A.J., Villegger, S., Mason, N.W.H., Bellwood, D.R. 2013. A functional approach reveals community responses to disturbances. *Trends in Ecology & Evolution*, 28, 167–177.
- Muscarella, R., Fleming, T.H., 2007. The role of frugivorous bats in tropical forest succession. *Biol. Rev.* 82, 573–590. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2007.00026.x>
- Muylaert, R.L., Stevens, R.D., Ribeiro, M.C., 2016. Threshold effect of habitat loss on bat richness in cerrado-forest landscapes. *Ecol. Appl.* 26, 1854–1867.
<https://doi.org/10.1890/15-1757.1>
- Muylaert, R., Stevens, R., Esbérard, E. L. C., Mello, M., Garbino, G., Varzinczak, L., Faria, D., Weber, M., Kerches Rogeri, P., Regolin, A., Oliveira, H., Costa, L., Barros, M., Sabino-Santos Jr, G., Ariane Crepaldi de Moraes, M., Kavagutti, V., Passos, F., Marjakangas, E., Gonçalves Motta Maia, F., Ribeiro, M. C., Galetti, M. 2017. ATLANTIC BATS: a dataset of bat communities from the Atlantic Forests of South America. *Ecology*.
<https://doi.org/10.1002/ecy.2007>
- Mullu, D., 2018. A Review on the Effect of Habitat Fragmentation on Ecosystem. *Journal of Natural Sciences Research*, 6.
- McEwen, B.S. and J.C. Wingfield. 2010. What is in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. *Hormones and Behavior*. 57, 105–111.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. 403, 853–858.
- Norberg, U.M., Rayner, J.M. V, 1987. Ecological Morphology and Flight in Bats (Mammalia ; Chiroptera): Wing Adaptations , Flight Performance , Foraging Strategy and Echolocation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 316, 335–427
<https://doi.org/10.1098/rstb.1987.0030>

- Norte, A. C., Ramos, J. A., Sampaio, H. L., Sousa, J. P., Sheldon, B. C., 2010. Physiological condition and breeding performance of the great tit. *Condor*. 112, 79–86
- Paksuz, S., Paksuz, E.P., Özkan, B., 2009. White Blood Cell (Wbc) Count of Different Bat (Chiroptera) Species. *Trak. Univ J Sci* 10, 55–59.
- Peig, J., Green, A.J., 2010. The paradigm of body condition : a critical reappraisal of current methods based on mass and length. *Functional Ecology*. 1323–1332. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01751.x>
- Peig, J., Green, A.J., 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: The scaled mass index as an alternative method. *Oikos* 118, 1883–1891. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17643.x>
- Peixoto, F.P., Henrique, P., Braga, P., Mendes, P., 2018. A synthesis of ecological and evolutionary determinants of bat diversity across spatial scales. *BMC Ecol.* 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12898-018-0174-z>
- Pilosof, S., Dick, C.W., Korine, C., Patterson, B.D., Krasnov, B.R., 2012. Effects of Anthropogenic disturbance and climate on patterns of bat fly parasitism. *PLoS One* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041487>
- R Development Core Team, 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rapport DJ, Costanza R, McMichael AJ. 1998. Assessing ecosystem health. *Trends in Ecology and Evolution* 13:397–402.
- Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., Martensen, A.C., Ponzoni, F.J., Hirota, M.M., 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biol. Conserv.* 142, 1141–1153. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>
- Reis, N., Peracchi, A., L., Pedro, W. A., Lima, I. P., 2007. (Eds). *Morcegos do Brasil*. Londrina.
- Rocha, R., A. Lopez-Baucells, F.Z. Farneda, M. Groenenberg, P.E.D. Boborwicz, M. Cabeza, J.M. Palmeirim and C.F.J. Meyer. 2017. Consequences of a large-scale fragmentation experiment for Neotropical bats: disentangling the relative importance of local and landscape-scale effects. *Landcape Ecology*; 32, 31–45.
- Romero, L.M., Wikelski, M., 2010. Stress physiology as a predictor of survival in Galapagos marine iguanas. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 277, 3157–3162. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0678>

- Santo-silva, E.E., Almeida, W.R., Melo, F.P.L., Zickel, C.S., Tabarelli, M., 2012. The Nature of Seedling Assemblages in a Fragmented Tropical Landscape : Implications for Forest Regeneration 0, 1–9.
- Sapolsky, Robert; Romero, M.M.A.U., 2000. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses ? Preparative Actions *. *Endocr. Rev.* 21, 55–89. <https://doi.org/10.1210/er.21.1.55>
- Seltmann, A., Czirják, G.Á., Courtiol, A., Bernard, H., Struebig, M.J., Voigt, C.C., 2017. Habitat disturbance results in chronic stress and impaired health status in forest-dwelling paleotropical bats. *Conservation Physiology.* 5, 1–14. <https://doi.org/10.1093/conphys/cox020>
- Suorsa, P., Huhta, E., Nikula, A., Nikinmaa, M., Jäntti, A., Helle, H., Hakkarainen, H., 2003. Forest management is associated with physiological stress in an old-growth forest passerine. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 270, 963–969. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2326>
- Suorsa, P., Helle, H., Koivunen, V., Huhta, E., Nikula, A., Hakkarainen, H., 2004. Effects of forest patch size on physiological stress and immunocompetence in an area-sensitive passerine, the Eurasian treecreeper (*Certhia familiaris*): An experiment. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 271, 435–440. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2620>
- Schneeberger, K., Czirjak, G., Voigt, C.C., 2013. Measures of the Constitutive Immune System Are Linked to Diet and Roosting Habits of Neotropical Bats. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054023>
- Schulte-Hostedde, A. I.; Millar, J. S.; Hickling, G. J. 2001. Evaluating body condition in small mammals. *Journal Zoology, Canadian*, v. 79, p. 1021-1029.
- Trevelin, L.C., Leonan, R., Novaes, M., Franc, P., 2017. Enhancing sampling design in mist-net bat surveys by accounting for sample size optimization. *PlosOne*. 12, 1–16.
- Trevelin, L.C., Silveira, M., Port-carvalho, M., Homem, D.H., Cruz-neto, A.P., 2013. Forest Ecology and Management Use of space by frugivorous bats (Chiroptera : Phyllostomidae) in a restored Atlantic forest fragment in Brazil. *For. Ecol. Manage.* 291, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.11.013>
- Todgham, A.E and J.H. Stillman. 2013. Physiological Responses to Shifts in Multiple Environmental Stressors: Relevance in a Changing World. *Integrative and Comparative Biology* 53, 539-544.

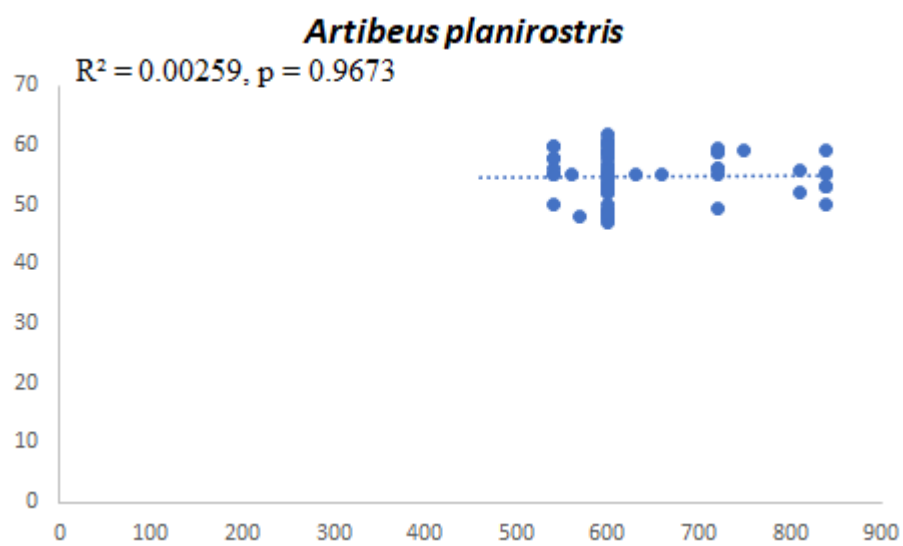
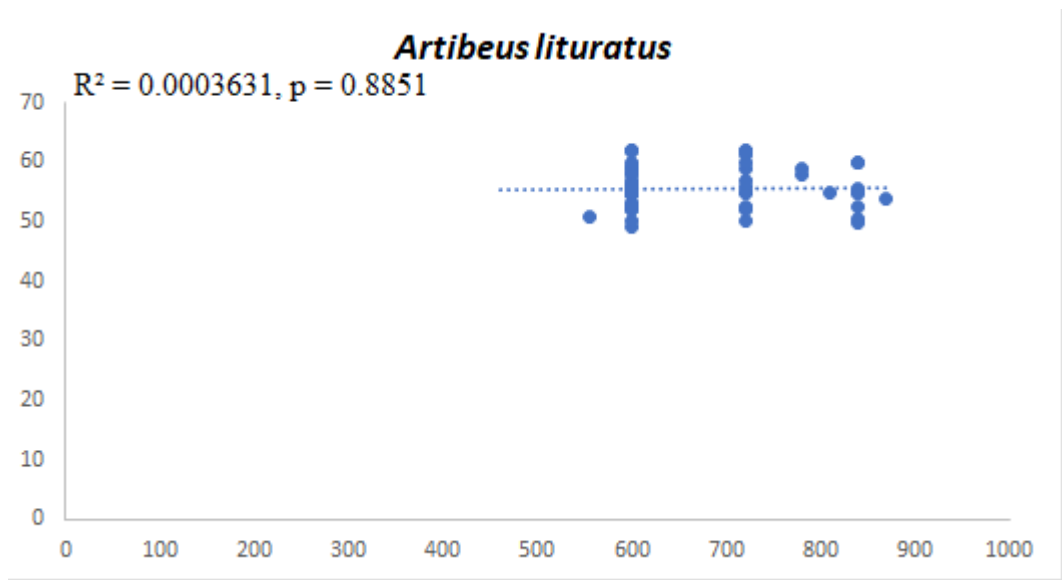
- Violle, C., NavaS, M. L., Vile, D. Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, C., Garnier, E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 5: 882-892. doi: 10.1111 / j.0030-1299.2007.15559.x
- Vetter, D., Miriam, M.. Hansbauer, Z., Végvári., Ilse, S. 2011. Predictors of forest fragmentation sensitivity in Neotropical vertebrates: a quantitative review. *Ecography* 34: 1-8.
- Velazco, P.M., Patterson, B.D., 2013. Diversification of the Yellow-shouldered bats, Genus *Sturnira* (Chiroptera, Phyllostomidae), in the New World tropics. *Mol. Phylogenet. Evol.* 68, 683–698. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.04.016>
- Victor, M. A. M., Cavalli, A. C., Guillaumon, J. R., Filho, R. 2005. Cem Anos de Devastação Revisitada 30 anos depois. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade e Florestas – Brasília: Ministério do Meio Ambiente. 72p.
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco J. Human Domination of Earth's Ecosystems. 2008. *Science, New Series*;277:494–9.
- Voigt, C.C., Cruz-Neto, A., 2009. Energetic Analysis. In book: *Ecological and Behavioral Methods in Study of bats*, Chapter: Energetic analysis. Publisher: Johns Hopkins University Press, Editors: Kunz, T.H., PParsoons, S. pp 621-645
- Withers, P., Cooper, C., Maloney, S., Bozinovic, F., Cruz-Neto, A. 2016. *Ecological and Environmental Physiology of Mammals*. USA : Oxford University Press, 2016. 560 p.

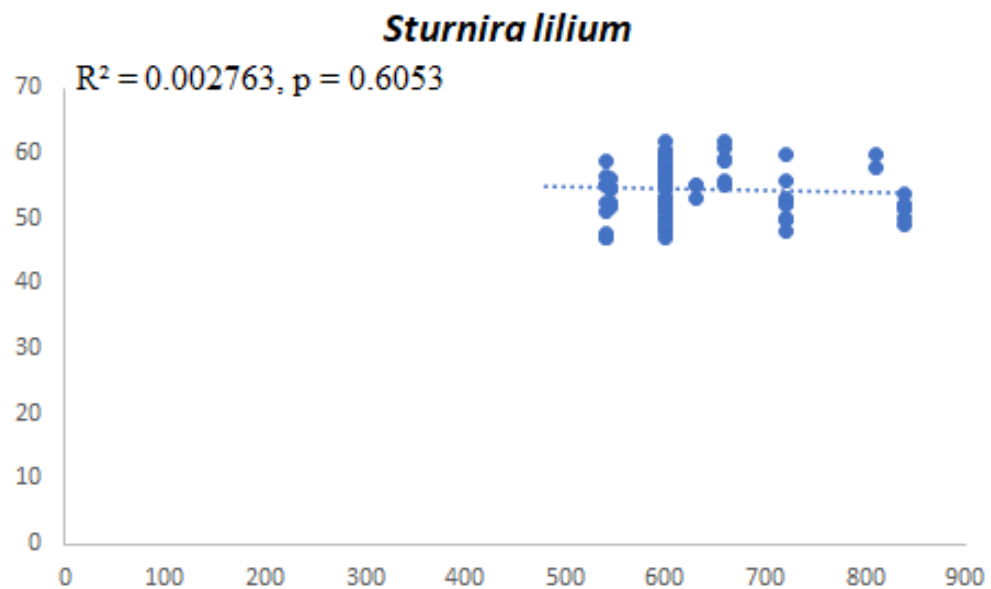
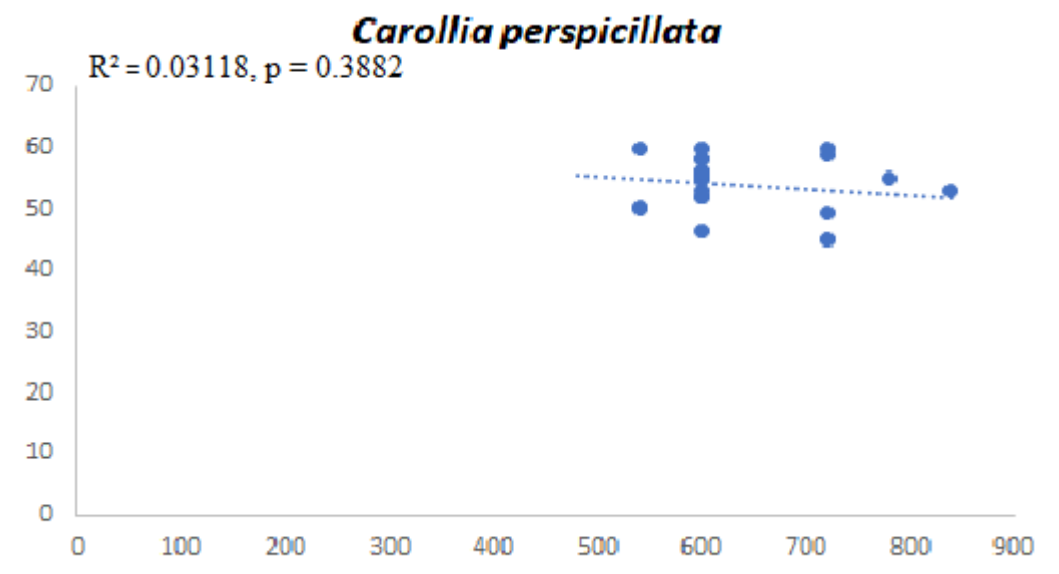
SUPPLEMENTARY MATERIAL

Habitat amount partially affects physiological condition and stress level in Neotropical fruit-eating bats

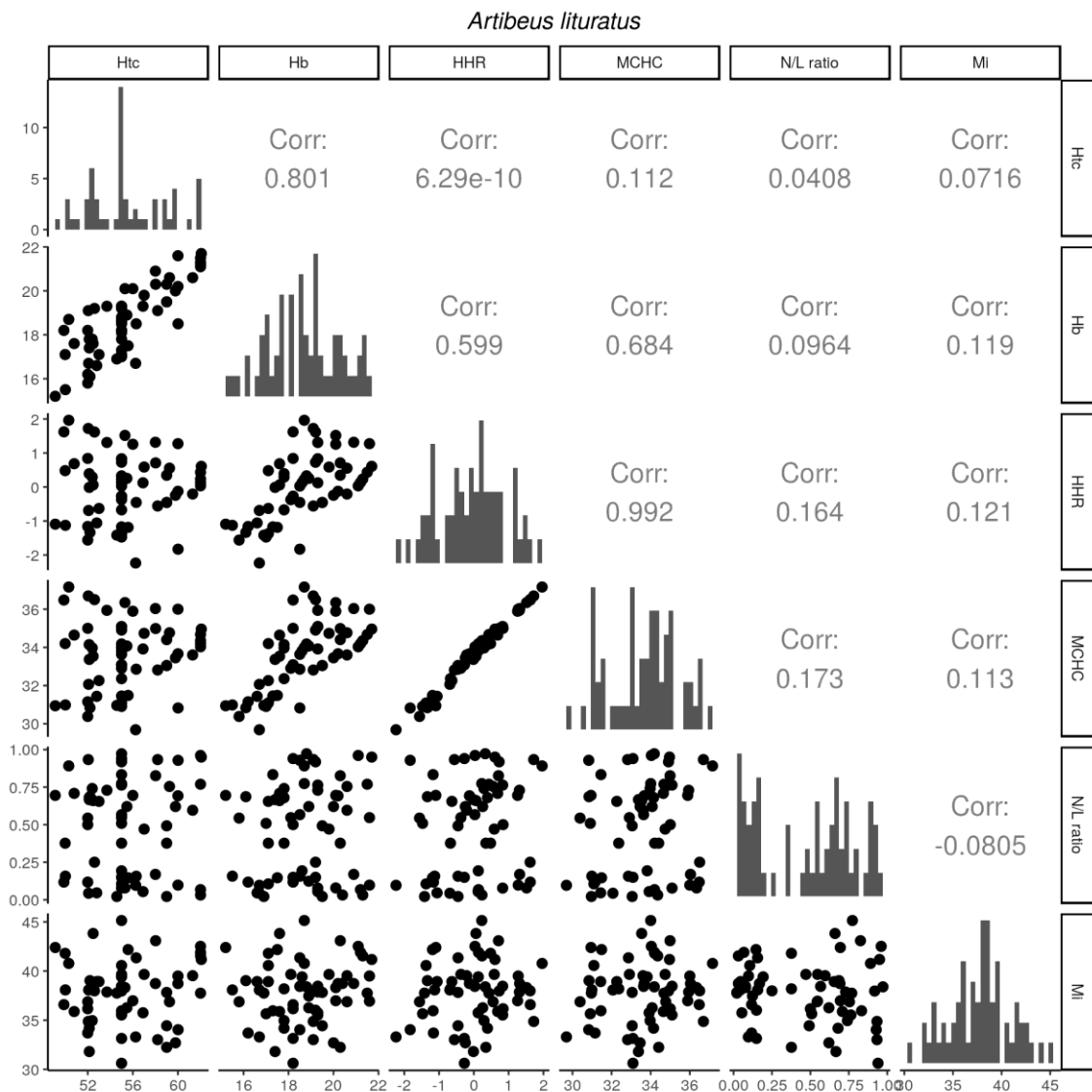
Pedro Henrique Miguel, Patrícia Kerches-Rogeri, Bernardo Brandão Niebuhr, Rafael Souza, Milton Cezar Ribeiro, Ariovaldo Pereira Cruz-Neto

Supplementary material

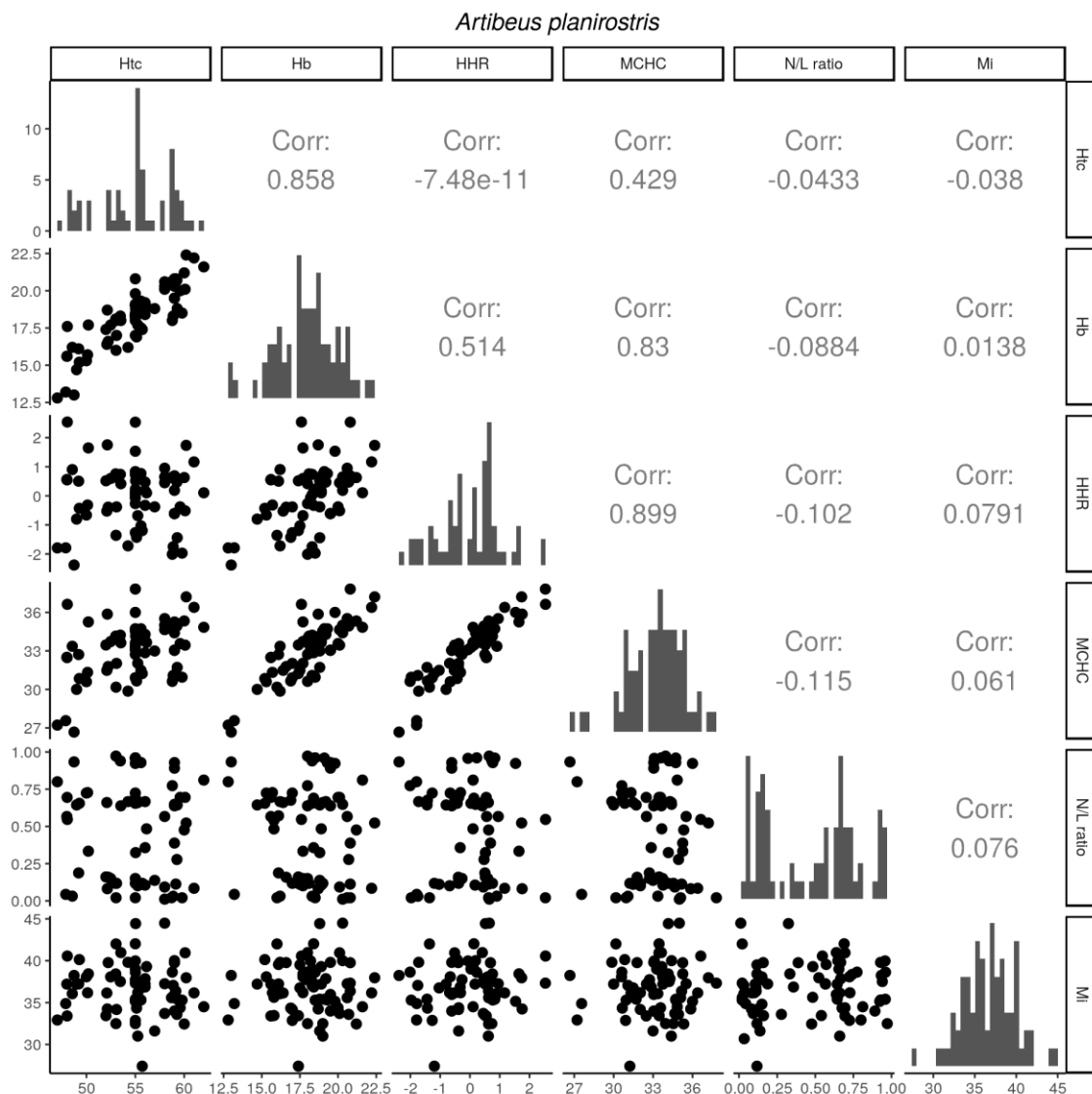




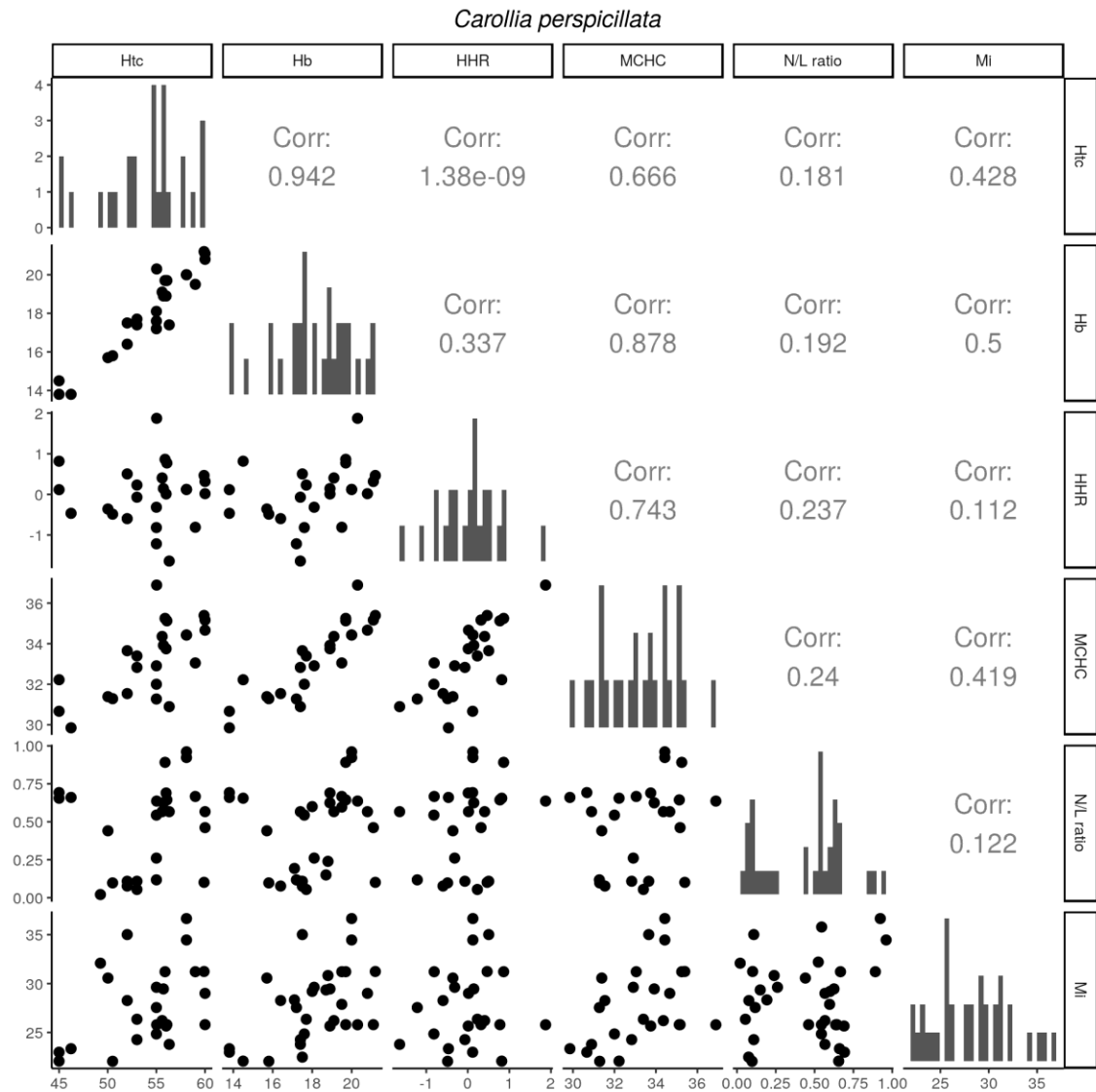
Appendix A. Linear regression with hematocrit (y) and time in minutes (x) values for the four study species. There was variation in Htc values over time for any of the species.



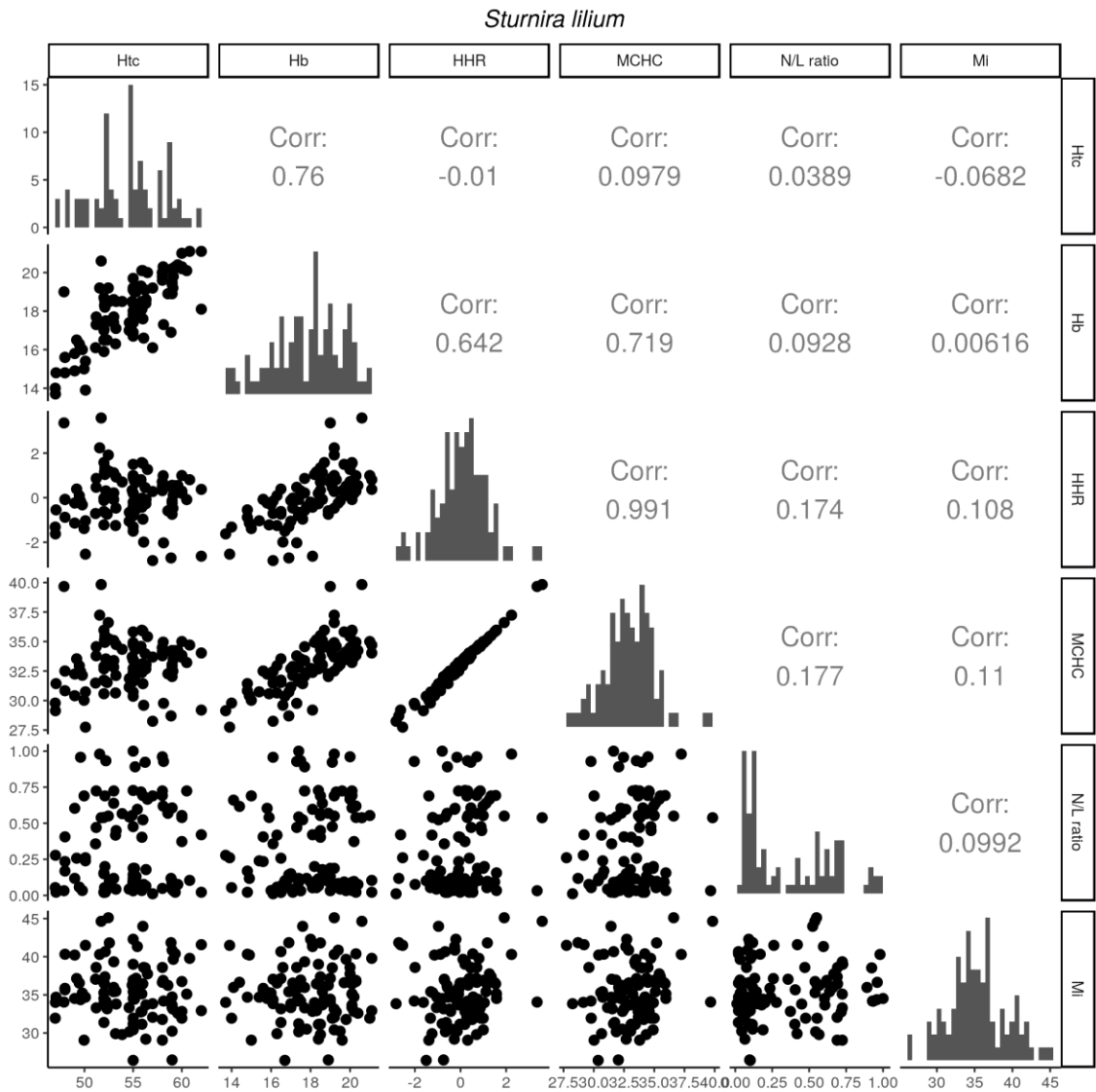
Appendix B1. Relationship between Hematocrit and Hemoglobin concentration hematocrit-hemoglobin residuals (HHR), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), neutrophil/lymphocyte ratio (N/L), and body condition (Mi, in grams), for *Artibeus lituratus*. The figures within the diagonal shows the histogram of each variable. The lower panel shows a scatterplot of each pair of physiologic variables, while the upper panel presents the Pearson correlation coefficient among them.



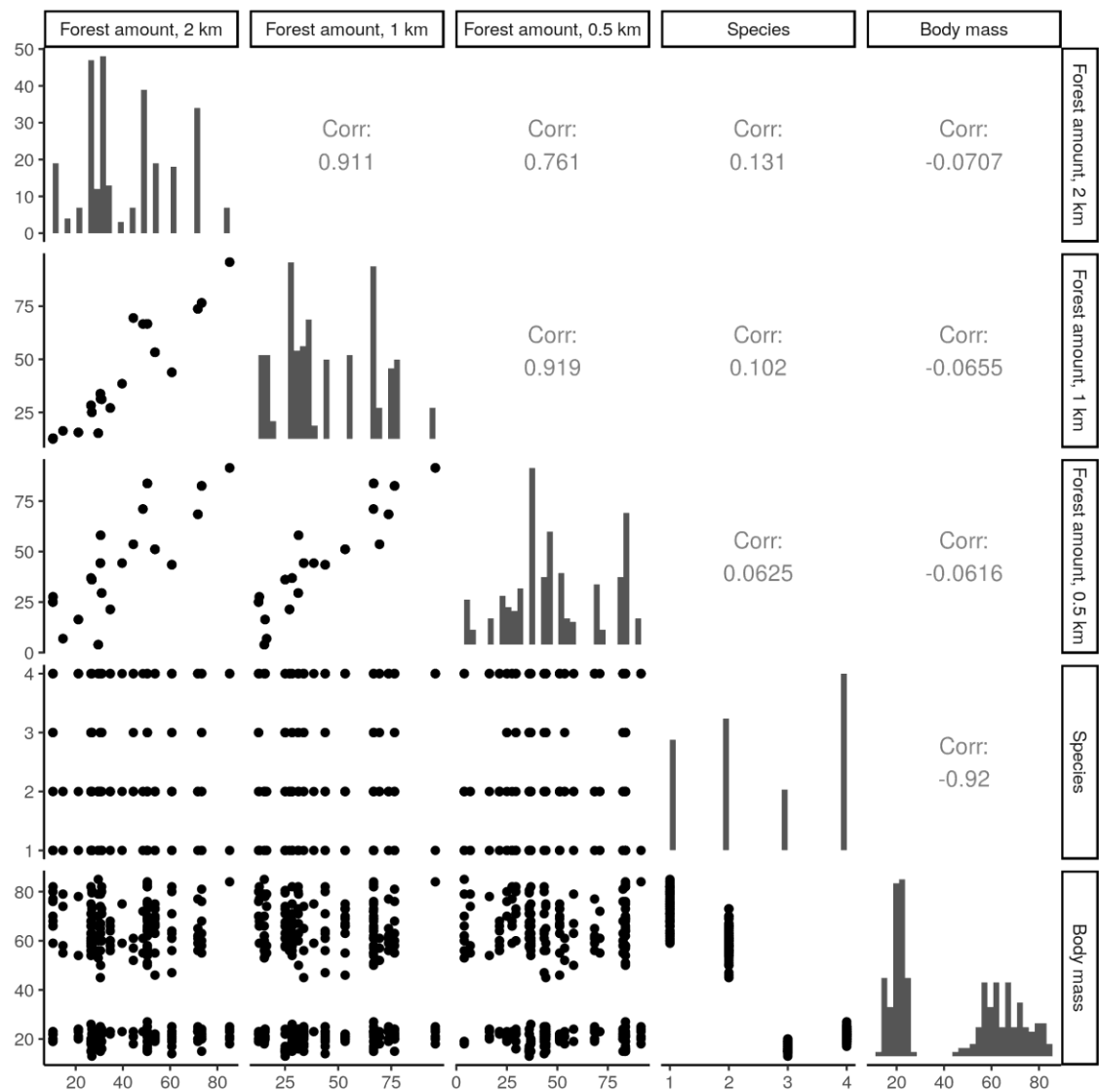
Appendix B2. Relationship between Hematocrit and Hemoglobin concentration, hematocrit-hemoglobin residuals (HHR), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), neutrophil/lymphocyte ratio (N/L), and body condition (Mi, in grams), for *Artibeus planirostris*. The figures within the diagonal shows the histogram of each variable. The lower panel shows a scatterplot of each pair of physiologic variables, while the upper panel presents the Pearson correlation coefficient among them.. Continued.



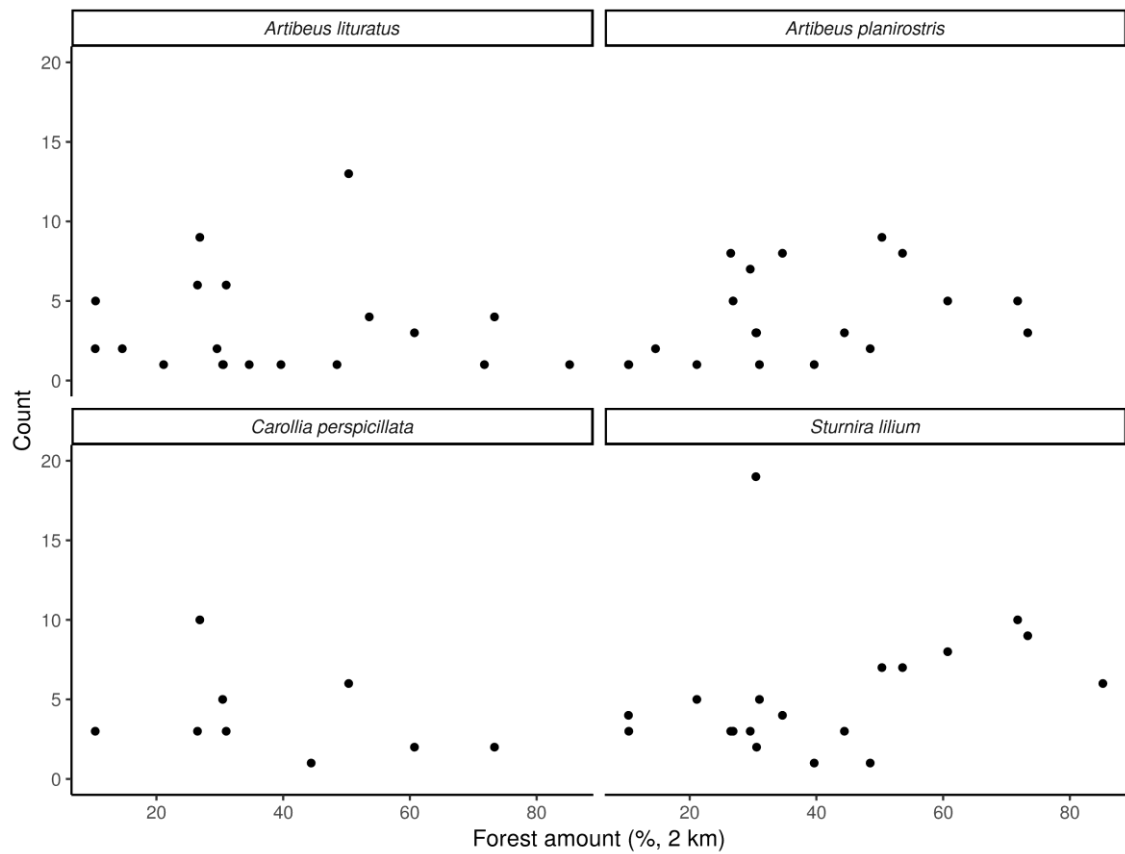
Appendix B3. Relationship between Hematocrit and Hemoglobin concentration, hematocrit-hemoglobin residuals (HHR), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), neutrophil/lymphocyte ratio (N/L), and body condition (Mi, in grams), for *Carollia perspicillata*. The figures within the diagonal shows the histogram of each variable. The lower panel shows a scatterplot of each pair of physiologic variables, while the upper panel presents the Pearson correlation coefficient among them.



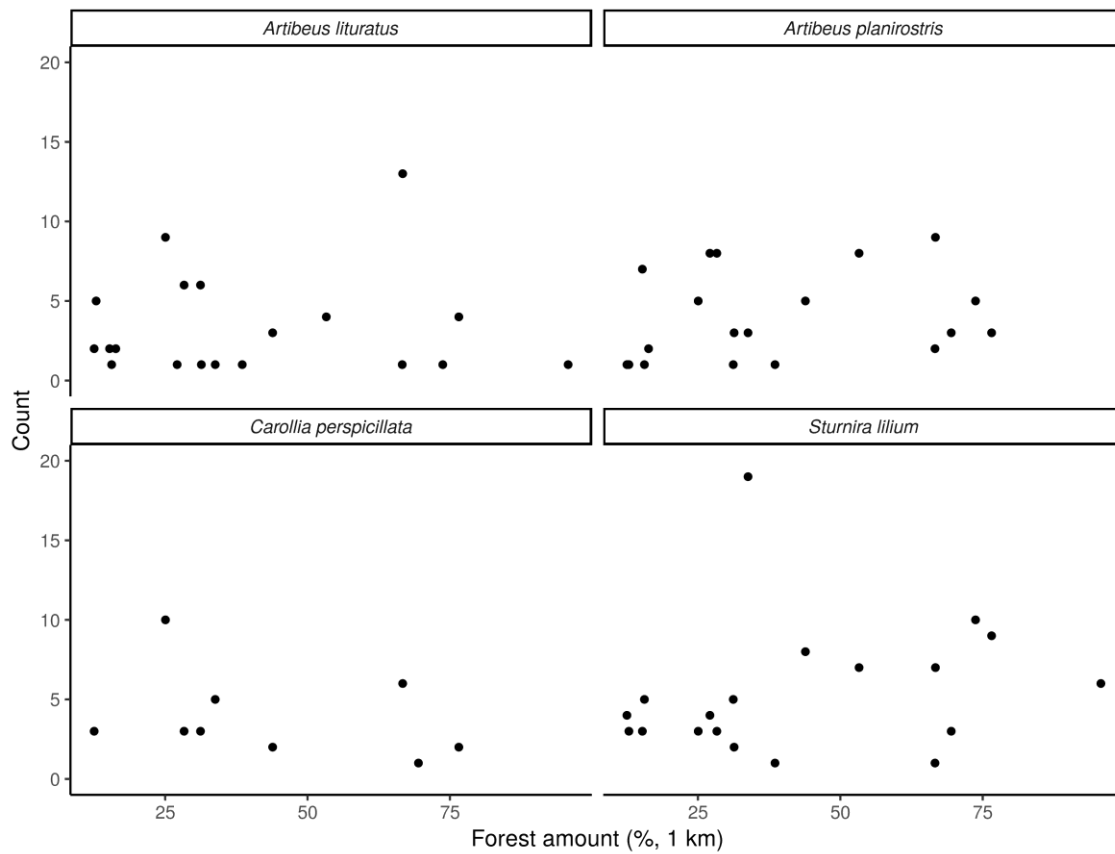
Appendix B4. Relationship between Hematocrit and Hemoglobin concentration, hematocrit-hemoglobin residuals (HHR), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), neutrophil/lymphocyte ratio (N/L), and body condition (Mi, in grams), for *Sturnira lillium*. The figures within the diagonal shows the histogram of each variable. The lower panel shows a scatterplot of each pair of physiologic variables, while the upper panel presents the Pearson correlation coefficient among them.



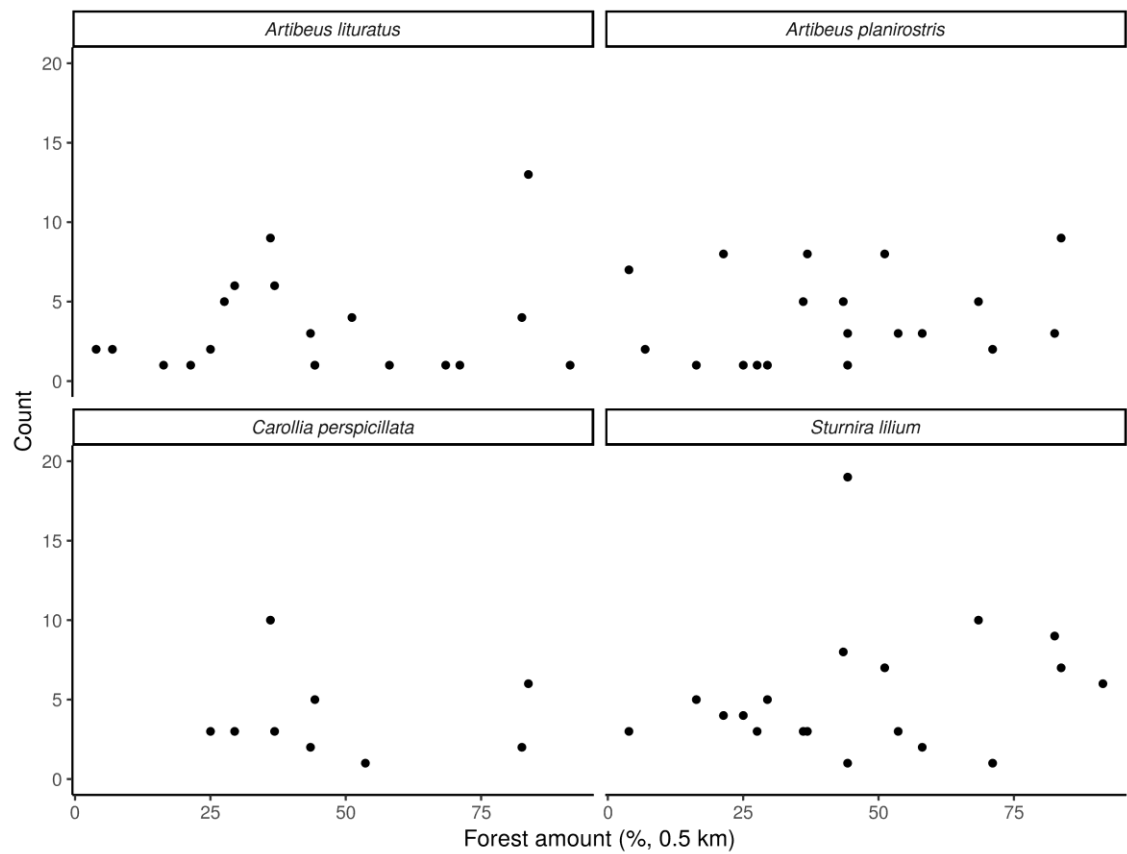
Appendix C. Relationship between explanatory variables used in the physiological variation of the studied bats: Forest amount (in percentage), calculated at landscapes with a radius of 2 km, 1 km, and 0.5 km; species (categories: 1 = *A. lituratus*, 2 = *A. planirostris*, 3 = *C. perspicillata*, 4 = *S. lilium*); and body mass (in grams). The figures within the diagonal shows the histogram of each variable. The lower panel shows a scatterplot of each pair of physiologic variables, while the upper panel presents the Pearson correlation coefficient among them.



Appendix D1. Number of captures versus forest amount, measured at a landscape radius of 2 km, for each species.



Appendix D2. Number of captures versus forest amount, measured at a landscape radius of 1 km, for each species.



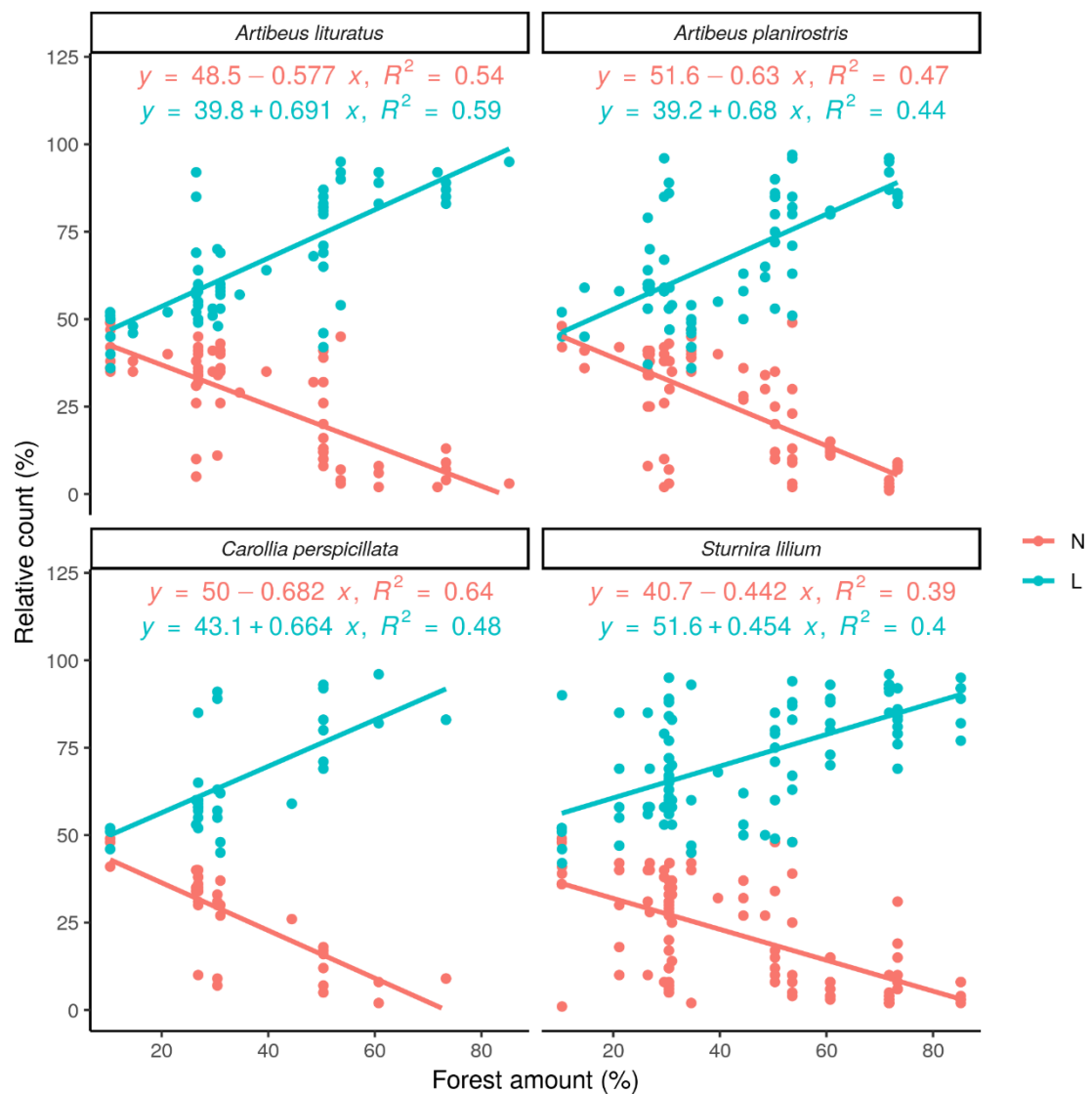
Appendix D3. Number of captures versus forest amount, measured at a landscape radius of 0.5 km, for each species.

Appendix E. Result of the model selection through AICc for each response variable, considering forest cover measured in 2, 1, and 0.5 km radius landscape extents. All equally plausible models ($\Delta\text{AICc} < 2$) are shown, as well as the equivalent models with forest cover measured in other scales. The most parsimonious are in bold. For each model, the number of parameters (degrees of freedom, df), the AICc value, the difference between the model's AICc and the most plausible one (ΔAICc), and the AICc weights are shown. The effect size (regression coefficient) of forest cover in models that include this variable are also shown. %Forest corresponds to forest cover, '+' corresponds to the summed effect of the variables (difference in intercepts between species) and '*' correspond to the interaction effect between the variables (difference in intercepts and slopes between species).

<i>Response variable</i>	<i>Model</i>	<i>Effect size of forest cover</i>	<i>df</i>	<i>AICc</i>	<i>ΔAICc</i>	<i>AIC weight</i>
<i>Mi</i>	Species	NA	5	1485.0	0.00	0.459
	%Forest (0.5km) + Species	-0.0196	6	1486.9	1.91	0.177
	%Forest (2km) + Species	-0.0054	6	1487.0	2.08	0.162
	%Forest (1km) + Species	-0.0008	6	1487.1	2.09	0.161
<i>Hematocrit</i>	No effect	NA	2	1388.0	0.00	0.368
	%Forest (2km)	-0.0254	3	1389.8	1.89	0.143
	%Forest (0.5km)	0.0129	3	1390.0	2.01	0.135
	%Forest (1km)	-0.0103	3	1390.0	2.02	0.134
<i>Hemoglobin</i>	Species	NA	5	1102.2	0.00	0.223
	%Forest (0.5km) + Species	0.0692	6	1103.0	0.78	0.151
	No effect	NA	2	1103.2	0.93	0.140
	%Forest (2km) + Species	0.0302	6	1104.1	1.85	0.088
	%Forest (1km) + Species	0.0278	6	1104.1	1.88	0.087

HHR	%Forest (0.5km) + Species	0.1017	3	733.8	0.00	0.363
	No effect	NA	2	734.4	0.56	0.274
	%Forest (1km) + Species	0.0701	3	735.2	1.37	0.183
	%Forest (2km) + Species	0.0486	3	735.8	2.01	0.133
MCHC	%Forest (0.5km) + Species	0.1035	3	1076.0	0.00	0.337
	No effect	NA	2	1076.7	0.66	0.242
	%Forest (1km) + Species	0.0581	3	1077.9	1.85	0.133
	%Forest (2km) + Species	0.306	3	1078.5	2.47	0.098
N/L ratio	%Forest (2km) * Species	**	9	614.3	0.00	0.705
	%Forest (1km) * Species	**	9	660.3	45.98	<0.001
	%Forest (0.5km) * Species	**	9	693.1	78.80	<0.001

** Effect different for each species. See Table 3 in the main text.



Appendix F. Relative count (percentage, in relation to the total number of erythrocytes) of neutrophils (N) and leukocytes (L) as a function of forest amount (in percentage) in the 2 km buffer around the sampling points. The coefficients of the regression and R^2 are shown in different colors for N and L.

Capítulo 2: Análise do efeito da perda de habitat na saúde e ectoparasitismo de morcegos frugívoros

Título: Análise do efeito da perda de habitat na saúde e ectoparasitismo de morcegos frugívoros

Resumo

Tendo em vista o ritmo acelerado em que os remanescentes florestais estão sofrendo com a perda de habitat, é essencial entender o impacto que o homem tem causado para a vida selvagem. Todos os organismos são fortemente influenciados pela paisagem em que ocorrem, devido a um conjunto de fatores evolutivos, como recursos alimentares, predação e competição. Da mesma forma que os outros organismos, os ectoparasitas são fortemente influenciados pelo meio, muitas vezes podendo ser uma barreira para a ocorrência de indivíduos em diversas localidades, uma vez que, podem afetar de maneira decisiva na condição de vida dos organismos. Os morcegos são um importante grupo de mamíferos, e os serviços ecológicos que eles fornecem como, controle de pragas, dispersão de sementes e restauração de áreas degradadas, são essenciais para a manutenção funcional dos ecossistemas. A condição de saúde fisiológica compete um conjunto de fatores que estão relacionados, incluindo estado nutricional e carga parasitária. O presente estudo teve como objetivo entender como o ectoparasitismo específico dos morcegos varia de acordo com a perda de habitat, e como esse afeta na condição e saúde de morcegos frugívoros (Família Phyllostomidae). Nossas hipóteses foram, que quanto maior a perda de habitat, os valores de intensidade de ectoparasitas seriam maiores e os morcegos do estudo estariam em pior condição de saúde, o que também favoreceria essa maior intensidade ectoparasitária. Nossas previsões não foram apoiadas, e não obtivemos relação entre os parasitas e a perda de habitat, bem como na condição de saúde desses animais. Concluimos que aparentemente perda de habitat não modifica os padrões dos ectoparasitas nos morcegos frugívoros e também não causa danos na condição de saúde dos indivíduos.

Palavras chave: Parasitismo, Mamíferos silvestres, Fisiologia, Condição de saúde,

Introdução

Os morcegos apresentam uma grande diversidade ecológica, morfológica, fisiológica, e comportamental, sendo que a evolução de uma ampla gama de nichos tróficos é tida como central a esta diversificação (BERNARD; FENTON, 2007; GORRESEN; WILLIG, 2004; MELLO et al., 2015). Por estarem presentes em uma grande variedade de nichos ecológicos diferentes, o grupo estabelece diversas inter-relações críticas para a manutenção dos ecossistemas onde ocorrem (BERNARD; FENTON, 2003; JONES et al., 2009). São um importante grupo de mamífero, e os serviços ecológicos que eles fornecem como, controle de pragas, dispersão de sementes e restauração de áreas degradadas, são essenciais para a manutenção funcional dos ecossistemas (COTTONTAIL; WELLINGHAUSEN; KALKO, 2009; HENRY; COSSON; PONS, 2007).

Os morcegos, assim como diversos organismos são influenciados pela paisagem em que ocorrem, devido a um conjunto de fatores evolutivos, como recursos alimentares, predação e competição, diferentes tipos de habitats, microclima e configuração da paisagem (ALROY, 2017; VITOUSEK et al., 2008). Da mesma forma que os outros organismos, os parasitas também são fortemente influenciados pelo ambiente em que ocorrem, muitas vezes podendo ser uma barreira para a ocorrência de indivíduos em diversas localidades, uma vez que, podem afetar de maneira decisiva na condição de vida dos organismos (LEHMANN, 1993; PILOSOF et al., 2012). Com isso, é inegável a importância de investigações de como as mudanças na paisagem tem afetado os indivíduos e sua condição de vida (BENDER et al., 1998; ELLIS; MCWHORTER; MARON, 2012).

A perda de habitat, é vista como uma das principais mudanças na paisagem, que ocorre essencialmente em decorrência da crescente urbanização (BROOKS et al., 2002; FAHRIG, 2003). Essa, é definida como a diminuição das áreas florestais, das quais resultam diferentes configurações remanescentes na paisagem, e é considerada uma das principais ameaças à biodiversidade em todo o mundo (BETTS et al., 2014; FRANKLIN et al., 2002; LINDENMAYER; FISCHER, 2007). Trata-se de um fenômeno generalizado que ocorre em todas as regiões do globo (BENDER et al., 1998; FAHRIG, 2003). A perda de habitat reduz a diversidade local (BENDER et al., 1998; ORTEGA-ÁLVAREZ; MACGREGOR-FORS, 2009), exclui espécies sensíveis e favorece as espécies que estão mais adaptadas a ambientes alterados (BROWN et al., 2001; DAR; RESHI, 2014; ESTAVILLO; PARDINI; DA ROCHA, 2013). Tendo em vista o ritmo acelerado em que os remanescentes florestais estão sofrendo com

a perda de habitat, é essencial entender o impacto que o homem tem causado para a vida selvagem (ALROY, 2017; MULLU, 2018).

Muitas pesquisas realizadas com o intuito de determinar os principais impactos da perda de habitat para as diferentes espécies, concentram-se apenas em analisar as mudanças na distribuição e abundância das suas populações alvo (ANDRÉN, 1994; LOAYZA; LOISELLE, 2008). Entretanto, a perda de habitat também traz importantes mudanças em algumas interações bióticas como o parasitismo (BOLIVAR-CIMÉ et al., 2018; URBIETA; TORRES; ANJOS, 2019). A maioria dos estudos que aborda a questão da perda de habitat e a relação parasitária estão concentrados nos endoparasitas, como Santos e Gibson (1998), que descreveram um novo trematódeo, parasitando a vesícula biliar de morcegos frugívoros e insetívoros, e Nogueira et al. (2004), que descreveu a ocorrência de helmintos gastrintestinais em morcegos frugívoros da Amazônia. Pesquisas realizadas com ectoparasitas muitas vezes sendo negligenciadas (BOLIVAR-CIMÉ et al., 2018; LEHMANN, 1993; GANNON; WILLIG, 1995; PILOSOFF et al., 2012).

No entanto, investigações com ectoparasitismo são de grande relevância, visto que, os ectoparasitas exercem pressões seletivas importantes sobre a evolução dos seus hospedeiros, podendo diminuir a sua aptidão, tendo consequências negativas para a dinâmica da manutenção de populações viáveis (LEHMANN, 1993; PILOSOFF et al., 2012). Os ectoparasitas podem retardar o tempo da reprodução, reduzir a sobrevivência e crescimento dos hospedeiros, além de interferirem em eventos reprodutivos, exercendo, portanto, forte pressão nos traços da história de vida do hospedeiro (BOLIVAR-CIMÉ et al., 2018; MØLLER et al., 1994), dessa forma é importante avaliar índices de ectoparasitas, como prevalência e intensidade média de infestação, como uma forma de acessarmos os impactos que os animais terrestres estão sofrendo com a perda de habitat (LEHMANN, 1993; URBIETA; TORRES; ANJOS, 2019). Dentre os animais terrestres, a relação entre os morcegos e as moscas ectoparasitas são um excelente modelo de coevolução para estudar a perda de habitat (URBIETA; TORRES; ANJOS, 2019).

No Brasil, existem 177 espécies de moscas que são ectoparasitas obrigatórios de morcegos, sendo que a maioria são do gênero *Streblidae* e *Nycteribilidae* (BARBIER, 2017; BARBIER; GRACIOLLI, 2016; GRACIOLLI; AUTINO; CLAPS, 2005). Essas moscas apresentam viviparidade adenotrófica, isso significa que os estágio inicial do seu ciclo de vida é desenvolvido dentro da fêmea, e as larvas são depositadas nos poleiros para entrar em pupa e completarem o desenvolvimento (DITTMAR et al., 2016; MARSHALL, 1982). Os níveis de ectoparasitismo em morcegos podem variar em resposta as espécies de hospedeiros

(PATTERSON; DICK; DITTMAR, 2007), e ao tipo de poleiro utilizado em áreas que sofrem com distúrbios humanos (como a perda de habitat) (PILOSOFF et al., 2012). Além da perda de habitat poder aumentar as taxas de parasitismo, ela também eleva a concentração média de ectoparasitas nas populações de hospedeiro, o que faz crescer a suscetibilidade de transmissão dos parasitas (MBORA; MCPEEK, 2009; SPONCHIADO et al., 2015)

A utilização de índices fisiológicos, em especial os que são derivados da análise de parâmetros sanguíneos (eritrócitos e leucócitos), demonstraram um crescente uso para avaliar a condição de saúde fisiológica de vertebrados que estão enfrentando condições atípicas das que normalmente ocorrem em ambientes sem perturbações antrópicas (DAVIS; MANEY; MAERZ, 2008; JOHNSTONE; LILL; REINA, 2012). A condição de saúde fisiológica compete um conjunto de fatores que estão relacionados, incluindo estado nutricional e carga parasitária (MINIAS, 2015; NORTRE et al., 2010).

As variáveis eritrocitárias, em particular o hematócrito (Hct) e a hemoglobina (Hb) são muito utilizadas como uma forma de avaliar o estado de saúde. Hct e Hb elevados estão associados a uma alta capacidade de oxigênio no sangue, isso é presumivelmente é vantajoso para atender às demandas metabólicas, como por exemplo, aquelas impostas por condições atípicas, onde os indivíduos devam se deslocar por distâncias maiores do que comumente se deslocariam em um ambiente sem perturbações antrópicas (LILL; YACHAU-WOS; JOHNSTONE, 2013; JOHNSTONE; LILL; REINA, 2015). Dessa forma, a manutenção de uma condição fisiológica saudável em diferentes paisagens requer um aumento na capacidade de oxigênio do sangue e, portanto, um alto nível de Hct e Hb. No entanto, essas variáveis podem oscilar de forma independente uma da outra, devido a diversos outros fatores que relacionados, como desidratação e carga parasitária, que podem resultar de condições como fome, infecções em decorrência de parasitas (LOBATO et al., 2011) ou doenças hemolíticas (FAIR; WHITAKER; PEARSON, 2007; MINIAS, 2015b). Com isso, para evitar análises equivocadas, algumas métricas derivativas, como os resíduos de hemoglobina-hematócrito (RHH), o conteúdo médio de hemoglobina celular (CMH), concentração média de hemoglobina celular (CMHC) e o volume celular médio (VCM) tem sido proposto como índices alternativos para solucionar esses potenciais equívocos de análise (JOHNSTONE; LILL; REINA, 2011, 2015a; JOHNSTONE; REINA; LILL, 2012). Com isso, Hct e Hb (e suas métricas derivadas), estão sendo utilizadas como índices para avaliar os impactos da perda de habitat em diversas espécies de aves e mamíferos (BENNETT; SAUNDERS, 2011; JOHNSTONE; LILL; REINA, 2011, 2014; JOHNSTONE; REINA; LILL, 2010; MIGUEL et al., 2019).

Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo entender como o ectoparasitismo varia de acordo com a perda de habitat, assumida através de um gradiente de cobertura florestal, e como esse afeta na condição e saúde de morcegos frugívoros (Família Phyllostomidae). Nossas hipóteses foram, (1) quanto maior a perda de habitat (ou seja, menor a taxa de cobertura florestal), maior será o valor de intensidade de ectoparasitas e de prevalência, nos morcegos do estudo, uma vez que, quanto menor a taxa de cobertura florestal, a quantidade de locais adequados para os morcegos utilizarem como poleiro diminuiriam, aumentando o contato e assim aumentando as taxas parasitárias (BOLIVAR-CIMÉ et al., 2018; URBETA; TORRES; ANJOS, 2019), (2) quanto maior a perda de habitat, os morcegos do estudo estariam em pior estado de saúde, com altos níveis de MCHC, Htc, Hb e baixos índices de RHH, o que favoreceria também a maior intensidade de ectoparasitas (CHRISTE et al. 2000; FARNEDA et al., 2015; JOHNSTONE; LILL; REINA, 2015b; MEYER et al., 2008; PEIXOTO et al., 2018).

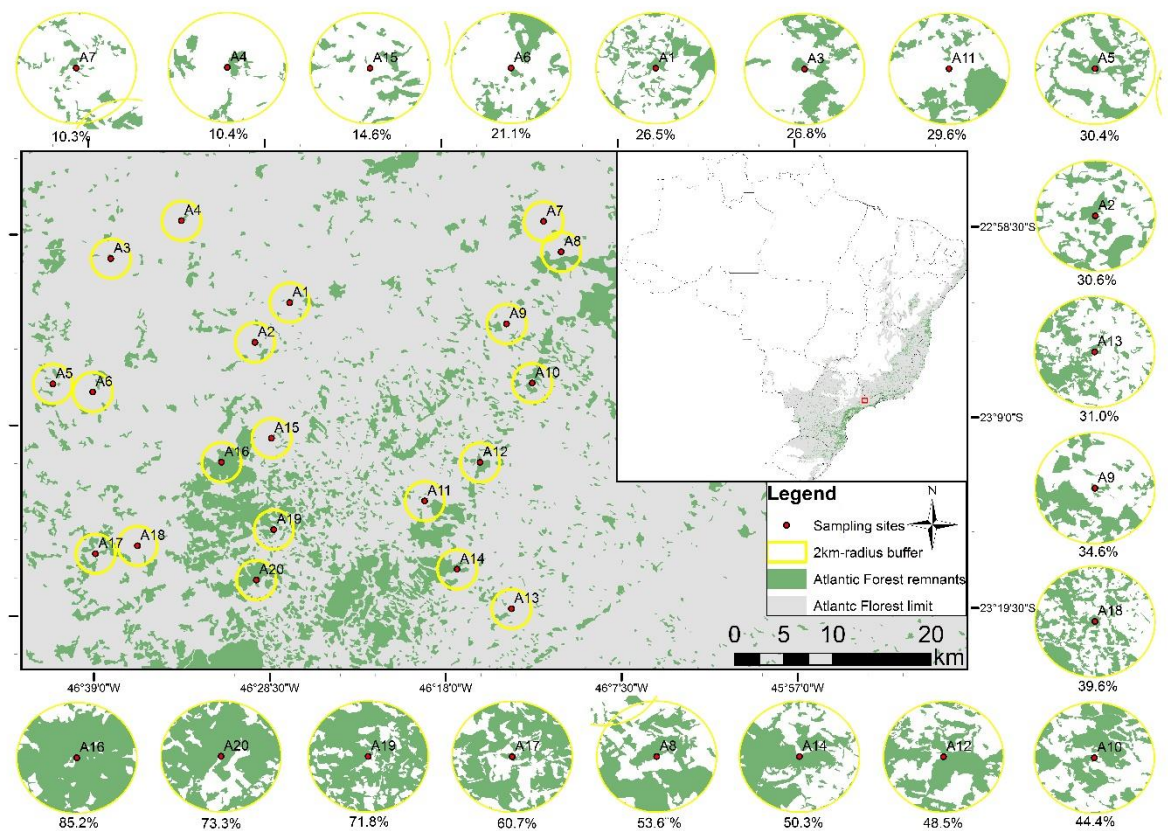
Material e métodos

Área de estudo

A área do estudo está inserida no bioma Mata Atlântica localizada no Estado de São Paulo, sudeste do Brasil (23 ° 14.303 'S, 46 ° 22.675' W). Essa é caracterizada pela presença de vários fragmentos de diferentes tamanhos e formas, compostos principalmente por floresta tropical, intercalados por uma matriz composta de soja, cana-de-açúcar, plantações de café e pinus, além de pastagens não manejadas (RIBEIRO et al., 2009). Dentro dessa área, selecionamos 20 paisagens com cobertura florestal variando de 10 a 85% em um raio de 2 km (Figura 1), e posteriormente subdividimos em 5 subgrupos em gradiente como proxy da perda de habitat, para analisar os seus efeitos na carga ectoparasitária e no estado de saúde dos morcegos.

Mapeamos os trechos florestais através da interpretação visual das imagens aéreas e de satélite da área de estudo (Esri, DigitalGlobe, GeoEye, Earthstar Geographic, CNES / Airbus DS, USDA, USGS, AEX, Getmapping, Aerogrid, IGN, IGP, swisstopo e GIS User Community) com resolução de 1m, disponível na extensão do Mapa de Base (ArcGIS 10.2), e calculamos a quantidade de floresta (porcentagem de cobertura florestal na paisagem de 2km de raio) usando o GRASS 6.4 (GRASS Development Team 2014).

Figura 1: Mapa da área de estudo, dentro dos fragmentos de Mata Atlântica, e ilustração das vinte paisagens de amostragem de 2 km de raio.



Fonte: Dados da pesquisa

Amostragem dos morcegos

Amostramos sistematicamente os morcegos duas vezes em cada paisagem entre setembro de 2017 e março de 2018. Focamos as análises para as três mais abundantes da área de estudo, sendo elas: *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818), *Artibeus planirostris* (Spix, 1823) e *Sturnira lilium* (E. Geoffroy, 1810). Todas estas espécies têm ampla distribuição pelas Américas Central e do Sul, sendo comum em habitats alterados, com preferência de poleiro em folhagens e árvores ocas e uma dieta majoritariamente composta por frutos do gênero *Piper* (tendo como exemplo popular do gênero a pimenta do reino), *Solanum* (tendo como exemplo popular do gênero o tomate), *Cecropia* (tendo como exemplo popular do gênero a embaúba) e *Ficus* (tendo como exemplo popular do gênero o figo), embora cada espécie tenha a sua preferência alimentar específica (FLEMING; HEITHAUS, 1981; VELAZCO; PATTERSON, 2013).

Para a captura dos morcegos foram colocadas seis redes de neblina em cada área (12 x 3m, 16 x 16mm de malha), em locais como trilhas, estradas e bordas florestais. As redes de neblina foram abertas por 6 horas começando ao anoitecer, durante 2 noites em cada área, totalizando 2592 h.m2 de esforço de amostragem (TREVELIN et al., 2017). Todos os morcegos assim que capturados foram acondicionados em sacos de pano para posterior manipulação. Identificamos taxonomicamente os morcegos de acordo com Reis et al. (2007), e identificamos o sexo e o status reprodutivo de cada indivíduo adulto (reprodutivo ou não reprodutivo). A condição reprodutiva foi avaliada através da visualização das características sexuais secundárias: escroto evidente ou não nos machos, de acordo com o inchaço dos testículos; gestante, quando o animal apresenta maior volume na região abdominal, com percepção do feto no abdome, através de sondagem; amamentação, quando as glândulas mamárias estão bem desenvolvidas e sem pelos circundantes, lactantes quando pressionadas; fêmeas não lactantes, quando não têm glândulas mamárias desenvolvidas (ANTHONY, 1988).

Coleta dos ectoparasitas

Para a coleta dos ectoparasitas, o corpo de cada hospedeiro foi revisado visualmente, tendo o pelo escovado, para que todos os ectoparasitas fossem desalojados. Todas as moscas ectoparasitas encontradas foram coletadas na superfície corporal dos morcegos com o auxílio de pinça de ponta fina e pincéis embebidos em álcool. As espécies coletadas foram fixadas em álcool 70% e acondicionadas em frascos individuais, separadamente para cada hospedeiro.

Adotamos a nomenclatura sugerido por Dick e Graciolli (2006) para os Estreblídeos e Nycteríblídeos. A identificação foi feita em parceria com o laboratório de zoologia e entomologia do professor Dr. Gustavo Graciolli, na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), e todo o material foi depositado nessa mesma coleção.

Coleta de sangue

Coletamos uma amostra de sangue (aproximadamente 100 µl, menos de 1% do volume de sangue para todas as 3 espécies) por punção da veia antebraquial com uma agulha estéril de 26 G como descrito por Voigt e Cruz-Neto (2009). Imediatamente após a coleta, uma amostra de sangue de 10 µl foi usada para medir a concentração de hemoglobina (em g / dL) com um analisador de hemoglobina Vet (HemoVet, EKF Diagnostics, Barleben, Alemanha) e o restante

da amostra foi transferida para capilares heparinizados para medições de hematócrito, realizado através da centrifugação do capilar (micro Coleman SH-120/1, Brasil), a 12.000 rpm por 10 minutos (VALDIVIESO; TAMSITT, 1971). O tempo entre a captura e a coleta de sangue levou até no máximo 60 minutos, todas as amostras coletadas acima desse tempo máximo foram descartadas. Nenhum dos parâmetros sanguíneos analisados são modificados até 60 minutos da captura, devido a isso utilizamos este como prazo máximo (HENRY; COSSON; PONS, 2007; KORINE; ZINDER; ARAD, 1999; VALDIVIESO; TAMSITT, 1971). Uma vez que os experimentos foram concluídos em cada local de captura, os morcegos foram liberados no mesmo local.

As licenças para coleta de morcegos foram emitidas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (licença do IBAMA: # 58458-1). As autorizações éticas para este estudo foram emitidas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual Paulista em Rio Claro (Autorização: # 21/2017).

Análises estatísticas

Para descrever os padrões de associação entre os morcegos e seus ectoparasitas, utilizamos o índice de intensidade média de infestação (IM) (número de ectoparasitas/ número de hospedeiros parasitados) e prevalência (número de indivíduos parasitados/ número de indivíduos examinado) (BUSH et al., 1997), para cada um dos 5 subgrupos do gradiente de cobertura florestal (Tabela 2).

Realizamos uma análise explorativa de pares para verificar o quanto a hemoglobina estava correlacionada com o hematócrito. Como esperado, a hemoglobina foi altamente correlacionada com o hematócrito para as três espécies. Assim, usamos os resíduos de uma regressão entre Hct e Hb para todas as espécies como uma medida da variação em Hb independente da variação em Hct (resíduos de Hemoglobina-Hematócrito RHH; JOHNSTONE; REINA; LILL, 2012). A concentração média de hemoglobina celular (CMHC, em gramas por litro), uma medida da quantidade de Hb por número total de eritrócitos, foi calculada como $CMHC = Hb \times 10 / Hct$ (JOHNSTONE; REINA; LILL, 2012).

Usamos Modelos Lineares Generalizados (GLM) para testar a variação nas variáveis resposta em função da cobertura florestal (Tabela 1), bem como suas interações. Os GLMs foram construídos com uma estrutura de erro gaussiana para as variáveis de resposta, uma vez

que todos são contínuos. Construímos todos os modelos uni variados e multivariados formados pela combinação de uma, duas ou três das variáveis explicativas, e também consideramos a interação entre eles, para testar o efeito conjunto da cobertura florestal e espécies. Para cada variável de resposta, foi realizada uma seleção de variáveis através dos critérios de informação corrigidos de Akaike (AICc), buscando os modelos mais plausíveis como aqueles com menores valores de AICc. Caso houvesse mais de um modelo entre os mais plausíveis, consideramos o mais simples (com o de menos parâmetros) como o mais provável, usando o princípio da parcimônia (BURNHAM; ANDERSON, 2002). Essas análises foram realizadas em R (R Core team 2018), utilizando o pacote MuMIn, uma ferramenta para realizar a seleção de modelos e a média do modelo (BARTÓN, 2018).

Tabela 1: Lista de variáveis preditora e resposta, que foram utilizadas como componentes dos modelos

Variável	Descrição e unidade
Preditora	Gradiente de cobertura florestal (%), Intensidade média de infestação Prevalência
Resposta	Hemoglobina (g/dL) Hematócrito (%) Resíduo Hemoglobina- Hematócrito (un.) Concentração Média de Hemoglobina Celular (g/l)

Resultados

Duzentos e quarenta e um morcegos foram capturados durante nosso estudo, sendo 64 *Artibeus lituratus*, 75 *Artibeus planirostris* e 102 *Sturnira lilium*. Dos totais de morcegos capturados cento e nove apresentaram ectoparasitas díptera, de Streblidae e Nycteribiidae (45,22%), sendo 31 *A. lituratus* (28,44%), 24 *A. planirostris* (22%) e 54 *S. lilium* (49,54%) (Material suplementar S1). Na análise par a par entre todas as variáveis: porcentagem de cobertura florestal, hematócrito, hemoglobina, RHH, CMHC, intensidade média de infestação e prevalência, para observar as relações entre as variáveis, sendo quanto mais perto de 1, maior a relação entre as variáveis (Material suplementar S2).

A intensidade média de infestação variou de 0 a 1,92 e a prevalência 0 a 2,16 (Tabela 2, Figura 2 e 3). Do total dos ectoparasitas foram encontradas 7 espécies diferentes de díptera de Streblidae e Nycteribiidae, sendo elas: *Megistopoda aranea*, *Megispoda próxima*, *Paraeuctenode similis*, *Paratrachobius longicrus*, *Strebla guajiro*, *Trichobius joblingi*, *Trichobius phyllostomae* (Material suplementar S1).

Analisando os modelos, para a intensidade média de ectoparasitas e prevalência não encontramos nenhum modelo plausível. Da mesma forma, para o hematócrito, hemoglobina, resíduo de hemoglobina e hematócrito (RHH) e concentração média de hemoglobina celular (CMHC), também não foram encontrados modelos plausíveis, ou seja, não encontramos com menores valores de AICc. (Tabela 3).

Tabela 2: As três espécies de morcegos frugívoros do estudo, com os grupos de cobertura florestal (%), intensidade média de infestação de ectoparasitas e prevalência.

Grupos de gradiente de cobertura florestal (%)	Espécie	Intensidade média de infestação	Prevalência
0- 20	<i>Artibeus lituratus</i>	1	0.1111
21- 40	<i>Artibeus lituratus</i>	1.7	0.607143
41- 60	<i>Artibeus lituratus</i>	0.809524	1.5454
61- 80	<i>Artibeus lituratus</i>	1	1.6
81-100	<i>Artibeus lituratus</i>	0	0
0- 20	<i>Artibeus planirostris</i>	1	0.5
21- 40	<i>Artibeus planirostris</i>	0.756756757	2
41- 60	<i>Artibeus planirostris</i>	0.481481481	2.16
61- 80	<i>Artibeus planirostris</i>	0.75	2
81-100	<i>Artibeus planirostris</i>	0	0
0- 20	<i>Sturnira lilium</i>	1.5	0.857142857
21- 40	<i>Sturnira lilium</i>	1.5909	0.777777778
41- 60	<i>Sturnira lilium</i>	1.9285	1.038461538
61- 80	<i>Sturnira lilium</i>	1.5	0.736842105
81-100	<i>Sturnira lilium</i>	1.6	1.333333333

Figura 2: Intensidade média de infestação de ectoparasitas e prevalência nos grupos de gradiente de cobertura florestal

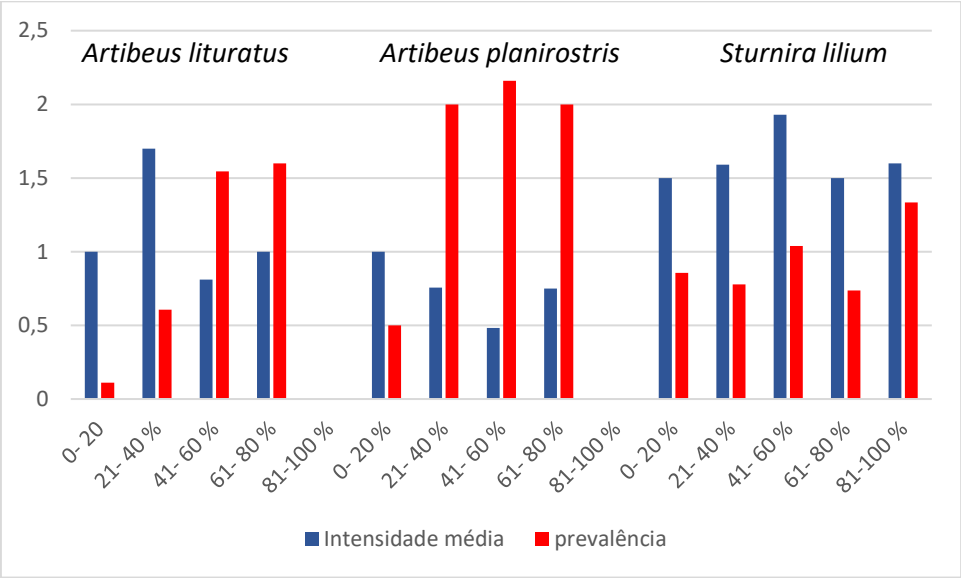


Figura 3: Prevalência de ectoparasitas para as três espécies do estudo em relação ao gradiente de cobertura florestal

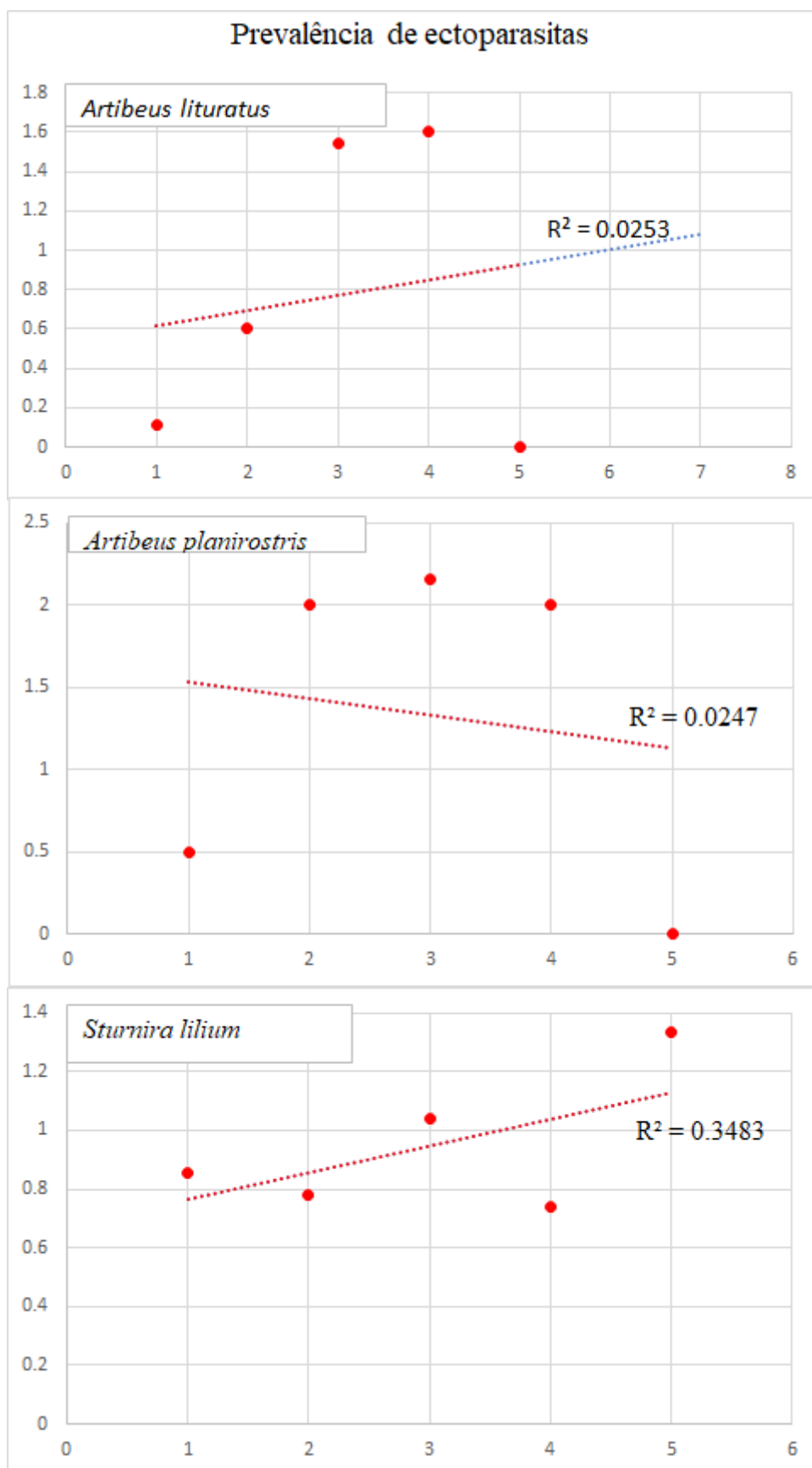


Tabela 3: Resultado da seleção do modelo através do AICc para cada variável de resposta. Todos os modelos igualmente plausíveis são mostrados; os mais parcimoniosos estão em negrito. Para cada modelo, o número de parâmetros (graus de liberdade, df), o valor AICc, a diferença entre o AICc do modelo e o mais plausível ($\Delta AICc$) e os pesos AICc são mostrados

<i>Variável resposta</i>	<i>Modelo</i>	Df	AICc	$\Delta AICc$	Influência no modelo
<i>Hematócrito</i>	Espécie + Grupos de % Florestal + Infestação média + prevalência	4	1752.9	3.57	0.031
	Grupos de % Florestal + Infestação média + prevalência	4	1246.7	2.65	0.129
<i>Hemoglobina</i>	Espécie + Grupos de % Florestal + Infestação média + prevalência	4	1331.5	2.96	0.049
	Grupos de % Florestal + Infestação média + prevalência	4	1448.0	5.54	0.112
<i>RHH</i>	Espécie + Grupos de % Florestal + Infestação média + prevalência	4	829.5	3.74	0.098
	Grupos de % Florestal + Infestação média + prevalência	4	828.7	4.82	0.078
<i>CMHC</i>	Espécie + Grupos de % Florestal + Infestação média + prevalência	4	999.1	2.86	0.053
	Grupos de % Florestal + Infestação média + prevalência	4	971.1	5.73	0.02

Discussão

Neste estudo, tivemos como objetivo avaliar o impacto da perda de habitat sobre os principais índices de ectoparasitas, a intensidade média de infestação e a prevalência, em conjunto com o estado de saúde, acessado através de parâmetros fisiológicos, de três espécies de morcegos neotropicais frugívoros. Nossas principais hipóteses e previsões não foram apoiadas, e não obtivemos relação em nenhum dos modelos que foram analisadas as associações

entre ectoparasitas e a taxa de cobertura florestal, bem como também não obtivemos relação entre os modelos em que foram analisadas as associações entre ectoparasitas e o seu estado de saúde. Dessa forma, nossos resultados não suportam nossas previsões iniciais de que uma redução na quantidade de cobertura florestal da paisagem estaria associada a um aumento da intensidade média de infestação, prevalência e uma diminuição no estado de saúde.

Ectoparasitas e cobertura florestal

Em relação aos trabalhos de (GRACIOLLI & RUI (2001) GUERRERO (1996) GANNON & WILLIG 1995), os valores de prevalência e intensidade média de infestação foram baixos para as três espécies de filostomídeos utilizadas. Segundo KOMENO & LINHARES (1999), entre os fatores que influenciam as taxas de parasitismo estão o tipo de abrigo que o morcego hospedeiro utiliza, as associações entre diferentes espécies de morcegos nos abrigos e o comportamento de hospedeiros e seus parasitos. As baixas taxas de infestações (prevalência e intensidade média) das populações de *A. lituratus*, *A. planirostris* e *S. lilium* provavelmente são resultantes da soma de diferentes fatores atuando em conjunto

Como Estreblídeos e Nycterídeos, são moscas ectoparasitas de morcegos que são altamente específicas para o hospedeiro, possivelmente as mudanças na dinâmica da paisagem afetariam essa associação ectoparasitária, ao contrário de ectoparasitas mais generalistas, como as pulgas (FRANK et al., 2016). A espécie de mosca mais abundante em *A. lituratus* foi *P. longicrus*. Essa é considerada uma espécie que tem como hospedeiro específico os morcegos do gênero *Artibeus* (WENZEL et al. 1966). *A. planirostris* teve como mosca ectoparasita mais abundante a *M. aranea*, que é tida como uma associação comum entre todas as espécies de morcegos frugívoros de todo o Neotropico (DE VASCONCELOS et al., 2016; ERIKSSON; GRACIOLLI; FISCHER, 2011). *S. lilium* teve como mais abundante ectoparasita, *M. próxima*, que também é uma associação específica entre essas duas espécies muito bem documentada na literatura (AUTINO et al., 2011; GRACIOLLI; AUTINO; CLAPS, 2005).

A riqueza de ectoparasitas, em geral pode ser explicada pela variedade de micro habitats que é formada pelo mosaico de áreas dentro do domínio de área da vegetação (DICK; PATTERSON, 2007; PATTERSON; DICK; DITTMAR, 2007). Além da característica já citada, o aspecto dos abrigos dos morcegos, também é uma questão importante que pode influenciar as taxas de reprodução e sobrevivência de ectoparasitas (DICK; PATTERSON, 2007).

De forma geral, embora a alta especificidade das moscas pelos hospedeiros morcegos seja uma questão unânime e generalizada entre a grande maioria dos pesquisadores (BARBIER; GRACIOLLI, 2016; DICK; PATTERSON, 2007; PATTERSON; DICK; DITTMAR, 2007), a estrutura e composição ao longo de um gradiente de cobertura florestal, tem sido pouco explorado. Dessa forma, existem poucos estudos das interações entre morcegos e moscas em ambientes degradados e que sofreram com a fragmentação e a perda de habitat, e não existem estudos que buscaram entender as associações entre ectoparasitas e morcegos relacionando-as com ferramentas de fisiologia.

No presente estudo, foram registradas 7 espécies de moscas ectoparasitas, nas três espécies de morcegos analisados, como mencionado é um número abaixo do encontrado em outros estudos com espécies de Estreblídeos e Nycteriblídeos, realizados no neotrópico (BOLIVAR-CIMÉ et al., 2018; KOMENO; URBIETA; TORRES; ANJOS, 2019). Estudos como do Urbietta et al. 2014, 2019, Frank et al. 2016 Bolivar-Cimé et al. 2018, encontraram em suas análises uma maior prevalência e intensidade média de infestação em paisagens degradadas, fragmentada e que estavam sofrendo com a perda de habitat. Nesses estudos os autores justificaram que a intensidade média de infestação foi mais alta em ambientes fragmentados, uma vez que, os morcegos tendem a se concentrar em abrigos disponíveis, já que, a quantidade de abrigos em paisagens mais fragmentadas tendem a ser mais escassos (HOFSTEDE; FENTON, 2005; PATTERSON; DICK; DITTMAR, 2007). No nosso estudo, a intensidade média de infestação e a prevalência, que foram usadas como o indicie parasitário, ficaram abaixo do encontrado pelos trabalhos citados. Essa diferença possivelmente também foi causada devido, a métrica de paisagem utilizada, em ambos artigos citados, os pesquisadores compararam o efeito da fragmentação e não da perda de habitat e como foi observado por Miguel, et al., 2019, mesmo que a perda de habitat seja um dos principais efeitos da fragmentação, tratam-se de fenômenos diferentes, que naturalmente apresentarão resultados distintos. No entanto, os nossos resultados condizem com a literatura quando analisados do ponto de vista de populações, uma vez que houve uma queda na abundância dos morcegos, e consequentemente dos seus ectoparasitas, na área fragmentada, que foi a paisagem em que o presente estudo foi realizado, dessa forma a perda de habitat reduziu a abundância das populações de morcegos (MUYLAERT; STEVENS; RIBEIRO, 2016)

Condição de saúde

Padrões de prevalência de ectoparasitas e intensidade média de infestação, são os principais índices da relação hospedeiro parasita (MARSHALL, 1982), esses índices podem variar por fatores intrínsecos e extrínsecos entre as espécies hospedeiras (COMBES, 2001). Alguns autores como CHRISTE et al. 2003 e RECKARDT; KERTH, 2009, defendem que esses índices são influenciados pelo recurso e pelo sistema imunológico dos hospedeiros. Ectoparasitas podem desenvolver estratégias para colonizar hospedeiros que apresentem baixa imunocompetência, ou mesmo características que evitem que os morcegos tenham reações imunológicas (BIZE et al. 2008 ;CHRISTE et al. 2003; RECKARDT; KERTH, 2009).

Existem duas principais hipóteses que relacionam índices ectoparasitários com a condição de saúde: (1) a hipótese do hospedeiro vulnerável, que assume que morcegos que apresentem algum tipo de estresse que cause uma diminuição na sua condição de saúde, podem ser os mais ectoparasitados (CHRISTE et al. 2000), (2) a hipótese do hospedeiro bem alimentado, que assume que a maior carga parasitária será encontrada em indivíduos de paisagem com maior oferta de recursos e com melhores condições de saúde (CHRISTE et al. 2003; RECKARDT; KERTH, 2009).

Os recursos são frequentemente correlacionados com parâmetros hematológicos como hematócrito ou concentração de hemoglobina (CHRISTE et al. 2003; RECKARDT; KERTH, 2009). Christe et al. 2000 encontrou uma maior relação da carga parasitária para morcegos que estavam sofrendo com estresse nutricional (medido através da hemoglobina), e a pesquisa realizada por Reckardt e Kerth, foram encontradas maiores taxas de ectoparasitas em indivíduos que viviam em paisagens com melhor qualidade alimentar.

O estímulo estressor pode desencadear diferentes respostas em diferentes organismos e dependendo da forma com que o indivíduo responde a este estímulo, pode se transformar num estresse positivo ou negativo (JOHNSTONE; REINA; LILL, 2012; MEEHAN; MENCH, 2007). Assim, o estresse está relacionado a sua natureza, forma de manifestação e consequências desencadeadas. Pode ser denominado de duas formas diferentes: eustresse, quando se tratar de um evento positivo, onde é necessário para a sobrevivência do indivíduo frente a uma adversidade; distresse, quando se tratar de um evento negativo, onde é desencadeado e pode acabar sendo prejudicial ao indivíduo (JOHNSTONE; REINA; LILL, 2012; MEEHAN; MENCH, 2007).

MIGUEL, et al., 2019 utilizaram uma abordagem de paisagens para investigar como a perda de habitat afeta a fisiologia e a saúde de morcegos generalistas na Mata Atlântica,

analisaram padrões de estresse e possível deficiência alimentar desses morcegos frugívoros em uma área já fragmentada e como os indivíduos estariam sofrendo com a perda de habitat. Nesse estudo, os autores não encontraram diferenças que justifique o estresse em decorrência a deficiências alimentares, causadas pela perda de cobertura florestal e sugerem análises com ectoparasitas.

Em nossa pesquisa, complementando as análises realizadas por MIGUEL et al., 2019, e como discutido também não encontramos que as variáveis fisiológicas (que ditariam a possível diminuição na condição de saúde), e de ectoparasitismo variaram com a perda de cobertura florestal. O que presumivelmente ocorre é que os indivíduos estão sofrendo de eustresse, onde a liberação de hormônios está agindo de forma positiva ao organismo, favorecendo com que ele possa realizar suas funções vitais mesmo em ambientes altamente degradados (BIZE et al. 2008 ;CHRISTE et al. 2003; SAPOLSKY, ROBERT; ROMERO, 2000). Assumindo que os animais não estariam sofrendo qualquer tipo de estresse nutricional (MIGUEL et al., 2019), no presente estudo, nenhuma das hipóteses puderam ser sustentadas, não encontramos qualquer relação dos ectoparasitas com a condição de saúde.

Conclusões

Por fim, concluímos que a perda de habitat aparentemente não modifica os padrões dos ectoparasitas nos morcegos frugívoros e que esses também não causam danos na condição de saúde dos indivíduos. Também concluímos que a perda de habitat aparentemente não prejudica a condição de saúde dos morcegos frugívoros e que o nível de estresse aparentemente não é alto o suficiente para ter qualquer efeito deletério, podendo até mesmo ter efeitos benéficos para ajudar na ativação imune nos primeiros momentos de resposta aos ectoparasitas.

Referência bibliográfica

- ALROY, J. Effects of habitat disturbance on tropical forest biodiversity. **PNAS**, p. 1–6, 2017.
- ANDRÉN, H. Effects of Habitat Fragmentation on Birds and Mammals in Landscapes With Different Proportions of Suitable Habitat - a Review. **Oikos**, v. 71, n. 3, p. 355–366, 1994.
- AUTINO, A. G. et al. Ectoparasitic insects (Diptera : Streblidae and Siphonaptera : Ischnopsyllidae) of bats from Iquitos and surrounding areas (Loreto , Peru). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 8, p. 917–925, 2011.
- BARBIER, E. From the Atlantic Forest to the borders of Amazonia : species richness , distribution , and host association of ectoparasitic flies (Diptera : Nycteribiidae and Streblidae) in northeastern Brazil. **Parasitol Res.** 2017.
- BARBIER, E.; GRACIOLLI, G. Community of bat flies (Streblidae and Nycteribiidae) on bats in the Cerrado of Central-West Brazil: hosts, aggregation, prevalence, infestation intensity, and infracommunities. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 51, n. 3, p. 176–187, 2016.
- BARTÓN, K.. MuMIn. R package version 1.42.1. <https://cran.r-project.org/web/packages/MuMIn/MuMIn.pdf>, 2018.
- BENDER, D. J.; CONTRERAS, T. A.; FAHRIG, L. Habitat Loss and Population Decline : A Meta-Analysis of the Patch Size Effect. **Ecology**, v. 79, n. 2, p. 517–533, 1998.
- BENNETT, A. F.; SAUNDERS, D. A. Habitat fragmentation and landscape change. **Conservation biology for all**. p. 88 - 106, 2011.
- BERNARD, E.; FENTON, M. B. Bat Mobility and Roosts in a Fragmented Landscape in Central Amazonia, Brazil1. **Biotropica**, v. 35, n. 2, p. 262, 2003.
- BERNARD, E.; FENTON, M. B. Bats in a fragmented landscape: Species composition, diversity and habitat interactions in savannas of Santar?? Central Amazonia, Brazil. **Biological Conservation**, v. 134, n. 3, p. 332–343, 2007.
- BETTS, M. G.; FAHRIG, L.; HADLEY, A. S.; HALSTEAD, K. E.; BOWMAN, J.; ROBINSON, W. D.; WIENS, J. A.; LINDENMAYER, D. B. A species-centered approach for uncovering generalities in organism responses to habitat loss and fragmentation. **Early View**, n. January, p. 1–11, 2014.
- BIZE, P.; DEVEVEY, G.; MONAGHAN, P.; DOLIGEZ, B.; CHRISTE, P. Fecundity and survival in relation to resistance to oxidative stress in a free-living bird. **Ecology**. v. 89, n. 9, p. 2584–2593, 2008.

- BOLIVAR-CIMÉ, B.; CUXIM-KOYOC, A.; REYES-NOVELO, E.; MORALES-MALACARA, J. B.; LABORDE, J.; FLORES-PEREDO, R. Habitat fragmentation and the prevalence of parasites (Diptera, Streblidae) on three Phyllostomid bat species. **Biotropica**, v. 50, n. 1, p. 90–97, 2018.
- BROOKS, T. M.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, A.B.; RYLANDS, A.B.; KONSTANT, W. R.; FLICK, P.; PILGRIM, J.; OLDFIELD, S.; MAGIN, G.; HILTON-TAYLOR, C. Habitat Loss and Extinction in the Hotspots of Biodiversity. **Conservation Biology**, v. 16, n. 4, p. 909–923, 2002.
- BUSH, A. O.; LAFFERTYT, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAKLL, A. W. Parasitology on its own terms : meets ecology margolis. **The American Society of Parasitologists**, v. 83, n. 4, p. 575–583, 2015.
- BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D.R. Model selection and multimodel inference : a practical information-theoretic. 2nd ed. **New York: Springer-Verlag**. p. 488 . 2002.
- COMBES, C. The ecology and evolution of intimate interactions. **The Univ. of Chicago Press**. p. 699, 2001
- COTTONTAIL, V. M.; WELLINGHAUSEN, N.; KALKO, E. K. V. Habitat fragmentation and haemoparasites in the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis* (Phyllostomidae) in a tropical lowland forest in Panamá. **Parasitology**, v. 136, n. 10, p. 1133–1145, 2009.
- CHRISTE, P.; ARLETTAZ, R.; VOGEL, P. Variation in intensity of a parasitic mite (*Spinturnix myoti*) in relation to the reproductive cycle and immunocompetence of its bat host (*Myotis myotis*). **Ecol Lett.**, v. 3, p.207–212, 2000.
- CHRISTE, P.; GIORGI, M. S.; VOGEL, P.; ARLETTAZ, R. Differential species-specific ectoparasitic mite intensities in two intimately coexisting sibling bat species: resource-mediated host attractiveness or parasite specialization? **J. Anim. Ecol.**, v. 72, p. 866–872, 2003.
- DAR, P. A.; RESHI, Z. A. Components , Processes and Consequences of Biotic Homogenization : a Review. **Contemporary Problems of Ecology**, v. 2, 2014.
- DAVIS, A. K.; MANEY, D. L.; MAERZ, J. C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. **Functional Ecology**, v. 22, n. 5, p. 760–772, 2008.
- DICK, C. W.; PATTERSON, B. D. Against all odds : Explaining high host specificity in dispersal-prone parasites. **Int. J. Parasitol**, v. 37, p. 871–876, 2007.

- DITTMAR, K.; MORSE, S. F.; DICK, C. W.; PATTERSON, B. D. Bat fly evolution from the Eocene to the Present (Hippoboscoidea , Streblidae and Nycteribiidae). eds. S. Morand, B. R.
- Krasnov and D. T. J. Littlewood. Published by Cambridge University Press. © Cambridge University Press, p. 246–264, 2016.
- ELLIS, R. D.; MCWHORTER, T. J.; MARON, M. Integrating landscape ecology and conservation physiology. **Landscape Ecology**, v. 27, n. 1, p. 1–12, 2012.
- ERIKSSON, A.; GRACIOLLI, G.; FISCHER, E. Bat flies on phyllostomid hosts in the Cerrado region : component community , prevalence and intensity of parasitism. *Mem Inst Oswaldo Cruz* v. 106, p. 274–278, 2011.
- ESTAVILLO, C.; PARDINI, R.; DA ROCHA, P. L. B. Forest loss and the biodiversity threshold: An evaluation considering species habitat requirements and the use of matrix habitats. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, p. 1–10, 2013.
- EWERS, R. M.; DIDHAM, R. K. Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 81, n. 1, p. 117–42, 2006.
- FAHRIG, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annu Rev Ecol Evol Syst**, v. 34, p. 487–515, 2003.
- FAHRIG, L.; ARROYO-RODRÍGUEZ, V.; BENNETT, J.R.; BOUCHER-LALONDE, V.; CAZETTA, E.; CURRIE, D.J.; EIGENBROD, F.; FORD, A.T.; HARRISON, S.P.; JAEGER, J.A.G.; KOPER, N.; MARTIN, A.E.; MARTIN, J.L.; METZGER, J.P.; MORRISON, P.; RHODES, J.R.; SAUNDERS, D.A.; SIMBERLOFF, D.; SMITH, A.C.; TISCHENDORF, L.; VELLEND, M.; WATLING, J.I. Is habitat fragmentation bad for biodiversity? **Biological. Conservation**, v. 230, 179–186. 2019.
- FAIR, J.; WHITAKER, S.; PEARSON, B. Sources of variation in haematocrit in birds. **Ibis**, p. 535–552, 2007.
- FARNEDA, Z.; ROCHA, R.; PALMEIRIM, J.M.; BOBROWIEC, P.E.D.; MEYER, C.F.J. Trait-related responses to habitat fragmentation in Amazonian bats. **Journal of Applied Ecology**. p. 1381–1391, 2015.
- FRANK, H. K.; MENDENHALL, C. D.; JUDSON, S. D.; DAILY, G. C.; HADLY, E. A. Anthropogenic impacts on Costa Rican bat parasitism are sex specific. **Ecology and Evolution**, v. 6, n. 14, p. 4898–4909, 2016.

- FRANKLIN, A. B.; NOON, B. R.; GEORGE, T. L. What is habitat fragmentation ? **Studies in Avian Biology**, n. 25, p. 20–29, 2002.
- FLEMING, T. H.; HEITHAUS, E. R. Frugivorous bats, seed shadows, and the structure of tropical forests. **Biotrop. Reprod. Bot.** v. 13, p. 45–53, 1981.
- GANNON, M. R.; WILLIG, M. R. Ecology of Ectoparasites from Tropical Bats. **Environmental Entomology**, v. 24, n. 6, p. 1495–1503, 1995.
- GORRESEN, P. M.; WILLIG, M. R. Landscape Responses of Bats To Habitat Fragmentation in Atlantic Forest of Paraguay. **Journal of Mammalogy**, v. 85, n. 4, p. 688–697, 2004.
- GRACIOLLI, G.; PASSOS, F.C.; PEDRO, W. A.; LIM, B.K. Moscas ectoparasitas (Diptera, Streblidae) de morcegos filostomídeos (Mammalia, Chiroptera) na Estação Ecológica dos Caetetus, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 1, p. 298–299, 2006.
- GRACIOLLI, G.; AUTINO, A. G.; CLAPS, G. L. Catalogue of American Nycteribiidae (Diptera, Hippoboscoidea). **Revista Brasileira de Entomologia**, n. 2004, p. 142–159, 2005.
- GRACIOLLI, G.; BERNARD, E. Novos registros de moscas ectoparasitas (Diptera, Streblidae e Nycteribiidae) em morcegos (Mammalia, Chiroptera) do Amazonas e Pará, Brasil. **Revta bras. Zool.**, v. 19, n. Supl.1, p. 77–86, 2002.
- GRACIOLLI, G.; RUI, A. M. Streblidae (Diptera, Hippoboscoidea) em morcegos (Chiroptera, Phyllostomidae) no nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 90, p. 85–92, 2001.
- GUERRERO, R. Streblidae (Diptera: Pupipara) parásitos de los murciélagos de Pakitza, Parque Nacional Manu (Perú), p. 627–641. In: WILSON, D.E.; SANDOVAL, A. (EDs). **MANU: La biodiversidad del sureste del Perú**. Washington, Smithsonian Institution, p. 679, 1996.
- HENRY, M.; COSSON, J. F.; PONS, J. M. Abundance may be a misleading indicator of fragmentation-sensitivity: The case of fig-eating bats. **Biological Conservation**, v. 139, n. 3–4, p. 462–467, 2007.
- HOFSTEDE, H. M.; FENTON, M. B. Relationships between roost preferences, ectoparasite density, and grooming behaviour of neotropical bats. **Journal of Zoology, London**, v. 266, n. 4, p. 333–340, 2005.
- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Response of the Agile Antechinus to Habitat Edge, Configuration and Condition in Fragmented Forest. **Plos One**, v. 6, n. 11, 2011.

- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Does habitat fragmentation cause stress in the agile antechinus ? A haematological approach. **J. Comp. Physiol. B.** p. 139–155, 2012.
- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Habitat loss , fragmentation and degradation effects on small mammals : Analysis with conditional inference tree statistical modelling. **Biological Conservation**, v. 176, p. 80–98, 2014.
- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Use of erythrocyte indicators of health and condition in vertebrate ecophysiology : A review and appraisal Use of erythrocyte indicators of health and condition in vertebrate ecophysiology : a review and appraisal. **Biol. Rev.** p. 1-19. 2015a.
- JOHNSTONE, C. P.; LILL, A.; REINA, R. D. Use of erythrocyte indicators of health and condition in vertebrate ecophysiology: A review and appraisal. **Biological Reviews**, n. SEPTEMBER, 2015b.
- JOHNSTONE, C. P.; REINA, R. D.; LILL, A. Impact of anthropogenic habitat fragmentation on population health in a small , carnivorous marsupial Impact of anthropogenic habitat fragmentation on population health in a small , carnivorous marsupial. **Journal of Mammalogy**. v. 91, n. 6, p. 1332–1341, 2010.
- JOHNSTONE, C. P.; REINA, R. D.; LILL, A. Interpreting indices of physiological stress in free-living vertebrates. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 182, n. 7, p. 861–879, 2012.
- JONES, G.; JACOBS, D. S.; KUNZ, T. H.; WILLIG, M. R.; RACEY, P. A. Carpe noctem: The importance of bats as bioindicators. **Endangered Species Research**, v. 8, n. 1–2, p. 93–115, 2009.
- KOMENO, C. A.; LINHARES, A. X. Batflies Parasitic on Some Phyllostomid Bats in Southeastern Brazil: Parasitism Rates and Host-parasite Relationships. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 2, p. 151–156, 1999.
- LEHMANN, T. Ectoparasites : Direct Impact on Host Fitness. **Parasitology Today**, v. 9, n. I, 1993.
- LILL, A.; RAJCHL, K.; YACHOU-WOS, L.; JOHNSTONE, C.P Are haematocrit and haemoglobin concentration reliable indicators of body condition in adult Welcome Swallows ? **Avian Biology Research**, v. 6, n. 1, 2013.
- LINDENMAYER, D. B.; FISCHER, J. Tackling the habitat fragmentation panchreston. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 22, n. 3, p. 127–132, 2007.
- LOAYZA, A. P.; LOISELLE, B. A. Preliminary Information on the Home Range and

- Movement Patterns of *Sturnira lilium* (Phyllostomidae) in a Naturally Fragmented Landscape in Bolivia. **Biotropica**. v. 40, n. 5, p. 630–635, 2008.
- LOBATO, D. N. C.; BRAGA, E. M.; BELO, N. O.; ANTONINI, Y. Hematological and parasitological health conditions of the Pale-breasted Thrush (*Turdus leucomelas*) (Passeriformes: Turdidae) in southeastern Brazil. **ZOOLOGIA**, v. 28, n. 6, p. 771–776, 2011.
- MARSHALL, A. G. Ecology of Insects Ectoparasitic on Bats. in Kunz, T. H. (ed.). **Ecology of bats**. Plenum Press, New York. p. 369–370, 1982.
- MARZLUFF, J. M. Urban ecology: An international perspective on the interaction between humans and nature. **Urban Ecology: An International Perspective on the Interaction Between Humans and Nature**, n. July, p. 1–807, 2008.
- MBORA, D. N. M.; MCPEEK, M. A. Host density and human activities mediate increased parasite prevalence and richness in primates threatened by habitat loss and fragmentation. **Journal of Animal Ecology**. p. 210–218, 2009.
- MEEHAN, C. L.; MENCH, J. A. The challenge of challenge: Can problem solving opportunities enhance animal welfare ? **Applied Animal Behaviour Science**. v. 102, p. 246–261, 2007.
- MELLO, M. A. R.; RODRIGUES, F. A.; COSTA, L. F.; KISSLING, W. D.; ŞEKERCIOĞLU, Ç. H.; MARQUITTI, F. M. D.; KALKO, E. K. V. Keystone species in seed dispersal networks are mainly determined by dietary specialization. **Oikos**, v. 124, n. 8, p. 1031–1039, 2015.
- MEYER, C. F. J.; FRUND, J.; LIZANO, W. P.; KALKO, E. K. V. Ecological correlates of vulnerability to fragmentation in Neotropical bats. **Journal of Applied Ecology**. p. 381–391, 2008.
- MIGUEL, P. H.; KERCHES-ROGERI, P.; NIEBUHR B. B.; SOUZA CRUZ, R. A.; CEZAR RIBEIRO, M.; CRUZ- NETO, A. P. Habitat amount partially affects physiological condition and stress level in Neotropical fruit-eating bats. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**. v. 237, 2019.
- MINIAS, P. The use of haemoglobin concentrations to assess physiological condition in birds: A review. **Conservation Physiology**, v. 3, n. 1, p. 1–15, 2015b.
- MØLLER, A. P.; LOPE, F.; MORENO, J.; GONZFILEZ, G.; PÉREZ, J. J. Ectoparasites and host energetics: house martin bugs and house martin nestlings. **Oecologia**, v. 98, n. 3–4, p. 263–268, 1994.

- MULLU, D. A Review on the Effect of Habitat Fragmentation on Ecosystem. **Journal of Natural Sciences Research**, v. 6, 2018.
- MUYLAERT, R. L.; STEVENS, R. D.; RIBEIRO, M. C. Threshold effect of habitat loss on bat richness in cerrado-forest landscapes. **Ecological Applications**, v. 26, n. 6, p. 1854–1867, 2016.
- ORTEGA-ÁLVAREZ, R.; MACGREGOR-FORS, I. Living in the big city : Effects of urban land-use on bird community structure , diversity , and composition. **Landscape and Urban Planning**, v. 90, p. 189–195, 2009.
- PATTERSON, B. D.; DICK, C. W.; DITTMAR, K. Roosting habits of bats affect their parasitism by bat flies (Diptera : Streblidae). **Journal of Tropical Ecology**, p. 177–189, 2007.
- PEIG, J.; GREEN, A. J. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: The scaled mass index as an alternative method. **Oikos**, v. 118, n. 12, p. 1883–1891, 2009.
- PEIG, J.; GREEN, A. J. The paradigm of body condition : a critical reappraisal of current methods based on mass and length. **Functional Ecology**, p. 1323–1332, 2010.
- PEIXOTO, F. P.; BRAGA, P. H. P.; MENDES, P. A synthesis of ecological and evolutionary determinants of bat diversity across spatial scales. **BMC Ecology**, p. 1–14, 2018.
- PILOSOFF, S.; DICK, C. W.; KORINE, C.; PATTERSON, B. D.; KRASNOV, B. Effects of Anthropogenic disturbance and climate on patterns of bat fly parasitism. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7, 2012.
- KORINE, C.; ZINDER, O.; ARAD, Z. Diurnal and seasonal changes in blood composition of the free-living Egyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*). **Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 169, n. 4–5, p. 280–286, 1999.
- RIBEIRO, M. C. et al. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141–1153, 2009.
- RECKARDT, K.; KERTH, G. Does the mode of transmission between hosts affect the host choice strategies of parasites? Implications from a field study on bat fly and wing mite infestation of Bechstein’s bats. **Oikos**. v. 118, p. 183–190, 2009.
- REIS, N.; PERACCHI, A., L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Eds). Morcegos do Brasil. Londrina. 2007.

- SANDERSON, E. W.; JAITEH, M.; LEVY, M. A.; REDFORD, K. H.; WANNEBO, A. V.; WOOLMER, G et al. The Human Footprint and the Last of the Wild. **BioScience**, v. 52, n. 10, p. 891, 2002.
- SPONCHIADO, J.; MELO, G. L.; MARTINS, T. F.; KRAWCZAK, F. S.; LABRUNA, M. B.; CÁCERES, N. C. Association patterns of ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae, argasidae) of small mammals in cerrado fragments, western Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, n. 3, p. 389–401, 2015.
- TREVELIN, L. C.; NOVAES, R. L. M.; COLAS-ROSAS, P. F.; BENATHAR, T. C. M.; PERES, C. A. Enhancing sampling design in mist-net bat surveys by accounting for sample size optimization. p. 1–16, 2017.
- URBIETA, G. L.; TORRES, J. M.; ANJOS, E. Parasitism of Bat Flies (Nycteribiidae and Streblidae) on Bats in Urban Environments : Lower Prevalence , Infracommunities , and Specificity Parasitism of bat flies (Nycteribiidae and Streblidae) on bats in urban environments : lower prevalence , infracommunities , and specificity. n. February, 2019.
- VALDIVIESO, D.; TAMSITT, J. R. Hematological data from tropical American bats. **Canadian Journal Of Zoology**, v. 49, n. 1, p. 31–36, 1971.
- VASCONCELOS, P. F.; FALCÃO, L. A. D.; GRACIOLLI, G.; BORGES, M. A. Z. Parasite-host interactions of bat flies (Diptera: Hippoboscoidea) in Brazilian tropical dry forests. **Parasitology Research**, v. 115, n. 1, p. 367–377, 2016.
- VELAZCO, P. M.; PATTERSON, B. D. Diversification of the Yellow-shouldered bats, Genus Sturnira (Chiroptera, Phyllostomidae), in the New World tropics. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 68, n. 3, p. 683–698, 2013.
- VOIGT, C.C., CRUZ-NETO, A.P. Energetic analysis. In: Kunz, T.H., Parsons, S. (Eds.), Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats. The John Hopkins University Press, Baltimore. p. 624–645, 2009.
- VITOUSEK, P.M.; MOONEY, H.A.; LUBCHENCO J. Human Domination of Earth's ecosystems. **Science, New Series**. v. 277, p. 494–9, 2008.
- WENZEL, R.L.; TIPTON, V.J.; KIEWLICZ, A. The streblid bat flies of Panama (Diptera: Calyptera: Streblidae). In: Wenzel RL, Tipton VJ (Eds). Ectoparasites of Panama. Field Museum of Natural History, Chicago, Illinois, USA, p. 405–675, 1966.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Análise do efeito da perda de habitat na saúde e ectoparasitismo de morcegos frugívoros

S1: As três espécies de morcegos frugívoros do estudo, com a taxa de cobertura florestal (%) e a as espécies de ectoparasita encontradas.

Espécie morcego	Cobertura florestal (%)	Ectoparasitas
<i>Artibeus lituratus</i>	0 - 20	<i>Paratrichobius longicrus</i>
	21-40	<i>Paratrichobius longicrus</i>
	41 -60	<i>Paratrichobius longicrus</i> <i>Megistopoda aranea</i>
	61-80	<i>Paratrichobius longicrus</i> <i>Megistopoda proxima</i>
	81 - 100	-
<i>Artibeus planirostris</i>	0 - 20	<i>Megistopoda aranea</i>
	21-40	<i>Megistopoda aranea</i> <i>Paratrichobius longicrus</i>
	41 -60	<i>Megistopoda aranea</i> <i>Paratrichobius longicrus</i>
	61 – 80	<i>Paratrichobius longicrus</i>
	81 - 100	-
<i>Sturnira lilium</i>	0 -20	<i>Aspidoptera falcata</i>
	21 -40	<i>Megistopoda proxima</i> <i>Aspidoptera falcata</i> <i>Paratrichobius longicrus</i> <i>Megistopoda aranea</i>
	41-60	<i>Megistopoda proxima</i> <i>Aspidoptera falcata</i> <i>Trichobius phyllostomae</i> <i>Paratrichobius longicrus</i>
	61 -80	<i>Megistopoda proxima</i> <i>Megistopoda aranea</i> <i>Aspidoptera falcata</i> <i>Trichobius phyllostomae</i>
	81 - 100	<i>Megistopoda proxima</i> <i>Aspidoptera falcata</i>