



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Trabalho de Conclusão de Curso

**O REFLEXO “UNKEN” E A COLORAÇÃO APOSEMÁTICA NOS
SAPOS-DE-BARRIGA-VERMELHA (*MELANOPHRYNISCUS*
GALLARDO, 1961) SÃO ESTRATÉGIAS DEFENSIVAS EFICIENTES
CONTRA PREDADORES VISUALMENTE ORIENTADOS?**

Debora Wolff Bordignon

Orientador: Prof. Dr. Márcio Borges Martins

Porto Alegre, junho de 2016.

O reflexo “unken” e a coloração aposemática nos sapos-de-barriga-vermelha (*Melanophryniscus* Gallardo, 1961) são estratégias defensivas eficientes contra predadores visualmente orientados?

Orientador: Prof. Dr. Márcio Borges Martins

Co-orientadores: Dr. Patrick Colombo e MSc. Valentina Zaffaroni Caorsi

Banca Examinadora:

MSc. Adriana Moriguchi Jeckel

Dr. Alexandro Marques Tozetti

Porto Alegre, junho de 2016.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Deisy e ao meu pai Enio, pelo incentivo e dedicação ao longo de toda a minha vida. Por apoiarem minhas escolhas e sempre me fazerem ver o lado bom das coisas. Vocês são os responsáveis pelas minhas conquistas e por quem eu sou. Meu maior orgulho é ser um pedaço de vocês.

Aos meus irmãos, Mateus e Vitor, por me mostrarem que a coisa mais importante do mundo é ter alguém para contar e compartilhar as alegrias da vida. Por me fazerem ter orgulho de vocês, cada vez mais.

Ao Marcelo, por simplesmente ser o meu porto seguro. Pelo amor, parceria e carinho ao longo de quase quatro anos, e por ficar feliz pelo simples fato de me ver feliz. Por ser assim, exatamente assim, sem tirar nem por.

Ao meu orientador, Prof. Márcio, pelas grandes ideias, incentivo, auxílio e suporte não só ao longo desse estudo, mas também em todos os momentos desde o dia em que passei a fazer parte do grande time do laboratório.

Ao melhor coorientador que eu poderia ter escolhido, Patrick (KO), pela amizade, risadas, dedicação sem fim e imensa participação em todas as etapas, desde o primeiro dia que eu bati na porta. Pelo “tomooooou”, porque aqui cabe, e por ter feito por esse trabalho o que sequer a Betty Faria.

A minha também melhor coorientadora, Valen, por ter me escolhido lá no início como dupla de campo e despertado em mim a vontade de descobrir cada pequena coisa sobre o mundo dos anfíbios. Pela parceria, por sempre achar a solução e por ser uma das melhores pessoas que eu já conheci.

À Ju, por ser essa amiga inacreditável. Por estar do meu lado sempre e se preocupar com a minha felicidade. Pelos sonhos já realizados e pelos que ainda estão por vir. Pela força, parceria e amizade há mais de cinco anos. Por ser minha irmã da vida, de coração.

Aos também participantes desse trabalho:

Bibs (Dibs, Bebs) por ter me acolhido nos momentos de angústia, pelo carinho, amizade e apoio de sempre. Por ter sido fundamental para a realização do trabalho e estar ocupando um espaço cada vez maior no meu coração. Por ser esse “serumaninho” maravilhoso, que realmente não tem como não amar, em todos os sentidos.

Mimi, pela enorme preocupação, carinho e disponibilidade em todos os momentos. Pelo auxílio na metodologia, parceria em campo, revisão da escrita e elaboração de ideias. Pela grande amizade e por ser uma inspiração ao longo de todo o projeto.

Isma, pela grande ajuda com a parte metodológica e estatística, pela disponibilidade, e por ter tornado esse mundo estranho do R uma coisa mais fácil.

Aos amigos e também ajudantes de campo: Deb, Deivid, Mila e Thay, pela parceria sem fim e por terem topado passar frio na FLONA para tornar esse trabalho possível. Por rirem das minhas piadas mais ou menos e pela grande amizade.

Ao Di, pelo acolhimento e ajuda em diversos momentos, seja com o espectrofotômetro, amassando massinha de modelar, revisando o TCC, dando sugestões, ajeitando referências ou dedicando um tempo para o que quer que seja.

À Prof. Laura pela inspiração e a absolutamente todos os colegas do laboratório de herpetologia da UFRGS, em especial: Erika, Karol, Lidi, Luz, Mari, Mariano, Marlu, Matheus, Natizinha, Pri, Rê Perez, Vini Santos e todos os já citados acima, e às amigas Fê e Júlia, que me ajudaram a fazer os intermináveis modelos de massinha de modelar e tornaram esses momentos mais alegres.

À Carol, por me mostrar a amizade verdadeira, por todo apoio ao longo desses anos, pelas alegrias compartilhadas e pela sintonia que é sempre a mesma.

Aos meus melhores amigos, Rafa e Vitor, por compartilharem comigo os melhores anos até hoje. Por fazerem a minha vida mais leve e pela parceria e amizade de tanto tempo.

A toda a minha família, aos demais amigos de laboratório e da Bio, que me acompanham desde o início dessa jornada e fazem de mim uma pessoa mais feliz.

À Edenice Brandão Ávila de Souza e à equipe da FLONA por terem possibilitado a realização do experimento. Ao ICMBio, pela licença de coleta (No. 52119-1), ao Luiz Gustavo Pereira, do Instituto de Física da UFRGS, pelo empréstimo e auxílio na utilização do espectrofotômetro e ao Ronaldo Gemerasca, artesão do Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do RS, pela confecção dos moldes utilizados durante esse trabalho.

Manuscrito formatado segundo as regras editoriais
do Jornal Alemão de Herpetologia: SALAMANDRA.
(SALAMANDRA - German Journal of Herpetology),
com algumas exceções, visando a melhor compreensão.

As tabelas e figuras seguem ao longo do texto.

O reflexo “unken” e a coloração aposemática nos sapos-de-barriga-vermelha (*Melanophryniscus* Gallardo, 1961) são estratégias defensivas eficientes contra predadores visualmente orientados?

DEBORA WOLFF BORDIGNON¹, VALENTINA ZAFFARONI CAORSI¹, PATRICK COLOMBO³,
MICHELE ABADIE², ISMAEL VERRASTRO BRACK², BIBIANA TERRA DASOLER¹ & MÁRCIO
BORGES-MARTINS¹

¹) Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Cep 91501-970, Porto Alegre, Brasil

²) Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Cep 91501-970, Porto Alegre, Brasil

³) Museu de Ciências Naturais, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Cep 90.690-000, Porto Alegre, Brasil

Autor correspondente: DEBORA WOLFF BORDIGNON, e-mail: deborawbordignon@gmail.com

Resumo: Os sinais aposemáticos de um indivíduo, assim como a postura corporal, podem ser importantes para sua defesa contra predadores. As espécies do gênero *Melanophryniscus* caracterizam-se por possuir alcaloides lipofílicos tóxicos na pele e apresentar coloração ventral avermelhada, a qual pode ser exibida a partir da postura defensiva chamada de reflexo “unken”. Ambos comportamento e padrão de coloração são descritos como mecanismos de defesa, contudo, ainda não existem estudos testando a sua eficácia. O presente trabalho buscou avaliar experimentalmente se a coloração conspícua ventral dos membros e a posição de reflexo “unken” em *Melanophryniscus cambaraensis* funcionam como sinais aposemáticos contra predadores visualmente orientados. Foram utilizados três tipos de modelos de sapo de massa de modelar para simular indivíduos da espécie em estudo: (a) corpos e extremidades verdes em posição normal, (b) corpos e extremidades verdes em posição de reflexo “unken” e (c) corpos verdes e extremidades vermelhas em posição de reflexo “unken”. Os modelos foram distribuídos tanto sobre o sítio reprodutivo da espécie quanto no interior da floresta adjacente. Os resultados demonstraram que mais da metade dos ataques nos modelos distribuídos sobre a floresta foram de aves, contudo, não houve preferência por nenhum tipo de modelo. Assim, apenas a presença da coloração vermelha associada à posição estática de reflexo “unken” parece

não ser suficiente para evitar o ataque de potenciais predadores. É possível que o sinal aposemático efetivo em *Melanophryniscus* possa se dar por meio do movimento de reflexo “unken” unido à posterior exibição da coloração de alerta e à secreção de toxinas. Além disso, observou-se uma tendência maior de ataques na região da cabeça nos modelos em posição normal, quando comparados aos modelos em reflexo “unken”, o que sugere que esse comportamento pode confundir o predador. Em relação aos modelos colocados sobre o sítio reprodutivo, não houve tentativa de predação por aves, o que pode indicar que a agregação reprodutiva, em um local específico, pode facilitar o aprendizado e induzir uma resposta mais eficiente nos predadores.

Palavras-chave. *Melanophryniscus cambaraensis*, Anfíbios, defesa, predação, Mata Atlântica, espécie ameaçada.

“Running” título: O reflexo “unken” e a coloração aposemática nos sapos-de-barriga-vermelha são eficientes?

Abstract: Aposematic signals as well as body behaviors may be important for its anti-predator defenses. Species of the genus *Melanophryniscus* are characterized for having toxic lipophilic alkaloids in the skin and also for presenting a red ventral coloration, which can be observed when they perform the defensive behavior called unken reflex. Both the reflex behavior and the coloration pattern are described as defense mechanisms. However, there are no studies testing its effectiveness. This study aimed to evaluate experimentally if both ventral conspicuous coloration of the members and unken reflex in *Melanophryniscus cambaraensis* work as aposematic signals against the visually oriented predators. We used three types of clay toad models to simulate the species studied: (a) green bodies and extremities in a normal position, (b) green bodies and extremities in unken reflex position and (c) green bodies and red extremities in unken reflex position. All models were distributed on a reproductive site known for the species and inside the adjacent forest. The results have showed that more than a half of the attacks in the models distributed on the forested area were from birds; however, there was no preference for any model type. Thus, just the presence of the red color associated with the motionless unken reflex position does not seem to be enough to prevent attacks from potential predators. It is possible that the effective aposematic signal in *Melanophryniscus* is achieved through the unken reflex movement attached to the subsequent exhibition of the warning coloration and to the secretion of toxins. Moreover, we observed a greater tendency of attacks

in the head of the models in normal position when compared to unken reflex models, suggesting that this behavior may confuse the predator. Regarding the models placed on the reproductive site, there was no attempt to predation by birds. Therefore, this may indicate that the reproductive aggregation, in a specific site, may increase learning and induce a more effective response from the predators.

Keywords. *Melanophryniscus cambaraensis*, Amphibian, defense, predation, Atlantic forest, endangered species.

Running head. Are the unken reflex and the aposematic coloration efficient in the Red-Bellied Toads?

Introdução

Organismos que possuem substâncias químicas tóxicas podem exibir colorações conspícuas como sinais visuais de toxicidade (POULTON 1890, COTT 1940). Sinais aposemáticos são amplamente empregados na natureza a fim de transmitir que um indivíduo é impalatável, nocivo, ou potencialmente perigoso para seus predadores (FORSMAN & HERRSTRÖM 2004, COMEAULT & NOONAN 2011), e essa estratégia evolutiva tem sido observada em uma grande variedade de táxons, incluindo moluscos, artrópodes, peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos (EDMUNDS 1974, RUXTON et al. 2004). A eficácia dos sinais aposemáticos depende da capacidade do predador de relacionar a coloração conspícua da presa com uma desvantagem (RUXTON et al. 2004, MAPPES et al. 2005, DARST et al. 2006). Assim, a maioria dos predadores podem aprender a evitar organismos aposemáticos a partir de experiências anteriores (RUXTON et al. 2004, MAPPES et al. 2005). Experimentos de aposematismo e mimetismo com espécies da família Dendrobatidae, demonstraram que galinhas domésticas (*Gallus domesticus*) aprenderam a associar a coloração aposemática das presas com o sabor que elas apresentavam, evitando inclusive a predação de espécies mímicas e menos tóxicas dentro dessa família (DARST & CUMMINGS 2006, DARST et al. 2006). Contudo, a resposta dos predadores perante os sinais aposemáticos também pode ser inata (ENDLER & MAPPES 2004, RUXTON et al. 2004). Estudos de predação em serpentes venenosas indicaram que aves inexperientes foram capazes de evitar os padrões aposemáticos de algumas espécies sem nunca terem tido contato anterior com elas (e.g. SMITH 1975, POUGH 1988).

Além da coloração, os sinais comportamentais de um organismo também podem ser importantes para sua defesa, de forma que diversas posturas podem demonstrar a impressão de maior tamanho corporal ou agressividade e exibir as zonas com maiores concentrações de substâncias tóxicas do indivíduo (DUELLMAN & TRUEB 1994). Um comportamento compartilhado por diferentes famílias de anfíbios é o denominado reflexo “unken”, que foi descrito pela primeira vez por HINSCHÉ (1926) para a espécie *Bombina bombina*, nativa da Europa Ocidental, sendo “unken” o termo em alemão para o gênero *Bombina* (HÖDL & AMÉZQUITA 2001). Durante o reflexo “unken”, o indivíduo arqueia todo o corpo, elevando a cabeça e a região posterior (HINSCHÉ 1926, BAJGER 1980). As extremidades ficam expostas e a zona ventral das mãos, pés e garganta podem ser exibidas. Essa postura está geralmente associada a colorações ventrais aposemáticas e, supostamente, à presença de substâncias tóxicas (GRIFFITHS 1995), podendo ser observada em espécies de anuros de gêneros como *Bombina* (Bombinatoridae) (HINSCHÉ 1926), *Melanophryniscus* (Bufonidae) (FERNÁNDEZ 1926), *Pseudophryne* (Myobatrachidae) (WILLIAMS et al. 2012), *Rana* (Ranidae) (HABERL & WILKINSON 1997) e *Smilisca* (Hylidae) (FIRSCHÉIN 1951), sendo nesses dois últimos gêneros sem a presença de coloração aposemática, e, em urodelos, para espécies de gêneros como *Taricha* e *Triturus* (Salamandridae) (JOHNSON & BRODIE 1975, BRODIE 1977).

A partir da exibição da coloração aposemática, supõe-se que o reflexo “unken” possa ser eficiente principalmente contra predadores orientados pela visão. Sabe-se que as aves podem ser os principais predadores de diversas espécies aposemáticas, incluindo sapos da família Dendrobatidae (MASTER 1999), e que possuem um dos mecanismos mais elaborados de visão de cores dentro dos vertebrados (BOWMAKER et al. 1997). No entanto, eventos de predação são raramente observados na natureza e ainda existe pouca evidência experimental registrando o ataque de predadores. Um método utilizado em estudos de curto prazo consiste em obter marcações de ataques em réplicas macias (como massa de modelar) das espécies de interesse (MADSEN 1987, BRODIE 1993). Essa abordagem tem sido bastante útil, pois permite a identificação de predadores através da análise das impressões deixadas sobre a superfície das réplicas (e.g. BRODIE 1993, SAPORITO et al. 2007, HEGNA et al. 2011, HEGNA et al. 2013). Diversos trabalhos utilizam massa de modelar para avaliar taxas de predação em espécies que possuem coloração de alerta na região dorsal dos indivíduos (e.g. BRODIE 1993, KUČHTA 2005, SAPORITO et al. 2007, PALUH et al. 2014, PALUH et al. 2015). Contudo, ainda não existem estudos de predação em espécies que possuem coloração aposemática localizada na região ventral dos indivíduos, e que pode ser exibida a partir do comportamento de reflexo “unken”.

O gênero *Melanophryniscus* GALLARDO, 1961 pertence à família Bufonidae e inclui 29 espécies válidas (FROST 2016), as quais são conhecidas popularmente como sapinhos-de-barriga-vermelha. Sua distribuição geográfica é exclusivamente neotropical e restrita ao sudeste da América do Sul (ZANK et al. 2014). As espécies do gênero secretam toxinas da pele, como alcalóides e bufadienolídeos (e.g. DALY et al. 2005, JECKEL et al. 2015) e apresentam o comportamento de reflexo “unken” supostamente para sua defesa, o que possibilita a exibição da coloração vermelha ou alaranjada do ventre quando são perturbadas (FERNÁNDEZ 1926, KWET et al. 2005, SANTOS & GRANT 2011, CAORSI et al. 2014). O sapinho-de-barriga-vermelha, *Melanophryniscus cambaraensis* BRAUN & BRAUN, 1979 faz parte das três espécies do gênero *Melanophryniscus* que possui coloração dorsal verde (Fig.1A) e sua coloração ventral pode variar de vermelho a laranja (BRAUN & BRAUN 1979, CAORSI et al. 2012) (Fig.1B). A coloração conspícua do ventre e o comportamento de reflexo “unken” dessa espécie, assim como para as demais do gênero, têm sido sugeridos como prováveis mecanismos de defesa para evitar predadores (e.g. CAORSI et al. 2014). Contudo, esses estudos se limitam a descrever o comportamento em si, e não quando relacionados a eventos ou indícios de predação. Trabalhos que testem a efetividade do reflexo “unken”, portanto, são fundamentais para entender os padrões de interação das presas que realizam esse comportamento com seus predadores. Caso ambas as estratégias realmente funcionassem como mecanismos de defesa eficientes, esperava-se encontrar uma maior taxa de tentativas de predação nos modelos controle da espécie, na posição em que geralmente é encontrada na natureza. Da mesma forma, esperava-se que a taxa de tentativas de predação no sítio reprodutivo da espécie fosse maior do que no interior da floresta, devido a maior densidade de indivíduos agregados durante os eventos de reprodução.

O presente estudo teve como objetivo avaliar experimentalmente, com modelos de massa de modelar, se a coloração conspícua e o mecanismo de reflexo “unken” em *Melanophryniscus cambaraensis* funcionam como sinal aposemático efetivo contra predadores visualmente orientados em condições naturais. A partir disso, buscou-se testar tanto o efeito da coloração vermelha associada ao reflexo “unken” quanto o comportamento de reflexo “unken” de maneira independente.

Material e métodos

A espécie modelo

O sapinho-de-barriga-vermelha, *Melanophryniscus cambaraensis* (Fig.1A e B) é endêmico do Planalto das Araucárias, microrregião dos Campos de Cima da Serra, Rio Grande do Sul, Brasil. Até o momento foram descritas apenas duas populações dessa espécie, localizadas nos municípios de São Francisco de Paula e Cambará do Sul (GARCIA & VINCIPROVA 2003). A espécie caracteriza-se por apresentar reprodução explosiva, assim como outras representantes do gênero *Melanophryniscus*, podendo ocorrer em intervalos regulares ao longo de todo o ano (SANTOS et al. 2010, CAORSI 2011). Os eventos reprodutivos estão associados a chuvas fortes e à formação de riachos temporários, para onde os indivíduos migram e se reproduzem em um curto período de tempo (SANTOS et al. 2010, CAORSI 2011). A espécie consta na categoria “Dados Insuficientes” em nível global (IUCN, 2004) e na categoria “Vulnerável” pela Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção do Ministério do Meio Ambiente (Portaria MMA nº 444/2014) e pela Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção do Rio Grande do Sul (Decreto Estadual Nº 51.797 de 8 de setembro de 2014).

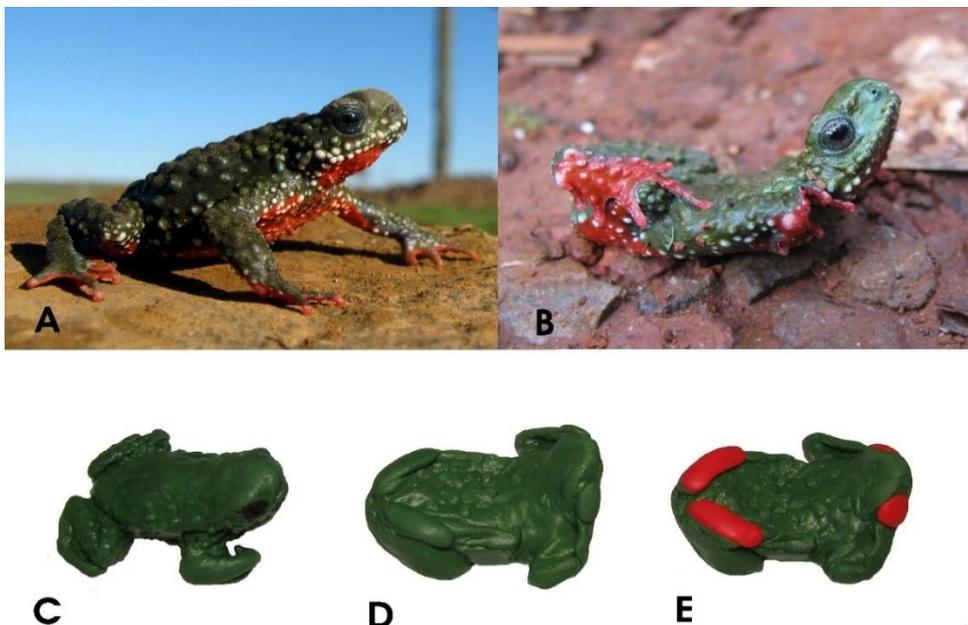


Figura 1. Indivíduos de *Melanophryniscus cambaraensis* (A) em posição normal e (B) em posição de reflexo “unken” (porém com os olhos abertos) exibindo a coloração das extremidades dos membros. Modelos de massa de modelar da espécie (C) verdes em posição normal, (D) com extremidades verdes em posição de reflexo “unken” e (E) com extremidades vermelhas em posição de reflexo “unken”.

Área de estudo

A Floresta Nacional de São Francisco de Paula (FLONA SFP) (29° 25' 41.3" S, 50° 23' 44.5" W, altitude máxima de 923 m) é uma unidade de conservação ambiental de uso sustentável constituída por uma área de 1.606 ha inserida no Planalto das Araucárias, microrregião dos Campos de Cima da Serra, Rio Grande do Sul, Brasil. A cobertura florestal de espécies é composta por mata nativa, sendo a Floresta Ombrófila Mista a formação dominante. O clima do local é classificado como Temperado Superúmido, com temperaturas variando de -3 a 18 °C nos meses de inverno e de 18,3 a 27 °C nos meses de verão, com média anual de 14,5 °C e pluviosidade superior a 2.000 mm ao ano, sendo considerado um dos mais úmidos do estado (MALUF 2000, BACKES et al. 2005).

O estudo foi realizado entre os dias 30 de abril e 06 de maio de 2016 em torno de um dos sítios reprodutivos conhecidos para a espécie, localizado em um afloramento rochoso (29° 25' 41.3" S, 50° 23' 44.5" W, 866 m acima do nível do mar) na borda de uma estreita estrada de terra (Fig.2A). O sítio possui cerca de 20 m de comprimento e 4 m de largura e a vegetação local é parcialmente composta por gravatás (*Eryngium* sp.) e gramíneas (Poaceae). Ambos os lados da estrada são compostos por floresta de araucária plantada (Fig.2B), arbustos e ciperáceas (SANTOS et al. 2010, CAORSI 2011), onde foram encontrados indivíduos adultos de *Melanophryniscus cambaraensis* a uma distância de até 120 m do sítio reprodutivo (V.CAORSI, observação pessoal).



Figura 2. Áreas de estudo na FLONA SFP. (A) Sítio reprodutivo da espécie localizado na borda da estrada de terra e (B) interior da floresta adjacente ao sítio reprodutivo.

Desenho dos modelos

Um total de 900 modelos de massa de modelar pré-colorida e atóxica (Sculpey III® e Acrilex®) foram construídos a mão a partir de moldes de borracha. Para a confecção desses moldes foi utilizado um exemplar de *Melanophryniscus cambaraensis* depositado na coleção herpetológica da Fundação Zoobotânica do RS (MCN 13459) e que apresenta o tamanho corporal médio (SVL $32 \pm 1,6$) descrito para a população de São Francisco de Paula (V. CAORSI, dados não publicados). Os modelos foram diferenciados em três tratamentos: (a) corpos e extremidades verdes em posição normal (como são encontrados geralmente na natureza) (normal) (Fig.1C), (b) corpos e extremidades verdes em posição de reflexo “unken” (“unken” verde) (Fig.1D) e (c) corpos verdes e extremidades vermelhas em posição de reflexo “unken” (“unken” vermelho) (Fig.1E), totalizando 300 exemplares de cada tratamento. Foi utilizado um marcador permanente (Sharpie®) preto para colocar os olhos apenas nos modelos em posição normal, uma vez que os indivíduos podem fechar ou cobrir os olhos com as mãos durante a realização do reflexo “unken” (BAJGER 1980, KUCHTA 2005).

Sabe-se que as aves possuem visão tetracromática, envolvendo o uso de quatro cones individuais, sendo um deles sensível a luz ultravioleta. Além disso, elas são capazes de detectar colorações brilhantes a partir de um tipo adicional de cones, conhecidos como “cones duplos”, relacionados com a visão de luminosidade (BOWMAKER et al. 1997, CUTHILL 2006). Dessa forma, foi utilizado um espectrômetro “Ocean Optics”, versão 2200 SD para os testes de refletância e comparação de cor entre os modelos, e todas as medições obtidas foram realizadas sob condições de luz padrão. Um indivíduo de *Melanophryniscus cambaraensis* foi coletado para a realização dos experimentos e para a avaliação da capacidade de refletir luz ultravioleta. O trabalho foi realizado com a autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, sob a Licença de coleta do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade, número 52119-1. O indivíduo de *M. cambaraensis* coletado encontra-se depositado na coleção herpetológica do Laboratório de Herpetologia da UFRGS (UFRGS 7317). A fim de garantir que as cores dos modelos fossem compatíveis com as da espécie em seu ambiente natural, foram realizadas medições dos comprimentos de onda do indivíduo coletado e da massa de modelar escolhida. As cores dos modelos foram misturadas até obterem-se padrões gerais de refletância da luz (pico de verde em 550 nm; pico de vermelho em 650 nm) e de intensidade de radiação (verde: 120 counts; vermelho: 160 counts) semelhantes aos observados para o espécime. Tanto o indivíduo, a massa de modelar e o marcador permanente não refletiram luz UV.

Desenho experimental

Foram distribuídos 810 modelos no interior da floresta ao longo de 18 transecções, espaçadas 20 m entre si. As transecções iniciavam a partir da extremidade mais próxima ao sítio reprodutivo, perpendiculares à estrada de terra, e seguiam 90 m para dentro da floresta adjacente. Cada transecção continha 15 blocos com três diferentes modelos, um de cada tratamento (normal, “unken” verde e “unken” vermelho), os quais tiveram sua ordem de posicionamento aleatorizada dentro de cada bloco. Os blocos foram espaçados a cada 6 m, e os modelos, dentro dos blocos, a cada 1 m. Para remover quaisquer efeitos crípticos dos modelos (BRODIE 1993), metade dos blocos foi colocada diretamente sobre o chão da floresta e metade sobre placas plásticas brancas e foscas de 9 cm x 9 cm, resistentes à chuva. Para cada bloco colocado diretamente sobre o chão, outro foi colocado sobre o fundo branco, visando garantir maior homogeneidade ao experimento. Os modelos restantes (30 de cada tratamento) foram distribuídos aleatoriamente sobre o sítio reprodutivo da espécie, localizado na borda da estrada de terra. Metade dos modelos de cada tratamento foi colocada diretamente sobre a vegetação e a outra metade sobre o fundo branco, de maneira aleatória.

Após 72h de exposição, os 900 modelos foram recolhidos, fotografados e o número de ataques foi registrado. Para evitar perturbação, os locais não foram visitados entre a distribuição e a retirada dos modelos.

Quantificação de ataques e análise de dados

Cada modelo foi classificado como atacado (com tentativa de predação) ou não atacado. Adicionalmente, a posição do ataque (anterior, posterior ou ambos) foi registrada. Múltiplas marcas em um só modelo foram consideradas como uma única tentativa de predação, a fim de evitar que ataques de um mesmo predador fossem atribuídos a predadores diferentes (BRODIE 1993). As marcas de ataque foram classificadas de acordo com o tipo de predador, os quais foram incluídos em quatro categorias: (1) Aves; (2) Mamíferos; (3) Artrópodes ou (4) Não-identificados. Tentativas de predação por aves foram reconhecidas por impressões de bico em forma de “U” ou “V”, assim como por riscos largos deixados nos modelos (Fig.3A) (e.g. BRODIE 1993, SAPORITO et al. 2007, HEGNA et al. 2011, MCELROY 2015). Já os mamíferos foram identificados por marcas características de dentes, possivelmente de pequenos roedores (Fig.3B), e os artrópodes, por impressões de mandíbulas ou pequenos entalhes deixados nos modelos (Fig.3C) (BRODIE 1993, PALUH et al. 2014). Marcas na superfície dos modelos que

foram inconsistentes com qualquer uma das outras categorias foram classificadas como “Não-Identificadas” (Fig.3D). No entanto, apenas as marcas de aves foram consideradas como tentativas de predação de interesse, uma vez que mamíferos e artrópodes dependem principalmente de sinais não-visuais para a localização de presas, como a quimiorrecepção, e podem ter sido atraídos para os modelos independente da forma, padrão ou cor que apresentavam (BELL & CARDÉ 1984, VANDER WALL 1998, PALUH et al. 2015).

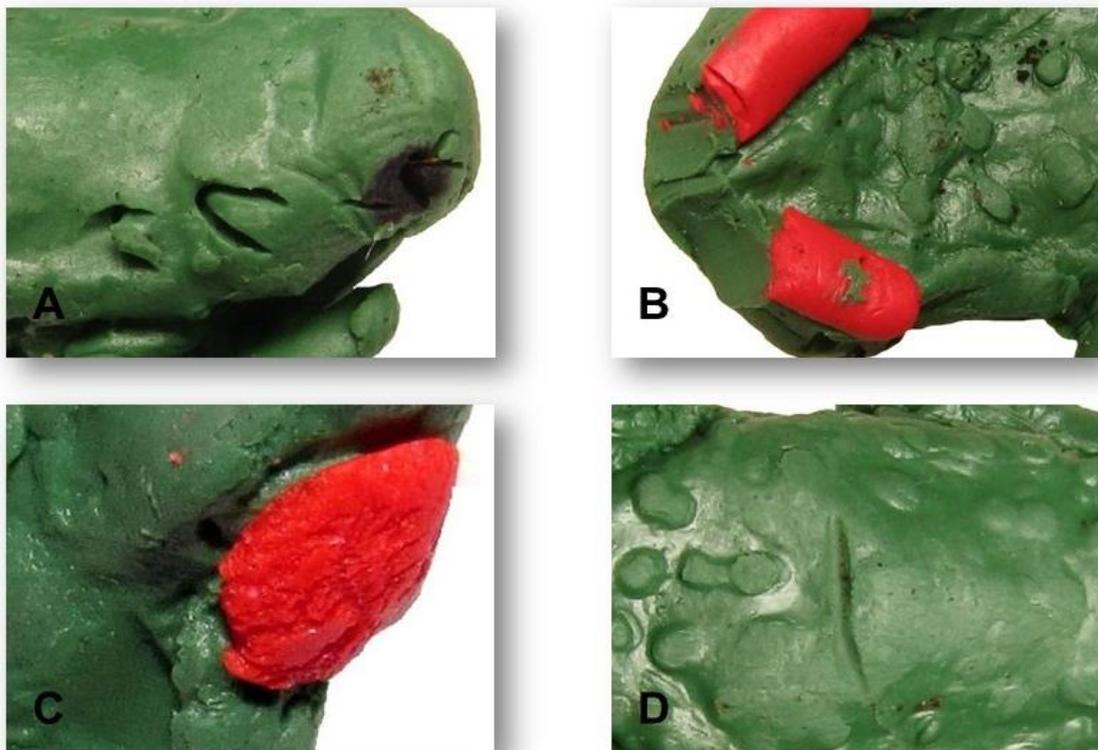


Figura 3. Exemplos de modelos de massa de modelar atacados por (A) ave (B) mamífero, (C) artrópode e (D) não-identificado.

Os modelos não encontrados após as 72h (n= 6) foram assumidos como desaparecidos e excluídos da análise final. Contudo, como alguns dos modelos encontrados após o experimento estavam distantes da posição original e com marcas de ataques de aves, os modelos desaparecidos foram considerados como tentativa de predação em uma segunda análise.

Foi utilizado um modelo linear generalizado da família binomial para determinar se houve variação na taxa de ataques, e se essa foi influenciada pelo tratamento do modelo, cor de

fundo (serapilheira ou branco) e interação entre eles. Para testar a significância das variáveis, foi utilizado o Teste de Razão de Verossimilhança (“Likelihood Ratio Test”). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R versão 3.3.0 para Windows e a significância dos testes foi considerada quando $p < 0.05$.

Resultados

Dos 810 modelos distribuídos na floresta, 86 apresentaram marcas de ataque (10,6%) e seis desapareceram (0,7%), sendo eles três normais e três “unken” verde. As aves foram responsáveis por 50,5% (46) dos ataques, sendo desses, 41,3% (19) nos modelos normais, 39,1% (18) nos modelos “unken” vermelho e 19,3% (9) nos modelos “unken” verde.

Não houve efeito da interação entre o “Tratamento do Modelo” e o “Tipo de Fundo” nas taxas de ataque por aves ($\chi^2 = 2,01$; $p = 0,37$) e o efeito do “Tratamento do Modelo” também não foi significativo ($\chi^2 = 4,59$; $p = 0,10$), o que demonstra que não houve preferência de aves por nenhum dos três tipos de modelos. Do mesmo modo, embora os modelos colocados diretamente sobre a serapilheira (29) tenham sido mais atacados do que os colocados em fundo branco (17) (Tab.1), o “Tipo de Fundo” não teve influência sobre as taxas de ataque ($\chi^2 = 3,42$; $p = 0,06$) (Fig.4). No entanto, quando os modelos desaparecidos foram incluídos em uma segunda análise como tentativas de predação, o “Tipo de Fundo” apresentou-se como uma variável preditora ($\chi^2 = 4,07$; $p = 0,04$), de forma que os modelos colocados diretamente sobre a serapilheira foram em média 1,7 vezes mais atacados por aves do que os modelos colocados sobre o fundo branco. Por outro lado, o “Tratamento do Modelo” ($\chi^2 = 3,30$; $p = 0,19$) e a interação entre o “Tratamento do Modelo” e o “Tipo de Fundo” ($\chi^2 = 1,00$; $p = 0,61$) seguiram sem apresentar efeito sobre as tentativas de predação.

Tabela 1. Número total de modelos atacados e não atacados por aves no interior da floresta, assim como a taxa de ataque para cada tratamento do modelo e tipo de fundo em que foram colocados. Para essa análise, se excluiu os modelos desaparecidos: três normais (dois no fundo branco e um na serapilheira) e três “unken” verde na serapilheira.

Tratamento do Modelo	Normal		“Unken” verde		“Unken” vermelho	
	Branco	Serapilheira	Branco	Serapilheira	Branco	Serapilheira
Atacados por aves	7	12	5	4	5	13
Não atacados por aves	126	122	130	128	130	122
Taxa de ataques	0,053	0,089	0,037	0,030	0,037	0,096

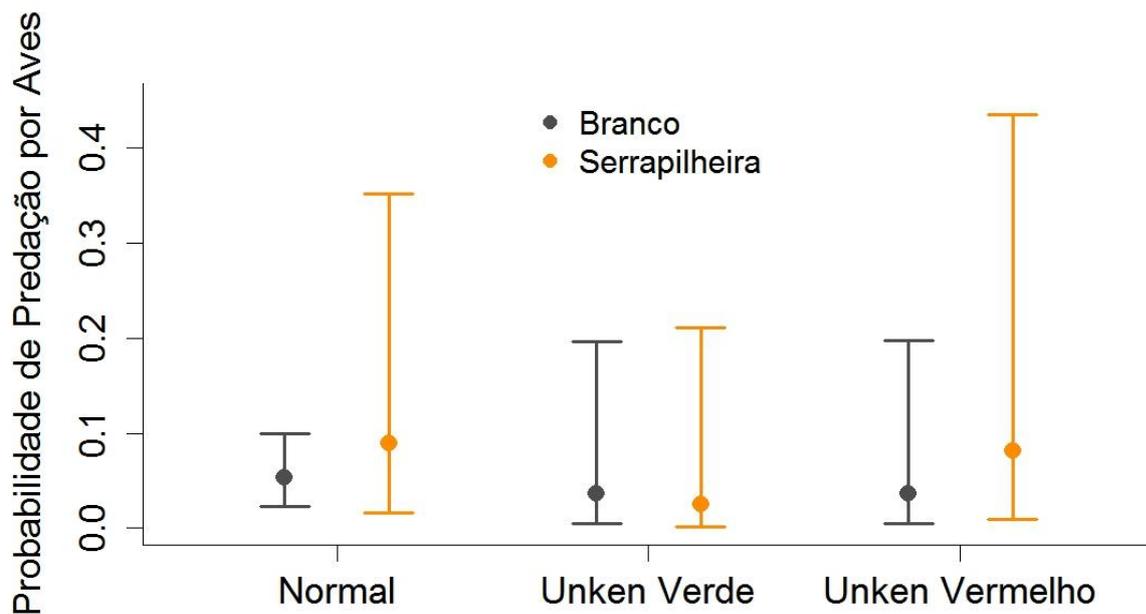


Figura 4. Probabilidade estimada de predação por aves em relação ao tratamento dos modelos (normal = posição normal; “unken” verde = posição de reflexo “unken” com extremidades verdes; “unken” vermelho = posição de reflexo “unken” com extremidades vermelhas) e ao tipo de fundo (branco ou serapilheira) em que foram colocados, excluindo os modelos desaparecidos. As linhas representam os intervalos de confiança ao redor das médias.

Mamíferos, artrópodes e predadores não identificados foram responsáveis por 7,7%, 6,6% e 35,2% dos ataques nos modelos, respectivamente. Os resultados obtidos demonstram que não houve efeito da interação entre “Tratamento do Modelo” e “Tipo de Fundo” ($\chi^2 = 2,01$; $p = 0,37$) nas taxas de predação e, tampouco, preferência por “Tratamento do Modelo” ($P = 0,46$; $\chi^2 = 1,54$) ou “Tipo de Fundo” ($P = 0,43$; $\chi^2 = 0,62$) por esses animais.

Dos 90 modelos colocados sobre o sítio reprodutivo, apenas cinco foram atacados, sendo dois deles por mamíferos e três por artrópodes. Nenhum modelo foi perdido ou atacado por ave. Uma vez que não houveram evidências de predação de interesse, não foram realizadas análises estatísticas para esses resultados.

Embora o experimento não tenha sido desenhado para avaliar se houve diferença entre a localização dos ataques de aves no corpo dos modelos, considerou-se importante comentar sobre os resultados observados no experimento realizado dentro da floresta. Nos modelos em posição normal, aproximadamente 70% dos ataques localizaram-se na parte anterior do corpo, principalmente na região da cabeça e dos olhos. Enquanto isso, 26% dos ataques localizaram-se tanto na região anterior quanto na posterior e 5% localizaram-se na região posterior. Já em

relação aos dois tratamentos dos modelos em posição de reflexo “unken”, a taxa de ataques na região anterior foi de apenas 30%, enquanto 52% dos ataques estavam localizados tanto na região anterior quanto posterior e 18% estavam localizados apenas na região posterior dos modelos.

Discussão

Os resultados obtidos nesse trabalho demonstraram que a taxa de predação por aves não variou entre os modelos de *Melanophryniscus cambaraensis* em posição normal e em posição de reflexo “unken” com e sem a presença de coloração conspícua. Assim, a simples exibição de partes do corpo com coloração de aviso em *Melanophryniscus* a partir do reflexo “unken” parece não ser eficiente contra predadores visualmente orientados.

A proporção de modelos atacados no presente trabalho (10,6%) é comparável com a de outros estudos de predação em organismos aposemáticos (e.g. BRODIE 1993, SAPORITO et al. 2007, NOONAN & COMEAULT 2009, CHOTEAU & ANGERS 2011, HEGNA et al. 2011, HEGNA et al. 2013). No entanto, como descrito por BRODIE (1993), réplicas de massa de modelar são estáticas e não possuem repertórios comportamentais, de forma que as frequências de predação estimadas por essa metodologia podem não representar a frequências de ataques reais sobre os indivíduos.

Diversos estudos utilizando massa de modelar sugerem que organismos com coloração aposemática podem apresentar menores taxas de predação quando comparados àqueles que não possuem (e.g. BRODIE 1993, KUCHTA 2005, SAPORITO et al. 2007, PALUH et al. 2014, PALUH et al. 2015). Contudo, em um estudo recente realizado com populações de *Oophaga pumilio* (família Dendrobatidae) no Panamá, HEGNA et al. (2013) concluíram que os modelos de controle não-aposemáticos foram igualmente atacados por aves quando comparados aos modelos aposemáticos da espécie, mas de uma população que ocorria próximo ao local estudado. Uma das explicações sugeridas em HEGNA et al. (2013) é semelhança de cor e forma dos modelos controle com outras espécies venenosas da região, o que poderia ser suficiente para convencer os predadores de que os modelos possuíam algum veneno desagradável. Da mesma maneira, NOONAN & COMEAULT (2009) demonstraram que a taxa de ataque por aves não diferiu entre os modelos locais crípticos e aposemáticos da espécie *Dendrobates tinctorius*, mas sim quando comparada a um novo modelo aposemático que não pertencia ao local de estudo.

Taxas de ataque equivalentes entre diferentes modelos também foram documentadas em estudos de aposematismo e mimetismo com borboletas tropicais (BROWER et al. 1964, COOK et al. 1969), onde modelos de controle não aposemáticos e modelos aposemáticos das espécies estudadas foram igualmente atacados por aves. Para isso, WALDBAUER & STERNBURG (1975) também já haviam sugerido que uma das razões poderia ser a grande semelhança das borboletas controle com uma outra espécie de borboleta impalatável presente no local, diferente da utilizada no experimento. Contudo, as semelhanças de cor ou forma entre modelos aposemáticos de *Melanophryniscus cambaraensis* e outras espécies locais podem não explicar os resultados encontrados no presente trabalho, uma vez que essa espécie apresenta características únicas de coloração e comportamento de defesa conhecidas para a região estudada (SANTOS et al. 2010, P. GARCIA, dados não publicados).

Os resultados obtidos também demonstram que não houve diferença nas tentativas de predação por aves em relação ao “Tipo de Fundo” quando os modelos desaparecidos foram excluídos da análise. Porém, o valor marginal de p (0,06) sugere que talvez o tipo de fundo possa influenciar na resposta dos predadores, uma vez que o número total de modelos atacados na serapilheira (29) foi maior do que o número de modelos atacados sobre o fundo branco (17), independente do tratamento dos modelos. Tal observação é reforçada a partir da inclusão de apenas seis modelos desaparecidos na análise, demonstrando que a taxa de ataque foi aproximadamente 1,7 vezes maior ($p = 0,04$) nas réplicas colocadas sobre a serapilheira (33) do que nas réplicas colocadas sobre o fundo branco (19). Da mesma forma, estudos anteriores com anfíbios (SAPORITO et al. 2007, HEGNA et al. 2011), serpentes (BRODIE 1993) e larvas de mariposa (LINDSTEDT et al. 2008) também observaram que as tentativas de predação por aves foram menores em modelos colocados sobre fundos de alto contraste. A partir disso, possíveis predadores podem ter “desconfiado” da presença de fundo branco associado aos modelos, uma vez que não estão acostumados com esse tipo de fundo na natureza.

Outro fato interessante observado nesse trabalho foram as diferenças na localização de ataques de aves entre as regiões anterior, posterior ou ambas do corpo dos modelos. A taxa de ataques na região da cabeça e próximo aos olhos nos modelos em posição normal foi de aproximadamente 70%, enquanto nos modelos em posição de reflexo “unken”, que não possuíam diferenciação entre a cabeça e a região posterior, foi de apenas 30%. O restante dos ataques foi localizado tanto na região anterior quanto posterior dos modelos ou apenas na região posterior. Dessa forma, pode-se observar que os modelos em posição normal foram aproximadamente 2,3 vezes mais atacados na cabeça do que os modelos em posição de reflexo “unken”. Em seus experimentos, SMITH (1973, 1976) também demonstrou que certas espécies

de aves tiveram uma maior tendência em atacar as presas diretamente atrás da cabeça. Porém, quando a cabeça não foi identificada a partir da forma ou da presença de olhos, as aves atacaram o final dos modelos. SMITH (1973, 1976) sugere ainda que a tendência do predador em atacar a cabeça da presa possa ser uma adaptação para lidar com organismos perigosos, como as serpentes, que podem causar ferimentos com os seus dentes caso a cabeça não esteja imobilizada.

Uma hipótese para explicar os resultados observados no presente trabalho é a de que a posição de reflexo “unken” possa confundir o predador, de maneira que ele não seja capaz de diferenciar entre a região anterior e posterior dos indivíduos. Em uma situação de ameaça, esse comportamento pode ser fundamental para evitar a morte do organismo. Uma vez que as aves percebessem a impalatabilidade da presa a partir de uma bicada, um ataque na região posterior do corpo teria menos chances de ser letal. Assim, sugere-se que a posição de reflexo “unken” também contribua para dificultar a percepção do predador sobre o que é região anterior e posterior do corpo da presa.

Também é importante observar que, embora não tenha sido encontrada diferença nas taxas de ataque de aves em relação aos tratamentos de *Melanophryniscus cambaraensis*, a proporção de ataques nos modelos totalmente verdes em posição de reflexo “unken” (19,3%) foi aproximadamente duas vezes menor do que a dos modelos verdes em posição normal (41,3%) e que a dos modelos com extremidades vermelhas em posição de reflexo “unken” (39,1%). Tal observação pode estar relacionada ao fato de os predadores não terem reconhecido os modelos desse tratamento como uma possível presa, uma vez que a espécie *Melanophryniscus cambaraensis* não apresenta esse fenótipo na natureza. Dessa forma, os modelos com extremidades verdes em posição de reflexo “unken” podem ter sido menos atacados devido as aves nunca terem tido contato anterior com indivíduos reais que representassem esses modelos. Outra consideração relevante é o fato de que apenas os modelos em posição normal tinham a presença de olhos, o que pode ter facilitado a visibilidade dos predadores e, portanto, aumentado sua taxa de ataque.

Em um de seus estudos, HEGNA et al. (2013) levantaram a hipótese de que aves frugívoras ou onívoras poderiam confundir modelos predominantemente vermelhos com frutos encontrados no chão da floresta. Todavia, os resultados obtidos por HEGNA et al. (2013) demonstraram que as aves puderam diferenciar entre modelos vermelhos em forma de sapo e modelos vermelhos em forma de frutos, de maneira que a coloração e a forma dos modelos foram características importantes para a identificação dos diferentes tipos de alimento pelas aves. A partir disso, supõe-se que as aves não tenham confundido os modelos em “unken”

vermelho com algum tipo de fruto ou semente presente na região, pois a forma do corpo e a distribuição da coloração vermelha nesses modelos são aparentemente diferentes do que as encontradas para frutos em geral.

Por outro lado, a eficiência dos sinais aposemáticos está relacionada com a capacidade do predador de aprender e manter uma associação negativa entre o sinal visual e a desvantagem apresentada pela presa. A probabilidade de manutenção do aposematismo é maior quando a frequência do sinal e a densidade de indivíduos aposemáticos disponíveis são mais elevadas (ENDLER & MAPPES 2004, MAPPES et al. 2005, COMEAULT & NOONAN 2011). Uma vez que a densidade da população de *Melanophryniscus cambaraensis* não é alta no local estudado (V.CAORSI, dados não publicados), uma explicação cautelosa para os resultados obtidos seria a de que os predadores poderiam ainda não ter aprendido a associar a coloração vermelha desses indivíduos com uma desvantagem. Além disso, observações pessoais em campo, e que se estendem a outras espécies do gênero *Melanophryniscus*, sugerem que não são todos os indivíduos que realizam o reflexo “unken” em situações consideradas de ameaça, o que pode reforçar a dificuldade de aprendizagem pelo predador. Dessa forma, além da necessidade de encontrar o indivíduo na natureza, o predador precisaria atingir uma frequência mínima de contato com a coloração aposemática da presa, a partir do reflexo “unken”, para desenvolver a aprendizagem.

Além disso, o gênero *Melanophryniscus* é uma das oito linhagens de sapos que sequestram alcaloides da dieta para sua defesa química (DALY et al. 1992, MEBS et al. 2005, DALY et al. 2007). Uma série de estudos incluindo espécies desse gênero têm demonstrado que a diversidade e a composição de alcaloides em anuros que sequestram tais substâncias podem variar tanto temporal quanto espacialmente entre diferentes populações e entre indivíduos da mesma população (SAPORITO et al. 2006, DALY et al. 2007). Em uma mesma população, podem existir indivíduos com uma quantidade e diversidade de alcaloides muito maior do que outros, portanto, seriam esperadas diferenças de toxicidade entre esses indivíduos (SAPORITO et al. 2006, SAPORITO et al. 2007, COLOMBO 2012). Não seria surpresa se a população de *Melanophryniscus cambaraensis* da FLONA SFP tivesse uma composição de alcaloides diferente, e/ou uma menor abundância e riqueza dessas substâncias quando comparada a outras populações eventualmente existentes. Isso tornaria os indivíduos não suficientemente tóxicos para repelir possíveis predadores e poderia ser uma explicação para o fato dos modelos “unken” vermelho terem sido tão atacados quanto os modelos normais.

Contudo, sugere-se que o principal ponto a ser considerado para explicar os resultados obtidos nesse estudo é o fato de o mecanismo de reflexo “unken” caracterizar-se como um

comportamento que envolve movimento, onde o indivíduo eleva os membros anteriores e posteriores do corpo, a fim de exibir a coloração de alerta quando perturbado e assumindo repentinamente uma forma que não é comum ao predador. Em um estudo de predação com a espécie de salamandra *Taricha granulosa*, JOHNSON & BRODIE (1975) também sugerem que a influência da postura e da coloração aposemática da presa não podem ser separadas. Dessa forma, embora o esperado fosse que os modelos na posição de “unken” apresentassem menores tentativas de predação quando comparados aos modelos em posição normal, o experimento utilizou réplicas estáticas do organismo, e a ideia de movimento típica do comportamento de reflexo “unken” não foi apresentada aos possíveis predadores. Em um experimento envolvendo réplicas estáticas e em movimento de *Oophaga pumilio* (família Dendrobatidae), PALUH et al. (2014) demonstraram que os modelos móveis, independente da coloração, foram significativamente mais atacados do que os modelos estáticos da espécie. Dessa maneira, o movimento das presas pode ser um critério importante para a decisão de captura pelos predadores, o que indica que experimentos com modelos imóveis podem não ser os melhores para estimar taxas de predação em um contexto natural. No entanto, PALUH et al. (2014) também sugerem que nem modelos estáticos, nem modelos continuamente em movimento poderiam representar as diferenças de comportamento associadas aos indivíduos em situações reais, o que torna difícil a realização de estudos experimentais de predação.

Além disso, supõe-se que a posição de reflexo “unken”, onde o indivíduo encontra-se arqueado, possa facilitar seu tombamento a partir de uma segunda bicada de ave. Assim, toda a coloração vermelha da região ventral do indivíduo ficaria exposta, e não só as extremidades, o que poderia repelir o predador de maneira definitiva. Outra possibilidade que deve ser considerada é a de que os indivíduos podem liberar as toxinas pela pele durante a realização do reflexo “unken” (BAJGER 1980, V.CAORSI observações pessoais). No momento em que os indivíduos estão arqueados, as glândulas contendo toxinas são pressionadas, secretando os alcaloides, o que propiciaria ao predador entrar em contato com o veneno da presa já em um primeiro ataque. Portanto, a partir de uma primeira bicada, o predador pode tanto entrar em contato com as toxinas da presa quanto virar o indivíduo ao contrário e expor toda a sua coloração conspícua, o que pode, inclusive, fazer com que o predador desista de um novo ataque.

Dessa forma, como apenas a presença da coloração vermelha associada à posição fixa de reflexo “unken” não foi suficiente para evitar o ataque de predadores visualmente orientados nesse trabalho, sugere-se que o verdadeiro sinal aposemático para a espécie possa se dar por

meio da união do movimento realizado durante o reflexo “unken” e a posterior exibição da coloração de alerta, podendo estar vinculada à secreção de toxinas.

Já em relação aos modelos distribuídos sobre o sítio reprodutivo da espécie, não houve tentativa de predação por aves. Contudo, as condições climáticas do local não se assemelhavam às geralmente encontradas durante um evento reprodutivo, o qual está associado à presença de chuvas fortes e à formação de riachos temporários (SANTOS et al. 2010, CAORSI 2011). Por outro lado, e ao contrário do proposto para os modelos no interior da floresta, sugere-se que os predadores podem ter aprendido a evitar os indivíduos de *Melanophryniscus cambaraensis* no sítio reprodutivo devido a espécie encontrar-se agregada nesse local durante os eventos de reprodução explosiva e, assim, possibilitar seu reconhecimento. Dessa forma, o contato anterior com diversos indivíduos da espécie poderia ter favorecido a aprendizagem local dos predadores e, conseqüentemente, uma resposta mais eficiente aos sinais aposemáticos.

A partir do presente trabalho, portanto, sugere-se que a simples exibição dos membros com coloração de aviso em *Melanophryniscus* parece não ser eficiente contra potenciais predadores. A eficiência da postura de reflexo “unken” como estratégia de defesa parece estar relacionada a uma série de fatores atuando em conjunto, que envolvem coloração de alerta, movimento e presença de substâncias tóxicas. Nesse caso, investigar a exibição da coloração de alerta quando associada ao movimento de reflexo “unken” e à liberação de toxinas pode ser o próximo passo para entender melhor o mecanismo de defesa utilizado pelas espécies presentes nesse gênero. Da mesma maneira, supõe-se que possa haver diferenças na aprendizagem de predadores visualmente orientados em relação a agregação dos indivíduos da espécie, uma vez que não houve tentativas de predação por aves no sítio reprodutivo de *M. cambaraensis*. Sendo assim, mais estudos de observação sistemática e experimental em condições naturais são fundamentais para a compreensão dos padrões de predação e dos comportamentos defensivos encontrados para o gênero *Melanophryniscus*, assim como para diversas outras espécies dentro de anfíbios.

Agradecimentos

Agradecemos à Edenice Brandão Ávila de Souza, assim como a toda à equipe da Floresta Nacional de São Francisco de Paula, por terem possibilitado a realização do experimento, ao ICMBio pela licença de coleta (No. 52119-1), ao Luiz Gustavo Pereira, do Instituto de Física da UFRGS, pelo empréstimo e auxílio na utilização do espectrofotômetro e ao Ronaldo Gemerasca, artesão do Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do

RS, pela confecção dos moldes utilizados durante esse trabalho. Agradecemos aos ajudantes de campo Camila, Debora, Deivid e Thayná, pela disponibilidade e companheirismo em todas as etapas. Agradeço ao Diego Alvares, pela grande ajuda e preocupação, e aos demais colegas do laboratório de herpetologia da UFRGS que auxiliaram na confecção dos modelos e tornaram possível a realização desse trabalho. Agradeço ao Marcelo Menoncin e à Juliane Heyde por terem sido fundamentais para o desenvolvimento desse estudo e pelo imenso apoio durante todo o processo.

Referências

- BACKES, A., F. L. PRATES & M. G. VIOLA (2005): Produção de serapilheira em floresta ombrófila mista, em São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil. - *Acta Botanica Brasilica*, **19**: 155-160.
- BAJGER J. (1980): Diversity of defensive responses in populations of fire toads (*Bombina* and *Bombina variegata*). - *Herpetologica*, **36** (2): 133-137.
- BELL, W. J. & R. T. CARDÉ (1984): *Chemical Ecology of Insects*. - Chapman & Hall, London, 521 pp.
- BOWMAKER, J. K., L. A. HEATH, S. E. WILKIE & D. M. HUNT (1997): Visual pigments and oil droplets from six classes of photoreceptor in the retinas of birds. - *Vision Research*, **37** (16): 2183-2194.
- BRAUN, P. C. & C. A. S. BRAUN (1979): Nova espécie de *Melanophryniscus* Gallardo, 1961 do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Anura, Bufonidae). - *Iheringia Série Zoologia*, **54**: 7-16.
- BRODIE, D. E. JR (1977): Salamander antipredator postures. - *Copeia*, 1977 (3): 523-535.
- BRODIE, D. E. III (1993): Differential avoidance of coral snake banded patterns by free-ranging avian predators in Costa Rica. - *Evolution*, **47** (1): 227-235.
- BROWER, L. P., J. V. Z. BROWER, F. G. STILES, H. J. CROZE & A. S. HOWER (1964): Mimicry: Differential advantage of color patterns in the natural environment. - *Science*, **144** (3615): 183-185.

- CAORSI, V. Z. (2011): Comportamento reprodutivo de *Melanophryniscus cambaraensis* (Anura: Bufonidae) na Floresta Nacional de São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil. Trabalho de conclusão de graduação: <http://hdl.handle.net/10183/35327>.
- CAORSI, V. Z., R. R. SANTOS & T. GRANT (2012): Clip or snap? An evaluation of toe-clipping and photo-identification methods for identifying individual Southern red-bellied toads, *Melanophryniscus cambaraensis*. - South American Journal of Herpetology, **7** (2): 79-84.
- CAORSI, V. Z., P. COLOMBO, M. D. FREIRE, I. B. AMARAL, C. ZANK, M. BORGES-MARTINS & T. GRANT (2014): Natural history, coloration pattern and conservation status of the threatened South Brazilian red bellied toad, *Melanophryniscus macrogranulosus* Braun, 1973 (Anura, Bufonidae). - Herpetology Notes, **7**: 585-598.
- CHOTEAU, M. & B. ANGERS (2011): The role of predators in maintaining the geographic organization of aposematic signals. - The American Naturalist, **178** (6): 810-817.
- COLOMBO, P. (2012): Seqüestro e variação geográfica dos alcalóides na defesa química de *Melanophryniscus simplex* (Caramaschi e Cruz, 2002) (Anura, Bufonidae). - Tese de doutorado: <http://tede2.pucrs.br/tede2/handle/tede/236>.
- COMEAL, A. A. & B. P. NOONAN (2011): Spatial variation in the fitness of divergent aposematic phenotypes of the poison frog, *Dendrobates tinctorius*. - Journal of Evolutionary Biology, **24** (6): 1374-1379.
- COOK, L. M., L. P. BROWER & J. ALCOCK (1969): An attempt to verify mimetic advantage in a Neotropical environment. - Evolution, **23** (2): 339-345.
- COTT, H. B. (1940): Adaptive Coloration In Animals. – Methuen & Co., London, 540pp.
- CUTHILL, I. C. (2006): Color perception. Pp.3-40 in: HILL, G. E. & K. J. MCGRAW (eds.) Bird coloration: Mechanisms and measurements. Vol. 1- Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts.
- DALY, J. W., T. F. SPANDE & H. M. GARRAFFO (2005): Alkaloids from amphibian skin: A tabulation of over eight-hundred compounds. - Journal of Natural Products, **68** (10): 1556-1575.
- DALY, J. W., J. M. WILHAM, T. F. SPANDE, H. M. GARRAFFO, R. R. GIL, G. L. SILVA & A. M. VAIR (2007): Alkaloids in bufonid toads (*Melanophryniscus*): Temporal and geographic determinants for two Argentinian species. - Journal of Chemical Ecology, **33**: 871-887.

- DALY, J. W., L. SHERRIE, S. SECUNDA, H. M. GARRAFFO, T. F. SPANDE, A. WISNIESKI, C. NISHIHARA & J. F. Jr. COVER (1992): Variability in alkaloid profiles in Neotropical poison frogs (Dendrobatidae): Genetics versus environmental determinants. - *Toxicon* **30**: 887-898.
- DARST, C. R., & M. E. CUMMINGS (2006): Predator learning favours mimicry of a less-toxic model in poison frogs. - *Nature*, **440** (7081): 208-11.
- DARST, C. R., M. E. CUMMINGS & D. C. CANNATELLA (2006): A mechanism for diversity in warning signals: Conspicuousness versus toxicity in poison frogs. - *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103** (15): 5852-5857.
- Decreto Estadual Nº 51.797 de 8 de Setembro de 2014. Lista de espécies da fauna ameaçada. Diário Oficial do Rio Grande do Sul n.o 173, de 09 de setembro de 2014.
- DUELLMAN, W.E. & L. TRUEB (1994): *Biology of Amphibians*. - Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 670 pp.
- EDMUNDS, M. (1974): *Defence in animals: a survey of anti-predator defences*. - Longman Publishing Group, 357 pp.
- ENDLER, J. A. & J. MAPPE (2004): Predator mixes and the conspicuousness of aposematic signals. - *American Naturalist*, **163** (4): 532-547.
- FERNÁNDEZ, K. (1926): Sobre la biología y reproducción de algunos batracios argentinos. Segunda parte. - *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias en Córdoba*, **29**: 271-320.
- FIRSCHEIN, I. L. (1951): Phragmosis and the "unken reflex" in a Mexican hylid frog, *Pternohyla fodiens*. - *Copeia*, **1951** (1): 74-74.
- FORSMAN, A., & J. HERRETRÖM (2004): Asymmetry in size, shape, and color impairs the protective value of conspicuous color patterns. - *Behavioral Ecology*, **15** (1): 141-147.
- FROST, D. R. (2016): *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.0 (accessed 24 February 2016). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- GARCIA, P. C. A. & G. VINCIPROVA. (2003): Anfíbios. Pp. 147-164. In: Fontana, C.S., G. A Bencke, & R. E. Reis (Eds.). *Livro vermelho da fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul*. EDIPUCRS, Porto Alegre, 632 pp.

- GARCIA, P., A. KWET & D. SILVANO (2004): *Melanophryniscus cambaraensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T54817A11208173.
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T54817A11208173.en>. Downloaded on 01 June 2016.
- GRIFFITHS, R.A. (1995): Newts and salamanders of Europe. - Poyser Natural History. Academic Press, London, 188 pp.
- HABERL W. & J. W. WILKINSON (1997): A note on the “unken” reflex and similar defensive postures in *Rana temporaria* (Anura, Amphibia). - British Herpetological Society Bulletin, **61**: 16-20.
- HEGNA, R. H., R. A. SAPORITO & M. A. DONNELLY (2013): Not all colors are equal: Predation and color polytypism in the aposematic poison frog *Oophaga pumilio*. - Evolutionary Ecology, **27** (5): 831-845.
- HEGNA, R. H., R. A. SAPORITO, K. G. GEROW & M. A. DONNELLY (2011): Contrasting colors of an aposematic poison frog do not affect predation. - Annales Zoologici Fennici, **48** (1): 29-38.
- HINSCHKE, G. (1926): Vergleichende untersuchungen zum sogenannten “unken” reflex. - Biologisches Zentralblatt., **46**: 296-305.
- HÖDL, W. & A. AMÉZQUITA (2001): Visual signalling in anuran amphibians. In: Anuran Communication, (M. J. Ryan, ed.). Smithsonian Inst. Press, Washington. 252 pp.
- JECKEL, A. M., T. GRANT, & R. A. SAPORITO (2015): Sequestered and synthesized chemical defenses in the poison frog *Melanophryniscus moreirae*. - Journal of Chemical Ecology, **41** (5): 505-512.
- JOHNSON, J. A., & E. D. BRODIE (1975): The selective advantage of the defensive posture of the newt, *Taricha granulosa*. - American Midland Naturalist, **93** (1): 139-148.
- KUCHTA, S. R. (2005): Experimental support for aposematic coloration in the salamander *Ensatina eschscholtzii xanthoptica*: implications for mimicry of Pacific newts. - Copeia, **2005** (2): 265-271.
- KWET, A., R. MANEYRO., A. ZILLIKENS & D. MEBS (2005): Advertisement calls of *Melanophryniscus dorsalis* (Mertens, 1933) and *M. montevidensis* (Philippi, 1902), two parapatric species from southern Brazil and Uruguay, with comments on morphological

- variation in the *Melanophryniscus stelzneri* group (Anura: Bufonidae). - *Salamandra*, **41**(1/2): 1–18.
- LINDSTEDT, C., L. LINDSTRÖM, & J. MAPPES (2008): Hairiness and warning colors as components of antipredator defense: additive or interactive benefits? - *Animal Behaviour*, **75**: 1703–1713.
- MADSEN, T. (1987): Are juvenile grass snakes, *Natrix natrix*, aposematically coloured? - *Oikos*, **48** (3): 265-267.
- MALUF, J. R. T. (2000): Nova classificação climática do Estado do Rio Grande do Sul. - *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, **8** (1): 141-150.
- MAPPES, J., N. MARPLES, & J. A. ENDLER (2005): The complex business of survival by aposematism. - *Trends in Ecology and Evolution*, **20** (11): 598-603.
- MASTER, T. (1999): Predation by Rufous Motmot on black-and-green poison dart frog. - *The Wilson Bulletin*, **111** (3): 439-440.
- MCELROY, M. T. (2015): Teasing apart crypsis and aposematism—evidence that disruptive coloration reduces predation on a noxious toad. - *Biological Journal of the Linnean Society*, **117** (2): 285-294.
- MEBS, D., W. POGODA, R. MANEYRO & A. KWET (2005): The alkaloid composition of the poisonous skin secretion of the red bellied toad, *Melanophryniscus montevidensis* (Anura, Bufonidae), from Uruguay. – *Toxicon*, **46**: 641-650.
- Ministério do Meio Ambiente - MMA. Portaria MMA n. 444/2014, de 17 de dezembro de 2014. Diário Oficial da União, Brasília, DF, v. 126, n. 245, p. 121, 18 dez. 2014. Seção 1.
- NOONAN, B. P., & A. A. COMEAULT (2009): The role of predator selection on polymorphic aposematic poison frogs. - *Biology Letters*, **5** (1): 51-54.
- PALUH, D. J., M. M. HANTAK & R. A. SAPORITO (2014): A Test of Aposematism in the Dendrobatid Poison Frog *Oophaga pumilio*: The Importance of Movement in Clay Model Experiments. - *Source Journal of Herpetology Journal of Herpetology*, **48** (2): 249-254.
- PALUH, D. J., KENISON, E. K., & R. A. SAPORITO (2015): Frog or Fruit? The Importance of Color and Shape to Bird Predators in Clay Model Experiments. - *Copeia*, **103** (1): 58-63.

- POUGH, F. H. (1988): Mimicry of Vertebrates: Are the Rules Different? - *The American Naturalist*, **131**: S67-S102.
- POULTON, E. B. (1890): *The Colours of Animals*. - Kegan Paul, Trench, Trubner and Co. Ltd., England, 360 pp.
- RUXTON, G. D., T. N. SHERRATT & M. P. SPEED (2004): *Avoiding Attack: The Evolutionary Ecology of Crypsis, Aposematism, and Mimicry*. - Oxford University Press, 260 pp.
- SANTOS, R. R. & T. GRANT (2011): Diel pattern of migration in a poisonous toad from Brazil and the evolution of chemical defenses in diurnal amphibians. - *Evolutionary Ecology*, **25** (2): 249-258.
- SANTOS, R. R., S. B. LEONARDI, V. Z. CAORSI & T. GRANT (2010): Directional orientation of migration in an aseasonal explosive-breeding toad from Brazil. - *Journal of Tropical Ecology*, **26** (04): 415-421.
- SAPORITO, R. A., M. A. DONNELLY, H. M. GARRAFFO, T. F. SPANDE & J. W. DALY (2006): Geographic and seasonal variation in alkaloid-based chemical defenses of *Dendrobates pumilio* from Bocas del Toro, Panamá. - *Journal of Chemical Ecology*, **32**: 795-814.
- SAPORITO, R. A., R. ZUERCHER, M. ROBERTS, K. G. GEROW & M. A. DONNELLY (2007): Experimental evidence for aposematism in the dendrobatid poison frog *Oophaga pumilio*. - *Copeia* **2007** (4): 1006-1011.
- SMITH, S. M. (1973): A Study of Prey-Attack Behaviour in Young Loggerhead Shrikes, *Lanius ludovicianus L.* - *Behaviour*, **44** (1): 113-140.
- SMITH, S. M. (1975): Predatory Behaviour of Yong Turquoise-Browed Motmots, *Eumomota superciliosa*. - *Behaviour*, **56** (3/4): 309-320.
- VANDER WALL, S. B. (1998): Foraging success of granivorous rodents: Effects of variation in seed and soil water on olfaction. - *Ecology*, **79** (1): 233-241.
- WALDBAUER, G. P. & J. G. STERNBURG (1975): Saturniid moths as mimics: an alternative interpretation of attempts to demonstrate mimetic advantage in nature. - *Evolution*, **29** (4): 650-658.

WILLIAMS, C. R., E. D. BRODIE, M. J. TYLER & S. J. WALKER (2012): Society for the Study of Amphibians and Reptiles Antipredator Mechanisms of Australian Frogs. - Journal of Herpetology, **34** (3): 431-443.

ZANK, C., F. G. BECKER, M. ABADIE, D. BALDO, R. MANEYRO & M. BORGES-MARTINS (2014): Climate change and the distribution of neotropical red-bellied toads (*Melanophryniscus*, Anura, Amphibia): How to prioritize species and populations? - PLoS ONE, **9** (4) e94625.