



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Programa de Pós-Graduação em Zoologia

JOSEMAR DA SILVA MENDES

Tal pai tal filho: impalatabilidade de larvas de *Phyllomedusa bahiana* (Phyllomedusidae: Anura), como defesa anti-predação

Feira de Santana – Bahia

Julho/2018

JOSEMAR DA SILVA MENDES

Tal pai tal filho: impalatabilidade de larvas de *Phyllomedusa bahiana* (Phyllomedusidae: Anura), como defesa anti-predação

Dissertação apresentada a Universidade Estadual de Feira de Santana como pré-requisito do Programa de Pós-Graduação em Zoologia para obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Orientadora: Dra. Flora Acuña Juncá

Feira de Santana – Bahia

Julho/2018

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

Mendes, Josemar da Silva

M491t Tal pai tal filho: impalatabilidade de larvas de *Phyllomedusa bahiana*. (Phyllomedusidae: Anura), como defesa anti-predação./ Josemar da Silva Mendes. – 2018.

71f.: il.

Orientadora: Flora Acuña Juncá

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana. Programa de Pós-Graduação em Zoologia, 2018.

1.Girinos. 2.Anura. 3.Desenvolvimento ontogenético. 4.Substâncias tóxicas. I.Juncá, Flora Acuña, orient. II.Universidade Estadual de Feira de Santana. III.Título.

CDU: 597.8

Maria de Fátima de Jesus Moreira – Bibliotecária – CRB5/1120

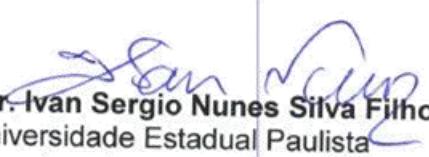
JOSEMAR DA SILVA MENDES

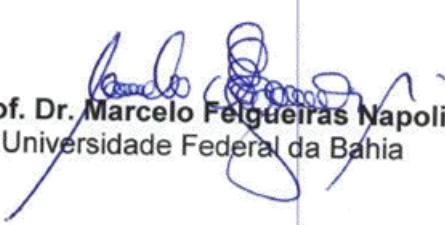
Tal pai tal filho: impalatabilidade de larvas de *Phyllomedusa bahiana* (Phyllomedusidae: Anura), como defesa anti-predação

Aprovado em: 10/07/2018

BANCA EXAMINADORA


Profa. Dra. Flora Acuña Juncá
Universidade Estadual de Feira de Santana
Orientadora e Presidente da Banca


Prof. Dr. Ivan Sergio Nunes Silva Filho
Universidade Estadual Paulista


Prof. Dr. Marcelo Felgueiras Napoli
Universidade Federal da Bahia

Feira de Santana
Julho/2018

“O sonho é que leva a gente para frente. Se a gente for seguir a razão, fica aquietado, acomodado.”

Ariano Suassuna

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar força e a oportunidade de seguir em frente e realizar esse sonho.

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

Agradeço aos meus pais, Elizabete e José, que me mostraram que com muito trabalho, dedicação e esforço qualquer coisa é possível. São responsáveis pela realidade feliz e satisfatória que vivo e a fonte onde encontro à força necessária para continuar. Aos meus avós maternos Rosa e Deudsete (in memoriam), os avós paternos Armozina (in memoriam) e Francisco (in memoriam) que desde cedo sempre acreditaram em mim e me serviram de exemplos ao longo de suas vidas.

Aos meus irmãos, Edilene e Edimar, onde busco o motivo de me tornar um bom exemplo, para poder ajudá-las nas escolhas da vida. Aos meus sobrinhos Laíse e Victor Hugo, por serem fontes de alegria e inspiração em dias nebulosos.

A minha namorada Alana, por toda paciência, compreensão e companheirismo durante todo esse período.

Os meus amigos de longas datas, Clésio, Jacson, Joab, Jonathan, Murilo, José Carlos, Gabriel, Vinicius e Felipe, que sempre estiveram prontos para me apoiar quando precisei, com quem dividi momentos de alegria e tristeza.

A minha orientadora, Flora por acreditar em mim desde o início, por toda calma, dedicação e ter me dado apoio para superar as inúmeras dificuldades encontradas, que me mostrou que sem esforço e dedicação as oportunidades podem se perder, além de ter sido para mim um grande exemplo e motivo para seguir em frente.

À Juliana pela disposição em todos os momentos. Por ser mais que uma companheira de campo, por me aturar durante todo esse período e até mesmo abdicar de seus momentos para me ajudar. Pelas inúmeras risadas em campo e boas lembranças.

À Juliana e Lidi, minhas excelentes companheiras de campo, por tornarem todos os momentos em experiências prazerosas e divertidas. Por toda ajuda acolhimento, conselhos e trocas de experiências diárias no laboratório. Levarei vocês por toda vida.

À Vivian e Lidi por toda ajuda nas análises estatísticas.

Aos grandes amigos que fiz durante a Pós-graduação, Juliana, Lidi, Paulo, Lucas, Diêgo, Rafael, amizades sinceras e que com certeza vou levar para o resto da vida, pois sempre estiveram junto comigo em todos vários trabalhos, pesquisas,

sofrimentos, acertos, erros, tristezas e inúmeros momentos de alegria, que estão imortalizados nas lembranças.

A todos que fazem parte do museu de zoologia, em especial a Conceição, Claudia, Raimunda e Marizete. Por fazerem do museu um lugar tão acolhedor e especial de se trabalhar.

A todos os outros que foram e continuaram sendo de grande importância em minha vida como profissional e como pessoa, deixo-lhes o meu sincero obrigado.

A TODOS VOCÊS, MEU MUITO OBRIGADO!!

Sumário

RESUMO GERAL	8
ABSTRACT	9
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	10
Comportamento animal	10
Padrões comportamentais de defesa.....	10
Larvas de Odonata.....	11
Estratégias defensivas.....	12
Estratégias defensivas em anfíbios	14
Girinos.....	15
Estratégias defensivas em girinos.....	16
Família Phyllomedusidae	20
Girinos de Phyllomedusa.....	21
REFERÊNCIAS	22
Tal pai tal filho: impalatabilidade de larvas de <i>Phyllomedusa bahiana</i> (Phyllomedusidae: Anura), como defesa anti-predação	29
RESUMO	30
INTRODUÇÃO.....	31
MATERIAS E MÉTODOS	33
Área de estudo.....	33
Coleta de dados	33
Espécies utilizadas.....	34
Métodos.....	34
Trabalho experimental.....	34
Análises estatísticas	36
RESULTADOS	37
DISCUSSÃO	39
CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
GRADECIEMTOS	42
REFERÊNCIAS	43
LEGENDAS DAS FIGURAS	49
APÊNDICES	50
TABELAS	54
ANEXOS	55

RESUMO GERAL

Qualquer característica desenvolvida por um organismo que reduza a probabilidade de ser atacado e morto por predadores pode ser considerada um mecanismo defensivo, que são importantes atributos para sobrevivência dos indivíduos. Em anfíbios anuros, as estratégias de defesa envolvem adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais específicas, além do padrão de coloração. Em girinos, estas estratégias podem estar relacionadas também com a fase de desenvolvimento. Ainda, comportamentos de defesa podem ser induzidos, através de sinais de alerta produzidos e liberados por girinos durante um evento de predação, ou por substâncias químicas liberadas pelo predadores no ambiente. A impalatibilidade de girinos de algumas espécies pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento ontogenético. Nossa pesquisa verificou algumas estratégias anti-predatórias utilizadas por girinos de *Phyllomedusa bahiana* durante seu desenvolvimento ontogenético e testou. Verificamos: i) se girinos de *P. bahiana* irão apresentar alterações comportamentais, quando submetidos a um sinal químico do predador, ii) os estágios de desenvolvimento larval mais avançados influenciam positivamente a impalatabilidade de girinos de *P. bahiana*, e iii) se predadores de aparelho bucal do tipo mastigador (náiade de odonata) rejeitam girinos de *P. bahiana*, quando na presença de girinos de *Scinax x-signatus*. Nossos resultados confirmaram que há uma redução na atividade natatória de girinos de *P. bahiana* quando submetidos ao sinal químico do predador e que larvas de odonata evitam se alimentar de girinos de *P. bahiana* em estágios mais avançados de desenvolvimento ontogenético (38-41). Os predadores preferiram os girinos de *Scinax x-signatus* a girinos de *P. bahiana* em todos os estágios de desenvolvimento. Estes resultados indicam que girinos desta espécie são impalatáveis a esse predador e que em *P. bahiana* está presente desde estágios iniciais dos girinos, isso resulta na possível co-ocorrência dessa espécie em ambientes com larvas de Odonata. Respostas antipredatórias em girinos de *P. bahiana*, estão diretamente ligadas ao reconhecimento de pistas diretas e indiretas deixadas pelo predador no ambiente, e ao desenvolvimento ontogenético do girino.

Palavras-chave: Mecanismos antipredação. Substâncias Tóxicas. Desenvolvimento Ontogenético. Girinos. Anura.

ABSTRACT

The features developed on an organism that reduces the probability of being attacked and killed by predators may be considered a defensive mechanism, which are important attributes for the survival of individuals. In anuran amphibians, the defense strategies involve specific morphological, physiological and behavioral adaptations, besides pattern color. In tadpoles, defense strategies can be related with the development stage. Besides, defense behavior can be induced by recognition of warning signs produced and released by tadpoles during a predation event, or also by chemical substances released by predators in the environment. The impalatability of tadpoles of some species can be influenced by the stage of ontogenetic development and intensify as the individual approaches its final phase of metamorphosis. Our study tested which anti-predatory strategies can be found in *P. bahiana* tadpoles during the ontogenetic development. We verified: (i) if *P. bahiana* tadpoles will exhibit behavioral changes when subjected to a chemical signal from the predator, ii) if more advanced stages of larval development influence positively the impalatability, through the appearance of secretory glands of toxic substances of *P. bahiana* tadpoles, and (iii) if predators of chewing type oral devices (odonata naiades) reject tadpoles of *P. bahiana* when in the presence of tadpoles of *Scinax x-signatus*. Our results confirmed that there is a reduction in swimming activity of *P. bahiana* tadpoles when subjected to the chemical predator signal and that odonata larvae avoid feeding on *P. bahiana* tadpoles at more advanced stages of ontogenetic development (38-41). The predators preferred the tadpoles of *Scinax x-signatus* to *P. bahiana* tadpoles at all stages of development. This result indicates that tadpoles of this species are unpalatable to this predator. This impalatability of *P. bahiana* may be present from early stages of tadpoles, which results in the possible co-occurrence of this species in environments with odonata larvae. Responsabilidades antipredatórias in the cannabis of *P. bahiana*, cannon on the canisters of diretas and directas deixada pelo predador no meio ambiente, e ao desenvolvimento ontogenético do girino.

Key words: Anti-predation mechanisms. Toxic Substances. Ontogenetic Development. Tadpoles. Anura.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Comportamento animal

O comportamento reflete a interação entre a biologia molecular, a fisiologia e a ecologia de cada organismo (Snowdon, 1999) e, principalmente, expressa a resposta do sistema nervoso ao ecossistema (Del-Claro, 2004). O comportamento é uma das propriedades mais importantes da vida animal, pois é fundamental nas adaptações das funções biológicas (Alcock, 1998). De uma maneira geral, o comportamento consiste de atos que o animal exibe. Entretanto, essas ações não podem ser restritas apenas aos tipos de locomoção (correr, saltar, nadar, rastejar) ou a outras atividades que em geral derivam de movimentação, tais como cópula, cavação e alimentação.

O comportamento também consiste em outros conjuntos de movimentos sutis, discretos, de pequenas partes do corpo, que podem ocorrer de modo simultâneo a atos mais conspícuos (Alcock, 1998; Del-Claro, 2004).

Snowdon (1999), assim como Del-Claro (2004), acreditam que o estudo do comportamento animal não é um importante campo científico apenas por si próprio, mas também pelas importantes contribuições para outras disciplinas e com aplicações para o estudo do comportamento humano, para as neurociências, para o estudo do bem-estar animal e para a educação de futuras gerações de cientistas, proteção e para o manejo e preservação do meio ambiente e de recursos naturais.

Padrões comportamentais de defesa

Os padrões comportamentais observados diretamente na natureza nos permitem compreender a dinâmica da vida dos animais e suas inter-relações entre espécies, populações, comunidades e ecossistemas (Costa & Nomura, 2014; Werner & Peacor, 2003).

Indivíduos de muitas espécies animais podem alterar características fenotípicas, tais como desenvolvimento, morfologia, fisiologia ou comportamento, em resposta ao risco de predação (Preisser *et al.*, 2005; Santos, 2010). Mecanismos de defesa contra predação são importantes atributos para sobrevivência das espécies, visto que em alguns casos, a predação tem um efeito negativo para população predada, pois pode dizimá-la

por completo (Odum, 2001). Por isso, a interação ecológica predador-presa tem sido um forte fator quando se trata da evolução das espécies.

Qualquer característica desenvolvida por um animal que reduza a probabilidade de ser atacado e morto por predadores pode ser considerada um mecanismo defensivo (Almeida *et al.*, 2010; Edmunds, 1974). Risco de predação é uma força seletiva que pode moldar traços da história de vida de diferentes animais, atuando na evolução dos mesmos (Casillas-Barragán, *et al.*, 2016; Oricchio *et al.*, 2013). Predadores atuam como agentes seletivos na evolução das suas presas, pois todas desenvolveram defesas de natureza comportamental, física, morfológica ou química contra a predação (Almeida *et al.*, 2010; Begon *et al.*, 1990; Dyer, 1995). Assim, características que reduzem a taxa de encontro com predadores ou aumentam as chances de escapar do predador após ser detectado podem ser favorecidas (Casillas-Barragán *et al.*, 2016).

Para que ocorra a predação, um indivíduo deve ser detectado, atacado, capturado, subjugado e consumido pelo predador, sendo que as defesas devem interromper o processo em uma dessas etapas (Begon *et al.*, 2007). Assim, os mecanismos de defesa podem ser divididos em primários, efetivos antes de o predador iniciar o ataque, e secundários, que aumentam as chances de um indivíduo sobreviver ao encontro com o predador (Edmunds, 1974).

Larvas de Odonata

As larvas de Odonata têm papel importante na dinâmica dos ecossistemas aquáticos, são consideradas como um dos principais predadores em ambientes aquáticos (Marco Jr. *et al.*, 1999; Soto & Fernandes-Badillo, 1994), atuando como predadores de outros invertebrados e larvas de peixes. A dieta das Larvas de Odonata é determinada pela disponibilidade das presas e varia em função do tamanho das larvas (Krishnaraj e Pritchard, 1995).

Os representantes da ordem Odonata habitam todos os tipos de ambientes de água doce, apresentando alta diversidade, principalmente nos trópicos (referência). São insetos altamente predadores, sendo as larvas consideradas um dos principais predadores do ambiente aquático, onde elas podem estar associadas à plantas aquáticas ou ao fundo desses corpos d'água (De Marco Jr. & Latini 1998). Exibem primariamente um modo de vida bentônico, o que faz das características do substrato (estrutura física, composição orgânica, estabilidade e heterogeneidade) um dos principais determinantes

na sua distribuição e abundância (Benke 1976). Poucas espécies se encontram restritas a um substrato específico (Corbet 1962, 1980; Petr 1968, 1972; Benke 1976; De Marco *Ir.* & Latini 1998). As alterações temporais e espaciais das variáveis da água, tais como: pH, correnteza, oxigênio dissolvido, temperatura e vazão estão entre as mais importantes (Ward 1992). A distribuição das larvas de Odonata nos ambientes aquáticos está primeiramente relacionada ao adulto. Os locais de oviposição são escolhidos possivelmente de modo visual. Após a oviposição, os imaturos se distribuem no corpo d'água de acordo com suas características morfológicas e comportamentais, procurando satisfazer a três requisitos principais: respiração, alimentação e refúgio, levando-se em conta a oferta de recursos, quantidade de presas e, principalmente, a de predadores (Corbet 1980; Ward 1992).

Estratégias defensivas

O reino animal possui numerosas espécies portadoras de toxinas, ocorrendo diferentes táxons, como Porifera, Anthozoa, Hydrozoa, Scyphozoa, Polychaeta, Gastropoda, Cephalopoda, Insecta, aracnídeos, Peixes, Anfíbios, Reptilia e Mammalia (Junghanss & Bodio 2006). Esses animais podem ser classificados como venenosos e/ou peçonhentos, possuem e estocam algumas substâncias tóxicas que têm como função imobilizar e matar a presa, lubrificar o alimento e promover a digestão, proteção (ataque ou contaminação) e anti-putrefação (Cardoso, 2009).

Animais classificados como peçonhentos são aqueles que possuem líquidos tóxicos inoculados através de dentes especiais, ferrões, aguilhões, cerdas, nematocistos ou pelos, por onde a toxina passa ativamente (Junghanss & Bodio, 2006). Ou seja, possuem um mecanismo especializado que os permite injetar a toxina no organismo de outro animal, onde são usados para satisfazer as necessidades biológicas essenciais do animal peçonhento, tais como autodefesa ou captura de presas para alimentação. Serpentes, escorpiões, aranhas, himenópteros, peixes e cnidários são alguns dos animais que podem ser exemplificados como peçonhentos (Cardoso, 2009).

Os animais tidos como venenosos são aqueles que produzem e estocam as substâncias tóxicas (veneno) em alguma região de seu corpo, mas não possuem um aparelho inoculador e sim modificações em seus tecidos e, por isso, apresentam diversas toxinas, que podem causar até paralisia respiratória, utilizando-as passivamente contra predadores. Anfíbios, esponjas marinhas, pepinos-do-mar, poliquetas, mariposas, são alguns desses animais (Cardoso, 2009; Jared *et al.* 2015).

Existem vários papéis biológicos para as toxinas (venenos, peçonhas, saliva e feromônios) que incluem acasalamento, alarme, marcação, territorial, hierarquia, agregação, desenvolvimento embrionário (vespas parasitas), competição intra-específica (anêmonas, loris e onitorrincos), hematofagia (morcegos, sanguessugas e carrapatos), pré-digestão (serpentes, aracnídeos e cefalópodes) e predação (serpentes) (Cardoso, 2009; Jared *et al.* 2015) e anti-predação (anfíbios) (Jared *et al.* 2015; McDiarmid & Altig 1999).

Existem muitas estratégias defensivas em animais, didaticamente divididas em defesas primárias e secundárias (Costa & Nomura, 2014; Gnasplini & Hara, 2007). As defesas primárias são aquelas que operam mesmo na ausência de predadores, diminuindo assim a chance de encontro entre a presa e o predador. Entre estas se incluem aquelas que diminuem o risco de detecção (camuflagem) e o reconhecimento da presa pelo predador (aposematismo, mimetismo Batesiano e Mulleriano) (Costa & Nomura, 2014; Gnasplini & Hara, 2007; Krebs & Davies, 1993).

Já defesas secundárias ocorrem apenas quando a presa está em contato direto ou indireto com o predador, incluindo defesas evasivas (tanatose, deflexão do ataque, recuo e fuga) e respostas contundentes, como a retaliação. Ambas as estratégias de defesa (primárias e secundárias) aumentam a chance de sobrevivência dos indivíduos (Gnasplini & Hara, 2007; Uetz *et al.*, 2002).

Quando há coexistência entre presa e predador no mesmo ambiente, o comportamento de defesa das presas pode ser induzido pelo reconhecimento de substâncias químicas que indicam a presença do predador, ou por sinais de alerta emitidos por uma presa durante o evento de predação (McDiarmid & Altig 1999; Perotti *et al.*, 2006).

Conhecer as interações entre predadores e presas é um fator-chave para o entendimento de padrões e propriedades de comunidades naturais (Sih *et al.*, 1998; Werner & Peacor, 2003). Estudos experimentais têm evidenciado o papel dos predadores na regulação do tamanho populacional das presas (Costa & Nomura, 2014; Lima & Dill, 1990; Sih *et al.*, 1985), além da detecção e do reconhecimento de mecanismos antipredação, como a produção de substâncias tóxicas, a impalatabilidade e o comportamento críptico (McDiarmid & Altig, 1999; Nomura *et al.*, 2011).

Estratégias defensivas em anfíbios

A pele dos anfíbios atua em muitas funções vitais, relacionadas à atividade de dois tipos de glândulas cutâneas: mucosas e granulosas (Toledo *et al.*, 2005; Toledo *et al.*, 2011; Williams *et al.*, 2000). As glândulas granulosas (de veneno) atuam na defesa química que caracteriza os anfíbios, secretando uma grande diversidade de compostos. Nos anfíbios, a utilização de venenos como defesa química é comum (Cardoso, 2009) e esses venenos são basicamente sintetizados pelo metabolismo do próprio animal (Duellman & Trueb, 1994; McDiarmid & Altig 1999; Wells, 2007). Dentre elas, há produção de secreções químicas tóxicas ativas na pele que podem até matar seus predadores (Duellman & Trueb, 1994; Wells, 2007).

As glândulas granulosas secretam uma grande diversidade de peptídeos, aminas biogênicas, esteroides e alcaloides (Schwartz *et al.*, 2007), com grande potencial para ação cardiotóxica, hematóxica, miotóxica, neurotóxica, hipotensiva, hipertensiva, anestésica e antibiótica (Toledo & Jared, 1995).

Algumas dessas toxinas podem ser muito potentes, por exemplo, as batracotoxinas, alcaloides encontrados principalmente em espécies dos gêneros *Dendrobates*, *Epipedobates*, *Minyobates* e *Phyllobates*, são tão letais que alguns grupos de caçadores utilizam desse poderoso veneno em suas caçadas (McDiarmid & Altig, 1999; Pough, 2008; Toledo & Jared, 1995).

Em anfíbios, o colorido está intimamente ligado à proteção contra predação e isto é valido para muitas espécies, a exemplo da família Dendrobatidae, na qual Summers e Clough (2000) desenvolveram estudos tentando correlacionar a evolução da coloração e toxicidade com análises de DNA. Algumas espécies de anfíbios anuros possuem como característica corporal um colorido críptico ou aposemático, quando possuem químicos nocivos, que conferem um gosto nada agradável e são denominados de impalatáveis, e ainda um colorido disruptivo, que consiste no fato do indivíduo possuir padrão e coloração parecidos com o ambiente em que vive, confundindo seu predador, o que diminui a chance de serem detectados em ambientes e também como um sinal visual de advertência que indica toxicidade ao seu predador (Toledo *et al.*, 2011).

Discussões típicas de como funciona a coloração disruptiva até hoje argumentam que marcas disruptivas quebram a aparência do corpo de um animal em uma série de objetos irreconhecíveis (Cuthill *et al* 2005 ; Merilaita & Lind 2005). Merilaita & Lind 2005 ainda acredita que a coloração disruptiva delimitada por um contorno específico, impossibilita principalmente o reconhecimento de objetos, essa

superfície é coberta por manchas irregulares de cores e tons contrastantes, essas manchas tendem a desviar a atenção do predador.

A presença de secreções de alta toxicidade está frequentemente associada a padrões de colorido chamativos, ditos aposemáticos, reconhecidos e evitados por predadores. O colorido de espécies aposemáticas pode estar presente também em certas espécies indefesas, que assim adquirem proteção, um fenômeno designado mimetismo batesiano. Por outro lado, um conjunto de espécies tóxicas pode apresentar colorido semelhante, caracterizando o chamado mimetismo mulleriano (Duellman & Trueb, 1994).

A secreção produzida por anfíbios constitui num conjunto amplo e diversificado de substâncias, sendo que sua composição pode variar na proporção de componentes em função de estímulos externos (Brown *et al.*, 1977; Wells, 2007). Essas secreções não são encontradas somente nos adultos, pois muitas espécies de anuros produzem larvas que apresentam várias estratégias defensivas, incluindo a produção de toxinas.

Girinos

O girino é uma fase larval aquática presente no ciclo de vida da maioria dos anfíbios anuros (McDiarmid & Altig, 1999) e, considerado o curto ciclo de vida, apresenta alta diversidade morfológica e várias estruturas especializadas (Duellman & Trueb, 1994; McDiarmid & Altig 1999; Wells, 2007). O aumento da musculatura de natação, que aumenta a eficiência de fuga, é uma das principais alterações morfológicas ao longo da ontogenia dos girinos (Wells, 2007).

Os girinos normalmente eclodem de ovos depositados na água e aí permanecem, alimentando-se de matéria orgânica em suspensão ou raspada do substrato, de animais mortos, ou até mesmo de ovos e girinos. O tempo que um girino leva para se transformar e adquirir as características de um animal adulto, fenômeno chamado de metamorfose, é bastante variável entre as espécies e até mesmo entre populações da mesma espécie (Duellman & Trueb, 1994; McDiarmid & Altig, 1999).

Girinos que se desenvolvem em ambientes temporários, como poças formadas pelas chuvas, sofrem metamorfose em período de tempo mais curto que girinos que se desenvolvem em corpos d'água permanentes (McDiarmid & Altig, 1999). Esta é uma estratégia que evita que a poça seque antes da metamorfose ser concluída. Girinos que vivem em riachos normalmente demoram mais a se transformar do que girinos de corpos d'água lênticos, principalmente devido à menor temperatura dos primeiros (McDiarmid & Altig, 1999; Wells, 2007).

Nos estágios iniciais os girinos normalmente têm capacidade de natação incipiente e muitas vezes vivem em grupos (McDiarmid & Altig, 1999). Girinos apresentam diversas estratégias de defesa, relacionadas à vulnerabilidade e à exposição prolongada a uma grande variedade de predadores (Wells, 2007).

Estratégias defensivas em girinos

Em muitos girinos de diferentes espécies, os indivíduos podem detectar a proximidade de predadores e mudar seu comportamento para reduzir os riscos de predação, aumentando assim a probabilidade de sobrevivência (Van Buskirk & McCollum 2000). Em girinos, quando há um baixo risco de predação, eles podem simplesmente diminuir suas atividades, mas quando o risco de serem predados é alto, os girinos fogem para locais mais seguros (Relyea, 2001). Os comportamentos de defesa dos girinos podem ser induzidos devido ao reconhecimento de sinais de alerta de outros indivíduos emitidos durante um evento de predação e também por substâncias químicas liberadas pelo predador (Perotti *et al.*, 2006).

Em girinos estas adaptações podem estar relacionadas também com a fase de desenvolvimento e o tamanho (Wells, 2007), com características morfológicas, fisiológicas e comportamentais de cada espécie (Altig *et al.*, 2007; McDiarmid & Altig, 1999). Além disso, no ambiente aquático os girinos estão expostos a uma série de pressões seletivas diferentes das que encontrará na fase adulta. Essas pressões levaram a uma série de adaptações morfofisiológicas e comportamentais que permitem aos girinos alcançar a fase adulta (McDiarmid & Altig 1999). Numerosos fatores físicos e biológicos influenciam a distribuição espacial e temporal dos girinos nos microhabitats (McDiarmid & Altig 1999). Outra resposta é a alteração do seu período de atividade para outro no qual o predador não esteja ativo, reduzindo assim o tempo de exposição aos predadores (Stebbins & Cohen 1995; Wells, 2007).

Para girinos, as seguintes estratégias têm sido descritas para evitar seus predadores: toxicidade ou alteração de sabor (Brodie *et al* 1978), coloração críptica (Wassersug 1971), deslocamento temporal do período de atividade e mudanças comportamentais quando reconhecido o predadore (Petránka *et al* 1987; Kiesecker *et al* 1996; Rödel & Linsenmair 1997; Lefcort 1998). Algumas espécies de girinos podem reagir à presença de potenciais predadores por meio de pistas químicas derivadas de co-específicos feridos e apresentar como respostas a formação de agregações, o afastamento da fonte do estímulo químico ou a paralisação do movimento dos girinos (Wells, 2007).

O comportamento de evasão dos girinos como possíveis alterações comportamentais e, em muitos casos, a formação de grupos tem sido discutido por diversos autores (Bragg 1965; Lescure,1968; Kehr & Schnack,1991; Waldman,1991; Watt *et al.*,1997). Geralmente, os membros de um grupo estão melhor protegidos dos predadores do que os indivíduos solitários devido a efeitos de diluição e confusão (Hamilton 1971; Bertram 1978). Bragg (1965) e Wassersug (1973) classificaram as agregações de girinos em: i) agregações sociais, quando formadas pela atração mútua entre indivíduos coespecíficos (Caldwell, 1989; McDiarmid & Altig 1999; São Pedro *et al.*, 2008; Waldman, 1991) e ii) agregações não sociais, nas quais os girinos formam grupos em resposta a fatores ambientais (ex: manchas de alimento, correnteza, gradientes de temperatura e luz) (Carpenter,1953; Beiswenger 1977; Dunlap & Satterfield,1982; Noland & Ultsch,1981; Wiens,1972; Wollmuth *et al.*, 1987).

Defesas primárias como a toxicidade ou alteração de sabor, o aposematismo e a coloração críptica podem estar relacionadas também com a fase de desenvolvimento ontogenético e ao seu tamanho (Altig *et al.*, 2007; Bionda *et al.*, 2013; Boorse & Denver, 2003; Duellman & Trueb, 1994; McDiarmid & Altig, 1999; Pough, 2008; Santos *et al.*, 2015; São Pedro *et al.*, 2008; Wells, 2007; Zug, 1993).

Ainda existem defesas desenvolvidas para quando detectam o predador e ativam as defesas secundárias, como a mudança de habitat, tanatose, deslocamento temporal do período de atividade (Taylor, 1983) e as mudanças no comportamento das larvas quando tiverem reconhecido predadores (Kiesecker *et al.*, 1996; Lefcort, 1998; Petranka *et al.*, 1987), outros apresentam defesas químicas e, em alguns casos, advertem sua impalatabilidade ou depois de detectar sinais químicos liberados por coespecíficos feridos (Altig & McDiarmid 1999; Costa *et al.*, 2014; Duellman & Trueb, 1994; Eterovick, 2000; Hews, 1988; Wells, 2007). Esses sinais de advertência podem ser reconhecidos por potenciais predadores que, de forma inata ou por aprendizagem, evitam o ataque, aumentando a chance das presas potenciais sobreviverem (Edmunds, 1974).

As reações das presas podem ser mediadas por alguns componentes ambientais, como a estrutura do habitat ou pela presença de competidores, ou até pela forma como interagem com os predadores se comportam na presença das mesmas (Hero *et al.*, 2001; Nomura *et al.*, 2011).

Após a percepção de um possível risco de predação, girinos podem alterar seu comportamento de forma a minimizar este risco. Estas estratégias comportamentais

podem diminuir as taxas de detecção, porque os predadores de girinos são geralmente visualmente orientados (por exemplo, larvas de odonata) ou usar vibrações água para perceber presa, particularmente para os indivíduos que ocorrem em poças temporárias (Persons, 1999). Além de variar entre as espécies, os comportamentos de fuga ou não também podem variar ao longo da ontogenia, especialmente em organismos que passam por transformações morfológicas e fisiológicas extremas (Langerhans, 2007; Hossie & Murray, 2012).

A paralisação envolve um estado de completa imobilização da presa quando na presença de alguma ameaça. Esta estratégia não está associada com a adoção de posturas estereotipadas (Chelini *et al.*, 2009; Eterovick, 2000; Wells, 2007) e os animais se mantém alertas e fisiologicamente ativos. A paralisação frequentemente representa uma resposta inicial à ameaça e ocorre imediatamente após a detecção do predador ou de sinais químicos liberados por ele na água. Este mecanismo de defesa é particularmente importante para espécies de presas cujos predadores se orientam por vibrações, sinais químicos ou pistas visuais (Wells, 2007). Presas podem perceber o risco de predação pela presença do próprio predador ou por pistas deixadas por ele indiretamente (Romero *et al.*, 2011). Essas pistas conferem uma vantagem para as presas, pois podem percebe-las antes de encontrar o predador diretamente (Griffiths *et al.*, 1998; McDiarmid & Altig, 1999).

A eficiência das estratégias defensivas em girinos podem variar de acordo com o tipo de estratégia de forrageio (Hero *et al.*, 2001; Nomura *et al.*, 2011) e com a sensibilidade dos predadores à presença de substâncias impalatáveis ou não nesses indivíduos (Heyer *et al.*, 1975; Hero *et al.*, 2001). Os predadores invertebrados são os que menos são afetados pela presença de defesas químicas dos girinos, quando comparado aos predadores vertebrados (Lawler & Hero, 1997).

A impalatabilidade é mais eficiente contra os predadores que engolem a sua presa inteira, a exemplo dos peixes, ou aqueles que mastigam as presas antes de consumi-las, como as larvas de Odonata (Hero *et al.*, 2001; Van Burskirk, 1988). Ainda existem outros predadores que não engolem ou mastigam a presa, como baratas-d'água do gênero *Belostoma*, e os mesmos não são afetados pela impalatabilidade (Tobler *et al.*, 2007). Esses predadores injetam toxinas que paralisam as presas e ainda liberam enzimas digestivas que causam necrose nos tecidos de suas vítimas (Swart & Felgenhauer, 2003). Ainda existem algumas larvas de libélula (gênero *Aeshna*) que também não são afetadas pela impalatabilidade desses girinos, apesar de mastigarem

sus presas (Alford, 1999; Crossland & Alford, 1998; Nomura *et al.*, 2011) e por isso são consideradas importantes predadoras de girinos (Hero *et al.*, 2001).

Foi observado que os girinos de *Physalaemus nattereri* (Steindachner, 1863) conseguiram diminuir sua chance de ser detectados por predador devido a sua coloração e comportamento críptico. Girinos de *Rhinella schneideri* (Werner, 1894) apresentam condição aposemática. Outros girinos das espécies de *R. ornata* (Spix, 1824), *R. crucifer* (Wied-Neuwied, 1821) apresentam substâncias impalatáveis em sua pele, criando uma advertência aos predadores (Costa & Nomura, 2014; Eterovick, 2000; Nomura *et al.*, 2011; Wells, 2007). Essas substâncias são frequentemente tóxicas ou repelentes e estão distribuídas pelo corpo, sendo mais abundantes na cabeça, dorso e extremidades ou concentradas numa determinada região do animal (Duellman & Trueb, 1994; Wells, 2007).

A impalatabilidade de girinos pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento ontogenético e se intensificar à medida que o indivíduo se aproxima de sua fase final de metamorfose (Kopp *et al.*, 2006; Lawler & Hero, 1997; Relyea, 2001). Heyer *et al.* (1975) demonstraram que pode haver uma mudança ontogênica na palatabilidade de girinos em estágios avançados de desenvolvimento (38-41), quando comparado a estágios anteriores, a exemplo, girinos de *Rhinella marina* (Lawler & Hero, 1997). Em contraste, Brodie e Formanowicz (1987) demonstraram que girinos em estágios iniciais de desenvolvimento e pré-metamórficos de *Anaxyrus americanus* (Holbrook, 1836) eram desagradáveis para predadores, enquanto os estádios intermediários de desenvolvimento eram palatáveis, usando naiades de odonata e baratas d'água.

Girinos vêm sendo utilizados em estudos experimentais sobre predação, pois fazem parte da dieta de um grande número de vertebrados (peixes, aves, anfíbios) e invertebrados (baratas d'água, larvas de odonata e aranhas) (Duellman & Trueb, 1994). Geralmente, os girinos apresentam alta plasticidade fenotípica, podendo alterar sua morfologia, fisiologia e/ou comportamento quando submetidos à pressão de predadores (Altig & McDiarmid, 1999; McCollum & Van Buskirk, 1996; Moore *et al.*, 2004; Relyea, 2001). Essas defesas induzidas são muito plásticas e podem ser influenciadas pelo estágio de desenvolvimento ontogenético do girino, diferentes níveis de palatabilidade, coexistência com predadores específicos, complexidade estrutural dos ambientes, entre outros (Costa & Nomura, 2014; Kopp *et al.*, 2006; Wells, 2007). Girinos podem ser utilizados como modelos para estudos de mecanismos de defesa, por

possuírem respostas induzidas pelo predador fáceis de serem observadas e aptidão individual variável dentro da população (Oricchio *et al.*, 2013; Spieler & Linsenmair, 1999).

Família Phyllomedusidae

Popularmente chamadas de pererecas-da-folhagem (espécies do gênero *Phyllomedusa*) são conhecidas por depositarem seus ovos em folhas pendentes sobre a água parada (Pombal Jr & Gordo, 2004).

Os ninhos são construídos pelo casal durante o amplexo, através do dobramento de uma ou mais folhas da planta utilizada como poleiro. Esses sítios de oviposição variam em diversos aspectos, de acordo com a biologia de cada espécie, podendo ser, por exemplo, uma simples axila de uma bromélia, uma poça temporária ou mesmo o leito de um grande rio (Haddad & Prado 2005). Os ovos são depositados na porção mediana do ninho, enquanto que as extremidades são unidas por cápsulas gelatinosas sem ovos, que ajudam a fechar a folha e evitam a dessecação da ninhada. Após algum tempo, os ovos eclodem e os girinos caem na água, onde completam seu desenvolvimento. Grande parte das espécies de *Phyllomedusa* constroem seus ninhos pendentes sobre ambientes lênticos. As únicas espécies da família Phyllomedusidae que constroem ninhos sobre ambientes lóticos onde os girinos se desenvolvem são as espécies do clado “megacephala” (um subclado do grupo de *Pithecopus hypochondrialis*), que inclui as espécies de flancos reticulados que habitam montanhas, mais a espécie *P. rhodei* autor e ano (Faivovich *et al.* 2010).

De acordo com Mignogna *et al.* (1997), há muito tempo tem sido demonstrado que anfíbios neotropicais da família Phyllomedusidae são uma das mais ricas fontes até então estudadas de peptídeos biologicamente ativos. De acordo com Erspermer *et al.*, (1986) em Phylomedusidae, existe uma infinidade desses componentes, o que levou a chamá-las de “enormes armazéns de peptídeos bioativos”. As espécies possuem uma coloração verde-brilhante, disruptiva nos adultos. Os indivíduos apresentam glândulas parotóides que quando comprimidas pelo predador liberam a secreção, que a torna impalatável ao predador ao tentar ingeri-la (Fontana, 2012; Mundin, 2008). O veneno eliminado ataca fortemente as mucosas internas do predador, quando engolem a presa, provocando ardência e vômitos, cuja consequência é, muitas vezes, a regurgitação do anfíbio vivo (Mundin, 2008).

Girinos de Phyllomedusa

Os girinos das espécies da família Phyllomedusidae usualmente tem coloração em vida que varia de castanho a cinza com tons azulados e nadadeiras frequentemente marmoreadas de preto, sendo a ventral mais pigmentada que a dorsal (Haddad & Prado, 2005; Wells, 2007). Os girinos desta família não formam agregações sociais, têm hábitos nectônicos, exotróficos e a maioria das espécies são raspadores de suspensão (Altig & McDiarmid, 1999; Figueiras, 2011; Haddad & Prado, 2005; Wells, 2007). Esses girinos apresentam como estratégia de defesa coloração disruptiva, quando o mesmo possuí padrão e coloração parecidos com o ambiente em que vive, confundindo seu predador, dominando a chance de serem detectados em ambientes e como um possível sinal visual de advertência que indica toxicidade ao seu predador (Toledo *et al.*, 2011). De acordo com Hero *et al.*, 2001, a impalatabilidade dos girinos de *Phylomedusa* pode surgir desde os primeiros estágios de desenvolvimento ontogenético. Podendo ao longo do seu desenvolvimento ontogenético apresentarem a produção de substâncias tóxicas em sua pele. Assim como observado no trabalho de Costa & Nomura, 2014, com girinos de *Rhinella ornata* e em trabalhos de Hero *et al.*, 2001 e Kopp *et al.*, 2006, com alguns girinos das famílias: Bufonidae, Hylidae e Leptodactylidae, sugerindo que a impalatabilidade evoluiu de forma independente entre espécies.

Sendo assim, o presente estudo pretende verificar-se estratégias anti-predatórias são utilizadas por girinos de *Phylomedusa bahiana* durante seu desenvolvimento ontogenético. Verificando como os girinos de *P. bahiana* se comportam na presença dos predadores e também Verificando se há diferença na taxa de predação ao longo do desenvolvimento ontogenético por diferentes tipos de predadores

REFERÊNCIAS

- ALFORD, A.R., 1999 Ecology: Resource Use, Competition and Predation. Tadpoles: the biology of anuran larvae. **The University of Chicago Press**. USA, 1999.
- ALCOCK, J. 1998. Animal Behavior. 6th ed. Sunderland: Sinauer Associates. 640p.
- ALMEIDA, F.S; MARTINS, L; FARJI-BRENER, A.G. Estratégias de artrópodes contra predação por formigas em floresta secundária no Rio de Janeiro. **EntomoBrasilis**, v. 3, n.2, p. 69-72, 2010.
- ALTIG, R; WHILES, M. R; TAYLOR, C. L. What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. **Freshwater Biology**, v. 52, n. 2, p. 386–395, 2007.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER , J. L. 2007. Ecologia de indivíduos a ecossistemas. 4^a ed, **Artmed**, Porto Alegre. (2005, 4^a ed. Blackwell, Oxford ou 3^a ed., 1996).
- BEISWENGER, R. E. 1977. Diel patterns of aggregative behavior in tadpoles of *Bufo americanus*, in relation to light and temperature. **Ecology** 58:98–108.
- BERTRAM, S., M. BERRILL, and E. Nol. 1996. Male mating success and variation in chorus attendance within and among breeding seasons in the gray treefrog (*Hyla versicolor*). **Copeia** 1996:729–34.
- BIONDA, C. L; GARI, N; LUQUE, E; SALAS, N. Diet of tadpoles of *Physalaemus biligonigerus* (Leiuperidae) From agricultural ponds in the central region of Argentina. **Acta Herpetologica**, v. 8, n. 2, p. 141–146, 2013.
- BOORSE, G. C; DENVER, R. J. Endocrine mechanisms underlying plasticity in metamorphic timing in spadefoot toads. **Integrative and Comparative Biology**, v. 43, n. 5, p. 646–657, 2003.
- BRAGG, A. N., and. KING, M, O. 1960. Aggregational and associated behavior in tadpoles of the plains spadefoot. **Wasmann Journal. Biology**. 18:273–89.
- BRODIE, E. D. JR.; FORMANOWICZ, D. R., JR.; and BRODIE, E. D., III. 1978. The development of noxiousness of *Bufo americanus* tadpoles to aquatic insect predators. **Herpetologica**, 34:302– 306, 1978.
- BROWN, G.B.; KIM, Y.H.; KUNTZEL, H.; MOSHER, H, S.; FUHRMAN, G, J.; FUHRMAN, F, A. Chemistry and pharmacology of skin toxins from the *Atelopus zeteki* (atelopidtoxim; zetekitoxim) **Toxicon**, v.15, p.115-128, 1997.

- CALDWELL, J. P., and LOPEZ, P. T. 1989. Foam-generating behavior in tadpoles of *Leptodactylus mystaceus*. *Copeia* 1989:498–502.
- CARPENTER, C. C. 1953 a. Aggregation behavior of tadpoles of *Rana p. pretiosa*. *Herpetologica* 9:77–78.
- CASILLAS-BARRAGÁN, I. COSTA-PEREIRA, R. & PEIXOTO, P, C. Risco de predação percebida diminui o movimento e aumenta a agregação de rã do leite da Amazônia (Anura, Hylidae) girinos em todo ontogenia. **PEC Hydrobiologia**, v, 10, 765: 379, 2016.
- CASTRO, B, B; CONSCIÊNCIA S; GONÇALVES, F; Comunicação química em sistemas predador-presa alterados: um contributo para a controvérsia. **Captar** V. 1, n.1, p. 54-66, 2009.
- CHELINI, M.C.; R.H. WILLEMARt & E.A. HEBETS. 2009. Costs and benefits of freezing behaviour in the harvestman *Eumesosoma roeweri* (Arachnida, Opiliones). **Behavioural Processes**, 82:153-159.
- COSTA, R. N.; NOMURA, F. Avaliação de risco e plasticidade comportamental limitada em girinos de *Rhinella ornata* (Anura, Bufonidae). **Iheringia. Série Zoologia**, v. 104, n. 2, p. 162–167, 2014.
- CROSSLAND, M. R. & ALFORD, R. A. Evaluation of the toxicity of eggs, hatchlings and tadpoles of the introduced toad *Bufo marinus* (Anura: Bufonidae) to native Australian aquatic predators. **Austral Ecology** 23:129-137, 1998.
- DEL-CLARO, K. 2004. Comportamento animal: uma introdução à ecologia comportamental. Jundiaí: Livraria e Editora Conceito. 132p.
- DYER, L.A., 1995. Tasty generalists and nasty specialists? Antipredator mechanisms in tropical lepidopteran larvae. **Ecology**, 76:1483-1496, 1995.
- DUELLMAN, W. E, & TRUEB, L., 1994. Biology of Amphibians. **Baltimore: Johns Hopkins University**, p 87- 107, 1994.
- EDMUNDS, M. Defense in animals. **Logman Group Limited**, Great Britain 1974.
- ETEROVICK, P.C. Effects of aggregation on feeding of *Bufo crucifer* (Anura, Bufonidae). *Copeia*. p 210-215, 2000.
- FIGUEIRAS, H. S. F. Ecologia trófica e reprodutiva de *Phyllomedusa hypochondrialis* (Daudin, 1802) (Hyliade, Phyllomedusinae) na Amazônia Oriental, Para, Brasil. **Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Para e Muzeu Paraense Emilio Goeldi**. 57 p. 2011.

- GRIFFTHS, R.A.; L. SCHLEY, P.E. SHARP; J. DENNIS & A. ROMA. Behavioural responses of mallorcan midwife toad tadpoles to natural and unnatural snake predators. **Animal Behaviour**, 55:207-214, 1998.
- GNASPINI, P. & HARA, M.R. Defense mechanisms. Em: Harvestmen: the biology of Opiliones (R. Pinto-da-Rocha, G. Machado & G. Giribet, eds). **Harvard University Press**, Massachussets, p. 375-399 2007.
- GOSNER, K. L. (1960). A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**. 16, 183–190, 1960.
- HADDAD, C.F.B., PRADO, C.P.A. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience**. 55(3): 207-217. 2005.
- HAMILTON, W. D. 1971. Geometry for the selfish herd. *J. Theor. Biology*. 31:295–311.
- HERO, J. M.; MAGNUSSON, W. E.; ROCHA, C. F. D. & CATTERALL, C. P., 2001. Antipredator defenses influence the distribution of amphibian prey species in the central Amazon rain forest. **Biotropica**. 33:131-141.
- HEYER, W. R.; MCDIARMID, R. W. & WEIGMANN, D. L. 1975. Tadpoles, predation and pond habits in the tropics. **Biotropica**. 7:100-111.
- HOSSIE, TJ & MURRAY, DL, 2012. Avaliando as respostas comportamentais e morfológicas de girinos a variabilidade temporal no risco de predação. **Journal of Zoology**. 288. 275-282.
- JARED, C. et al. Venomous frogs use heads as weapons. **Current Biology**, v. 25, n. 8, p. 1–5, 2015.
- JUNGHANSS, T.; BODIO, M. Medically important venomous animals: biology, prevention, first aid, and clinical management. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 43, n. 10, p. 1309–17, 2006.
- KEHR, A. I., and SCHNACK, J. A. 1991. Predator-prey relationship between giant water bugs (*Belostoma oxyurum*) and larval anurans (*Bufo arenarum*). **Alytes** 9:61–69.
- KIESECKER, J. M., AND A. R. BLAUSTEIN. 1997. Population differences in responses of Red-Legged Frogs (*Rana aurora*) to introduced bullfrogs. **Ecology**, 78: 1752– 1760.
- KÖHLER, J., and W. BÖHME. 1996. Anuran amphibians from the region of Pre-Cambrian rock outcrops (inselbergs) in northeastern Bolivia, with a note on the

- gender of *Scinax* Wagler, 1830 (Hylidae). **Revue Française d'Aquariologie, Herpétologie** 23: 133–140.
- KOOP, K.; WACHLEVS KI, M. & ETEROVICK, P. C. 2006. Environmental complexity reduces tadpole predation by water bugs. **Canadian Journal of Zoology**, 84: 136-140. 2006.
- KREBS, J.R. & DAVIES, N.B. D. Introdução à ecologia comportamental. **Atheneu**, São Paulo 1996.
- LAWLER, K. L e HERO, J.-M., 1997 Palatability of *Bufo marinus* tadpoles to a Predatory Fish Decreases with Development. **Wildlife Research**, v. 24, n. 3, p. 327, 1997.
- LANGERHANS, R., 2007. Consequências evolutivas da predação: evasão, escape, reprodução e diversificação. Em Elewa, A. (ed.), **Predação em organismos: Um Fenômeno distinto**. Springer Verlag, Heidelberg: 117220.
- LEFCORT, H., AND S. M. EIGER. 1993. Antipredatory behaviour of feverish tadpoles: implications for pathogen transmission. **Behaviour**, 126:13–27, 1993.
- LIMA, S. L. & DILL, L. M. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. **Canadian Journal of Zoology**, 68:619-640, 1990.
- MCCOLLUM, S. A. & VAN BUSKIRK, J. 1996. Costs and benefits of a predator-induced polyphenism in the gray treefrog *Hyla chrysoscelis*. **Evolution**, 50(2):583-593. 1990.
- MCDIARMID, R.W., ALTIG, R. Tadpoles, the biology of anuran larvae. **The University of Chicago Press**, p. 240-278, 1999.
- MIGNOGMA, G.; SEVERENI, C; ERSPAMER, G.F.; SILICIANO, R.; KREILH, G.; BARRA, D. Tachykinins and other biologically active peptides from the skin of the Costa Rican Phyllomedusid frog *Agalychnis callidryas*. **Peptides**, v.18, n.3, p.367-372, 1997.
- MOORE, R. D.; GRIFFITHS, R. A.; O'BRIEN, C. M.; MURPHY, A. & JAY, D. 2004. Induced defences in an endangered amphibian in response to an introduced snake predator. **Oecologia**, 141:139-147, 2004.
- MUNDIN, N. C. C. R., 2008 Prospecção de Bradicininas de anfíbios do gênero Phyllomedusa. **Journal of Inorganic Biochemistry**, p. 84, 2008.
- NOMURA, F; PRADO, V. H. M; SILVA, F. R; BORGES, R. E; DIAS, N. Y. N. & ROSSA-FERES, D. C. 2011. Are you experienced? Predator type and predator

- experience trade-offs in relation to tadpole mortality rates. **Journal of Zoology**, 288:144-150, 2011.
- ODUM, Eugene Pleasants. Fundamentos de ecologia. 6. ed. Lisboa: **Fundaçao Calouste Gulbenkian**, 927 p, 2001.
- ORICCHIO, F. CORREIRA, J. COSTA, K. PEREIRA, T. Antes só do que mal acompanhado : agregação e velocidade de deslocamento em girinos de *Rhinella ornata* (Bufonidae) em diferentes estágios de desenvolvimento. **Pós graduação em Ecologia Universidade de são paulo**, p. 1–4, 2013.
- PERSONS, MH, 1999. Efeitos de fome em respostas de forrageamento para pistas perceptivas em aranhas lobo imaturos e adultos (Lycosidae). **Animal Behaviour**, 81-88, 199.
- PETRANKA, J. W., L. B. KATS, AND A. SIH. 1987. Predatorprey interactions among fish and larval amphibians: use of chemical cues to detect predatory fish. **Animal Behaviour**, 35:420–425, 1987.
- PETERSON, J. A., and BLAUSTEIN, A. R. (1992). Relative palatabilities of anuran larvae to natural aquatic insect predators. **Copeia**, 577–584, 1992.
- POMBAL, J. P., Jr., and C. F. B. HADDAD. 1992. Espécies de Phyllomedusa do grupo bahiana do Brasil oriental, com descrição de uma espécie nova (Amphibia, Hylidae). **Revista Brasileira de Biologia** 52: 217–229.
- POUGH, F. H; JANAS, M.C; HEISER, J.B. A Vida dos Vertebrados. 4. ed. São Paulo: **Atheneu**, 2008.
- PREISSER, E.L.; BOLNICK, D.I & BERNARD, M.F, 2005.Scared to death? The effects of intimidation and consumption in predator-prey interactions. **Ecology**, 86(2):501–509, 2005.
- RELYEA, R.A. 2001. The relationship between predation risk and antipredator responses in larval anurans. **Ecology**, 82:541-554, 2001.
- SANTOS, F. J. M; PROTÁZIO, A. S; MOURA, C. W. N; JUNCÁ, F. A. Diet and food resource partition among benthic tadpoles of three anuran species in Atlantic forest tropical streams. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 31, n. 1, p. 53–60, 2015.
- SAO PEDRO, V. de A; DA SILVA, C. D; MANDUCA, e. G. O comportamento gregário de girinos de *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) e sua relação com a temperatura. **Revista Brasileira de Zoocências**, v. 10, n. 2, p. 121–125, 2008.

- SCHWARTZ, C. A.; CASTRO, M. S.; JÚNIOR, O. R. P.; MACIEL, N. M.; SCHWARTZ, E. N. F.; SEBBEN, A. In: NASCIMENTO, L. B.; OLIVEIRA, M. E (Eds). Princípios bioativos da pele de anfíbios: panorama atual e perspectivas. Belo Horizonte: **Sociedade Brasileira de Herpetologia**, p. 146-168. 2007.
- SIH, A.; CROWL EY, P.; MCPEEK, M.; PETRANKA, J. & STROHMEIER, K. 1985. Predation, competition, and prey communities: A review of field experiment. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 16: 269- 311, 1985.
- SIH, A.; ENGLUND, G. & WOOST ER, D. 1998. Emergent impacts of multiple predators and prey. **Trends Ecology and Evolution**, 13:350-355, 1998.
- SILVA-FILHO, I. S & JUNCÁ, F. A.; Evidence of full species status of the neotropical leaf-frog *Phyllomedusa bahiana bahiana* (A. Lutz, 1925) (Amphibia, Anura, Hylidae). **Zootaxa** 1113: 51–64 (2006)
- SNOWDON, C. T. O significado da pesquisa em comportamento animal. **Estudy psicology (Natal)** [online]. 1999, vol.4, n.2, pp.365-373.
- SPIELER, M.; LINSENMAIR, K. E. Aggregation behaviour of *Bufo maculatus* tadpoles as an Antipredator Mechanism. **Ethology**, v. 105, n. 8, p. 655–686, 1999.
- SUMMERS, K.; GLOUGH, M.E. The evolution of coloration and toxicity in the poison frog family (Dendrobatidae). **PNAS**, v.98, n.11, p.6627-6632, 2000.
- SWART, C. & FELGENHAUER, B. 2003. Structure and function of the mouth-parts and salivary gland complex of the giant waterbug, *Belostoma lutarium* (Stal) (Hemiptera: Belostomatidae). **Annals of the Entomological Society of America**, 96:870-882, 2003.
- TOBLER, M.; SCHLUUPP, I. & PLATH, M. 2007. Predation of a cave fish (*Poecilia mexicana*, Poeciliidae) by a giant water-bug (*Belostoma*, Belostomatidae) in a Mexican sulphur cave. **Ecological Entomology**, 32:492-495, 2007.
- TOLEDO, R. C.; JARED C. Cutaneous granular glands and amphinian venoms. **Comparative Biochemistry and Physiology**, vol. 111, n. 1, p. 1-29, 1995.
- TOLEDO, L. F. Predation of juvenile and adult anurans by invertebrates: current knowledge and perspectives. **Herpetology Revist**, v. 36, n. 4, p. 395-400, 2005.
- TOLEDO, L. F.; SAZIMA, I.; HADDAD, C. F. B. Behavioural defences of anurans: an overview. **Ethology Ecology Evolution**, v. 23, n, 1, p. 1-25, 2011.

- TORRES, R.S. Adaptações Evolutivas: Aspectos comportamentais e mecanismos de defesas e predação em repteis. Dissertação de mestrado do programa de pós-graduação em biologia animal da **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Instituto de Biociências. P.84, 2012.
- UETZ, G.W.; J. BOYLE; C.S. HIEBER & R.S. WILCOX. 2002. Antipredator benefits of group living in colonial web-building spiders: the „early warning“ effect. **Animal Behaviour**, 63:445-452, 2002.
- VAN BUSKIRK, J. 1988. Interactive effects of dragonfly predation in experimental pond communities. **Ecology** 69:857-867, 1998.
- VAN BUSKIRK, J; MCCOLLUM, S.A. Influence of tail shape on tadpole swimming performance. **Journal of Experimental Biology** 203: 2149-2158. 2000.
- WALDMAN, B., and RYAN,M, J. 1983. Thermal advantages of communal egg mass deposition in wood frogs (*Rana sylvatica*). **Journal Herpetology**. 17:70–72.
- WATT, P. J., and JARVIS, P. 1997. Survival analysis in palmate newts exposed to ammonium nitrate agricultural fertilizer. **Ecotoxicology** 6:355–62.
- WARFE, D. M. & BARMUTA, L. A. 2004. Habitat structural complexity mediates the foraging success of multiple predator species. **Oecologia** 141:171-178, 2004.
- WASSERSUG, R. 1971. Aspects of social behavior in anuran larvae. Evolutionary biology of the anurans. Contemporary research on major problems. Columbia: **University of Missouri Press**. p. 273-297, 1971.
- WELLS, K. D. 2007. The ecology and behavior of amphibians. **The University of Chicago**. p. 729-752.
- WERNER, E. E. & PEACOR, S. D. 2003. A Review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. **Ecology** 84(5):1083-1100, 2003.
- WILLIAMS, C.R.; BRODIE, E. D. Jr.; TYLER, M. J.; WALKER S. J. Antipredator mechanisms of australian frogs. **Journal of Herpetol**, v. 34, n. 3, p. 431-443, 2000.
- ZUG, G. R. 1993. Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles. **Academic Press**, San Diego, P. 1993.

1 **Tal pai tal filho: impalatabilidade de larvas de *Phyllomedusa bahiana***
2 (**Phyllomedusidae: Anura**), como defesa anti-predação

3

4

5 Josemar da Silva Mendes¹ *,

6

7 Flora Acuña Juncá²

8

9

10

11

12

13

14

15 1. Programa de Pós-graduação em Zoologia, Museu de Zoologia de Feira de Santana
16 (MZFS) Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

17 2. Departamento de Ciências Biológicas, Divisão de Anfíbios e Répteis (DAR) – Museu
18 de Zoologia de Feira de Santana (MZFS) Universidade Estadual de Feira de Santana,
19 Av. Transnordestina, S/N. Feira de Santana, Bahia, Brasil.

20

21 * Autor para correspondência. E-mail:mazmendes10@gmail.com

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32 **Palavras-chave:** Mecanismos antipredação, Substâncias Tóxicas, Desenvolvimento
33 Ontogenético, Girinos, Anura.

34

35

36

37 Manuscrito a ser submetido na revista Journal of Experimental Biology

38

39

40 **RESUMO**

41

42 Entender os padrões comportamentais dos seres vivos é extremamente
43 importante para a compreensão da dinâmica da vida dos animais e suas inter-relações.
44 Em anfíbios anuros, as estratégias de defesa envolvem adaptações morfológicas,
45 fisiológicas e comportamentais de cada espécie. Várias estratégias para evitar
46 predadores têm sido utilizadas por girinos e estas adaptações podem estar relacionadas
47 também com a fase de desenvolvimento ontogenético e o tamanho. Nossos estudos
48 verificaram algumas estratégias anti-predatórias utilizadas por girinos de *Phyllomedusa*
49 *bahiana* durante seu desenvolvimento ontogenético e testou: (i) se girinos de *P. bahiana*
50 apresentam alterações comportamentais quando submetidos a um sinal químico do
51 predador, (ii) se os estágios de desenvolvimento ontogenético mais avançados
52 influenciam positivamente a impalatabilidade de girinos de *P. bahiana* e (iii) se náfiades
53 de odonata (predadores potenciais) predam menos girinos de *P. bahiana*, quando na
54 presença de girino palatável. Nossos resultados confirmaram que há uma redução na
55 atividade natatória de girinos de *P. bahiana* quando submetidos ao sinal químico do
56 predador. As larvas de odonata evitaram se alimentar de girinos de *P. bahiana* em
57 estágios mais avançados de desenvolvimento ontogenético (38-41), indicando que os
58 girinos dessa espécie seriam impalatáveis a esse predador. Os predadores escolheram os
59 girinos de *Scinax x-signatus* a girinos de *P. bahiana* em todos os estágios de
60 desenvolvimento, quando oferecido às duas espécies de girinos no mesmo pote.
61 Respostas antipredatórias em girinos de *P. bahiana*, estão diretamente ligadas ao
62 reconhecimento de pistas diretas e indiretas deixadas pelo predador no ambiente, e ao
63 desenvolvimento ontogenético do girino.

64

65

66

67

68

69

70

71

73 INTRODUÇÃO

75 Os mecanismos de defesa contra predação são importantes atributos para
 76 sobrevivência das espécies (Odum, 2001). Indivíduos de muitas espécies animais
 77 podem alterar características fenotípicas, tais como desenvolvimento, morfologia,
 78 fisiologia ou comportamento, em resposta do risco de predação (Almeida *et al.*, 2010), o
 79 que torna a interação predador-presa um forte fator associado à evolução das espécies.
 80 Predadores, portanto, atuam como agentes seletivos na evolução das suas presas, pois
 81 estas desenvolveram defesas de natureza comportamental, física, morfológica ou
 82 química contra a predação (Casillas-Barragán *et al.*, 2016).

83 Existem várias estratégias defensivas em animais, as quais podem ser divididas
 84 em defesas primárias e secundárias (Costa & Nomura, 2014; Gnaspi & Hara, 2007).
 85 As defesas primárias operam mesmo na ausência de predadores, diminuindo assim a
 86 chance de encontro entre a presa e o predador. Já defesas secundárias ocorrem apenas
 87 quando a presa está em contato direto ou indireto com o predador. Ambas as estratégias
 88 de defesas aumentam a chance de sobrevivência dos indivíduos (Gnaspi & Hara,
 89 2007; Uetz *et al.*, 2002).

90 Em girinos, estes mecanismos e estratégias anti-predatórias podem estar
 91 relacionadas também com a fase de desenvolvimento e o tamanho corporeo (Altig *et al.*,
 92 2007; Wells, 2007). Para evitar predação, girinos têm apresentado estratégias primárias,
 93 como camuflagem, coloração críptica (Wassersug, 1971) e estratégias secundárias,
 94 como toxicidade ou alteração de sabor (Brodie *et al.*, 1978), mudança de habitat,
 95 tanatose, quando há mudanças no comportamento das larvas quando tiverem
 96 reconhecido predadores visualmente ou por um feromônio detectado em sinais químicos
 97 liberados por coespecíficos feridos (Costa *et al.*, 2014; Wells, 2007) e estes podem ser
 98 reconhecidos por potenciais predadores que, de forma inata ou por aprendizagem,
 99 evitam o ataque, aumentando a chance das presas potenciais sobreviverem (Edmunds,
 100 1974).

101 A impalatabilidade é um dos mecanismos de antipredação, assim como a
 102 produção de substâncias tóxicas ativas na pele dos anuros (Gunzburger & Travis, 2005;
 103 Toledo *et al.*, 2011). Em girinos, este mecanismo antipredatório pode ser influenciado
 104 pelo avanço do desenvolvimento ontogenético e se intensificar à medida que o

105 indivíduo se aproxima de sua fase final de metamorfose, aumentando sua chance de
106 chegar a sua fase adulta e garantindo, portanto, a sobrevivência da espécie (Kopp *et al.*,
107 2006; Lawler & Hero, 1997).

108 Geralmente, os girinos apresentam alta plasticidade fenotípica, podendo alterar
109 sua morfologia, fisiologia e/ou comportamento quando submetidos à pressão de
110 predadores (Altig & McDiarmid, 1999; Moore *et al.*, 2004), podendo ser utilizados
111 como modelos para estudos de mecanismos de defesa, por possuírem respostas
112 induzidas pelo predador fáceis de serem observadas e aptidão individual variável dentro
113 da população (Oricchio *et al.*, 2013). A compreensão da impalatabilidade e sua eficácia
114 durante os estágios de desenvolvimento ontogenético é um grande desafio aos
115 pesquisadores (Gunzburger & Travis, 2005).

116 Anfíbios neotropicais da família Phyllomedusidae são uma das mais ricas
117 fontes de peptídeos biologicamente ativos (Thompson *et al.*, 2006). Anfíbios adultos do
118 gênero *Phyllomedusa* apresentam substâncias tóxicas produzidas em sua pele que,
119 quando comprimidas pelo predador, liberam a secreção, que os tornam impalatáveis ao
120 predador ao tentar ingeri-los (Borteiro *et al.*, 2014; Fontana, 2012; Mundin, 2008;
121 Thompson *et al.*, 2006), provocando ardência e vômitos, cuja consequência é, muitas
122 vezes, a regurgitação do indivíduo ainda vivo (Mundin, 2008).

123 Girinos da família Phyllomedusidae apresentam como uma estratégia de
124 defesa a coloração disruptiva, as quais quebram a aparência e o contorno do corpo do
125 girino e confundem o predador, diminuindo a chance de serem detectados (Delfino,
126 1988), promovendo assim a identificação errônea dos contornos do corpo (Polo-Cavia
127 & Gomez-Mestre, 2017). Nada foi encontrado na literatura sobre a impalatabilidade
128 de girinos *Phyllomedusa*, tal qual é mencionado para seus anfíbios adultos desta
129 espécie.

130 A impalatabilidade de girinos pode ser influenciada pelo estágio de
131 desenvolvimento ontogenético e se intensificar à medida que o indivíduo se aproxima
132 de sua fase final de metamorfose (Kopp *et al.*, 2006). Girinos vêm sendo utilizados em
133 estudos experimentais sobre predação, pois fazem parte da dieta de um grande número
134 de vertebrados e invertebrados (Duellman & Trueb, 1994).

135 Acreditamos que a impalatabilidade dos girinos do gênero *Phylomedusa* pode
136 sofrer influência ao longo do seu desenvolvimento ontogenético e podendo apresentar a
137 produção de substâncias tóxicas em sua pele. O presente estudo pretende verificar
138 algumas estratégias anti-predatórias utilizadas por girinos de *Phylomedusa bahiana*

139 (Lutz, 1925) e testamos as hipóteses de que: (i) girinos de *P. bahiana* irão apresentar
140 alterações comportamentais, quando submetidos a um sinal químico do predador, (ii)
141 um estágio de desenvolvimento larval mais avançado influencia positivamente a
142 impalatabilidade de girinos de *P. bahiana*, (iii) predadores de aparelho bucal do tipo
143 mastigador (náiade de odonata), diminuirá a quantidade predada de girinos de *P.*
144 *bahiana*, quando na presença de outros girinos palatáveis.

145

146 MATÉRIAS E MÉTODOS

147

148 1. Área de estudo e período

149

150 O presente estudo foi realizado na Reserva Ecológica da Michelin, situada entre
151 os municípios de Ituberá e Igrapiúna, Bahia, Brasil (Km 05 Rodovia BA – 001) ($S13^{\circ} 49' 21,8''$; W $039^{\circ} 10' 06,7''$) a 35 m. de altitude. A Reserva localiza-se a cerca de 330
152 quilômetros da capital Salvador (Figura A1). Nesta área a precipitação ocorre durante
153 todo o ano e varia constantemente, com maior concentração de chuvas entre os meses
154 de fevereiro e maio e menor precipitação para o período que compreende os meses de
155 outubro e janeiro (Lima & Juncá, 2008). A RPPN ocupa uma área total de 213, 7235 há,
156 com dois fragmentos de Mata Atlântica em diferentes estágios de regeneração. Está
157 inserida no Mata Atlântica Baiana e Floresta Pluvial Ombrófila de Terras Baixas
158 (Camuruji *et al.*, 2010). Também fazem parte da paisagem as plantações de borracha
159 (*Hevea brasiliensis*), cacaueiro (*Theobroma cacao*) e banana (*Musa* sp.), E
160 uma plantação de mudas de árvores com algumas mandiocas (Camuruji *et al.*, 2010).

161
162 Foram realizadas quatro excursões a campo, durante o período de maio e agosto
163 de 2017. Girinos e predadores em potencial foram coletados em cinco lagoas (Figura 1)
164 ao longo da Reserva Ecológica da Michelin. As lagoas onde coletamos material
165 apresentaram comprimento que variou de 10,95 a 48,95 m ($\bar{x} = 27,76$, DP = 14,71), a
166 largura no centro da lagoa variou de 3,17 a 15,98 m ($\bar{x} = 10,33$, DP = 6,06) e em suas
167 extremidades variou de 2,35 a 13,27 m ($\bar{x} = 8,33$ m, DP = 5,30) (Figura 2).

168

169 2. Espécies utilizadas

170

171 Os girinos das espécies da família Phyllomedusidae, assim como os girinos de
172 *Phyllomedusa bahiana*, usualmente têm coloração em vida que varia de castanho a
173 cinza com tons azulados e nadadeiras frequentemente marmoreadas de preto, sendo a
174 ventral, decaindo levemente no terço inicial da cauda, mais pigmentada e com altura
175 máxima de até duas vezes maior que a altura máxima da nadadeira dorsal (Silva-Filho
176 & Juncá, 2006). A julgar pela coloração marmoreada de preto na cauda, esses girinos
177 apresentam como estratégia de defesa a coloração disruptiva (Altig & McDiarmid,
178 1999; Figueiras, 2011; Haddad e Prado, 2005; Wells, 2007).

179 Girinos da espécie *Scinax x-signatus* (Spix, 1824; Köhler & Böhme, 1996;
180 Sturaro & Peloso, 2014), pertencem à família dos Hylidae, popularmente conhecidas
181 como pererecas de banheiro, são comumente encontradas em corpos d'água temporários
182 na época das chuvas. Adultos vivem em áreas abertas, bordas de florestas e savanas
183 tropicais. A espécie pode ser vista em porções de água em áreas urbanas e interior de
184 residências (Spix, 1984; Sturaro & Peloso, 2014), mas na literatura não foi encontrado a
185 respeito da impalatabilidade dos adultos, tal qual é mencionado para os anfíbios do
186 gênero *Phyllomedusa*. Girinos da espécie *Scinax x-signatus* são nectônicos, assim como
187 os girinos de *P. bahiana*, mas não apresentam coloração disruptiva (McDiarmid &
188 Altig, 1999).

189 Como predadores, utilizamos náiades de Odonata. As náiades coletadas,
190 *Limnetron* sp. (Rambur, 1842), pertencem à Família Aeshinidae (Marco Jr. et al., 1999;
191 Soto & Fernandes-Badillo, 1994). São consideradas como grandes predadores
192 aquáticos, atuando como predadores de outros invertebrados, girinos e larvas de peixes.
193 A dieta das larvas de Odonata é determinada pela disponibilidade das presas e varia em
194 função do tamanho das larvas (Krishnaraj & Pritchard, 1995).

195

196 **3. Métodos**

197

198 **3.1 Trabalho Experimental**

199 Nas poças, coletamos girinos e náiades com auxílio de peneiras. Separamos os
200 girinos de *Phyllomedusa bahiana*, girinos de *Scinax x-signatus* e náiades em sacos
201 plásticos com água proveniente do próprio local de coleta. Transportamos os indivíduos
202 até o laboratório do alojamento da Reserva, Centro de Estudos de Biodiversidade

203 (CEB). Acondicionamos os girinos de *Phyllomedusa bahiana* e de *Scinax x-signatus*
204 separadamente, em cinco vasilhas plásticas de 55 cm de comprimento, 35 cm de largura
205 e 8,5 cm de altura, contendo um volume aproximado de 9 L de água proveniente do
206 local de coleta. Mantivemos esse material a essas condições por um período de
207 aclimatação de 12 a 18 horas. Cada vasilha acomodou em média 50 girinos.
208 Armazenamos as nátiades em potes individuais contendo água proveniente do local de
209 coleta por durante 24 horas sem se alimentarem. Em laboratório, analisamos os girinos
210 com a utilização de lupa e auxílio da chave de identificação, para certificação das
211 espécies coletadas.

212 **3.2** Para testarmos a hipótese de que girinos de *P. bahiana* irão apresentar
213 alterações comportamentais quando submetidos a um sinal químico do predador,
214 utilizamos um total de 180 girinos de *P. bahiana*, com desenvolvimento larval entre os
215 estágios 31 a 35, segundo Gosner (1960). A cada teste, utilizamos seis girinos separados
216 em aquários de 41 cm de comprimento, 27 cm de largura e 7,2 cm de altura, contendo
217 aproximadamente 2,5 L de água do próprio ambiente de coleta. Deixamos os girinos
218 nestes aquários por um período de 24 horas para aclimatação. Observamos a resposta
219 dos girinos de *P. bahiana* oferecendo um sinal químico de predação. Esse sinal químico
220 constou de um extrato de predador, preparado a partir de um macerado do mesmo. O
221 macerado foi preparado com 10 nátiades e 200 ml de água destilada. Posteriormente esse
222 macerado foi filtrado e armazenado em Becker, para a realização dos experimentos.

223 Cerca de 20 ml desse extrato foi introduzido no centro de em uma bandeja
224 contendo 6 girinos. Numa outra bandeja de mesmas dimensões e mesmo volume de
225 água do local da coleta, também com 6 girinos, 20 ml de água destilada foram
226 introduzidos também no centro da bandeja.

227 Gravamos e contamos o número de girinos paralisados, um minuto antes da
228 aplicação dos tratamentos em cada bandeja (1) e um minuto após a aplicação dos
229 tratamentos (2). Repetimos o experimento por 15 vezes com macerado e 15 vezes com
230 água destilada, totalizando 30 repetições.

231 **3.3-** Com objetivo de testarmos se um estágio de desenvolvimento larval mais
232 avançado influencia positivamente a impalatabilidade e no surgimento de glândulas
233 secretoras de substâncias tóxicas de girinos de *P. bahiana*, agrupamos os girinos em três
234 categorias, de acordo com o estágio de desenvolvimento da larva, seguindo Gosner
235 (1960): desenvolvimento inicial (estágios 25 a 27), intermediário (estágios 31 a 35) e

236 pré-metamórfico (estágios 38 a 41) para realização dos testes. Medimos o comprimento
237 total dos girinos com o uso de um paquímetro digital (Kingtools 502.150"BL, 150
238 mm/6" e resolução de 0,01mm/.0005"), assim como os predadores seguindo Lawler &
239 Hero (1997).

240 Separamos um girino de *Phyllomedusa bahiana* e um *Scinax x-signatus* em dois
241 potes plásticos de 14 cm de comprimento, 12 cm de largura e 9 cm de altura, de 1000
242 ml, contendo 550 ml de água filtrada proveniente do local de coletas dos indivíduo.
243 Filtramos a água proveniente das poças com um filtro de papel, com o intuito de
244 diminuir a quantidade de sedimentos contidos e aumentar a visibilidade em cada pote.
245 Após um período de aclimatação de 24 horas, em cada pote, introduzimos uma nálide
246 em jejum de 24 horas. Observamos os indivíduos durante um período de 90 minutos,
247 com o uso de uma lanterna com a “luz vermelha”. Realizamos os experimentos das
248 09h00min às 17h00min em uma sala totalmente isolada, com baixa luminosidade, sem
249 ruídos e com temperaturas de 26 a 28 Cº (Figura 2). Durante o período de observação
250 registramos: a) ocorrência ou não de predação, b) qualquer tipo de reação anti-predação
251 dos girinos. Para cada espécie, repetimos o teste 10 vezes, para cada categoria de
252 desenvolvimento.

253 Após a realização desse experimento, os girinos de *P. bahiana* foram
254 anestesiados com a substância de cloridrato de lidocaína (4,0g) e em seguida foram
255 fixados em armazenados em uma solução de TRANSOL com 10% formol a 10%, 60%
256 de álcool a 70%, e 30% de água. Os exemplares foram depositados na Divisão de
257 Anfíbios e Répteis do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Feira de
258 Santana.

259 **3.4-** Por fim, com o objetivo testarmos a hipótese de que predadores de aparelho
260 bucal do tipo mastigador (Nálide de Odonata) predarão menos girinos de *Phyllomedusa*
261 *bahiana* quando na presença de girino palatável (aqui assumimos como girino palatável
262 da espécie *Scinax x-signatus*), colocamos um girino de cada uma das espécies em um
263 único pote de mesmas dimensões do experimento anterior, contendo 550 ml de agua.
264 Após período de aclimatação de 24 horas, introduzimos em cada pote com os dois
265 girinos, o predador em jejum de 24 horas. Para observação, utilizamos a mesma
266 metodologia descrita acima. Registramos a ocorrência ou não de predação ou qualquer
267 tipo de comportamento defensivo por parte dos girinos ou reação do predador ao entrar
268 em contato com os mesmos (Figura 2).

269

270 **4. Análises estatísticas**

271 Para testar a hipótese de reação de girinos frente a um sinal químico de um
272 predador, comparamos o número de girinos paralisados nas bandejas com adição de
273 macerado do predador com o número de girinos paralisados das bandejas com adição de
274 água destilada. Utilizamos um Teste T como teste estatístico para a realização dessa
275 comparação. Os tratamentos (com extrato de predador, água destilada) foram as
276 variáveis preditoras, o número de girinos paralisados a variável resposta.

277 Para responder a hipótese de que um estágio de desenvolvimento larval mais
278 avançado influencia positivamente a impalatabilidade de girinos de *P. bahiana*,
279 utilizamos o teste estatístico ANOVA. O número de girinos predados foi a variável
280 preditora, os estágios de desenvolvimento ontogenético a variável resposta. Utilizamos
281 os mesmo teste para girinos de *Scinax x-signatus*.

282 Para a hipótese de preferência do predador, quando oferecidos girinos das duas
283 espécies num mesmo momento, utilizamos o teste estatístico ANOVA, sendo os
284 estágios de desenvolvimento ontogenético a variável preditora e o número de girinos
285 predados das duas espécies a variável resposta, comparando a taxa de predação entre os
286 estágios de desenvolvimento ontogenético pré-estabelecidos acima e entre as espécies.

287 Todos os testes foram realizados no software R (R Core Team, 2018),
288 verificamos qual teste apresentou uma diferença significativa considerando valores de
289 p>0,05, para aceitar ou rejeitar as nossas hipóteses.

290

291 **RESULTADOS**

292

293 **1. Alterações comportamentais quando girinos foram submetidos a um sinal
294 químico do predador.**

295 Os experimentos realizados com girinos de *Phyllomedusa bahiana* mostram que
296 houve redução significativa da atividade natatória dos girinos submetidos ao sinal
297 químico do predador (macerado) quando comparados aos girinos submetidos à agua
298 destilada ($t=5,32$; $gl=22$; $p<0,05$) (Figura 6), indicando que girinos de *P. bahiana*
299 diminuem sua atividade natatória para evitarem o contato com o sinal químico do

300 predador. Contabilizamos também a quantidade de girinos paralisados antes da
301 aplicação dos tratamentos e não houve diferença entre os dois grupos ($T=0,402$; $gl=22$;
302 $p=0,69$).

303

304 **2. Estágio de desenvolvimento larval mais avançado influencia positivamente a**
305 **impalatabilidade de girinos de *Phyllomedusa bahiana*.**

306

307 Nas categorias de desenvolvimento ontogenético pré-estabelecidos, os girinos de
308 *P. bahiana* e nátiades de Odonata utilizadas nos testes, apresentaram comprimento
309 médio, desvio padrão e número total para cada categoria: girinos categoria 1 ($x= 2,27$,
310 $DP= 0,78$, $n= 51$) e nátiades, ($x= 2,80$, $DP= 0,75$, $n= 51$); girinos categoria 2 ($x= 3,11$,
311 $DP=0,73$, $n= 47$), as nátiades ($x=3,40$, $DP= 0,62$, $n= 47$). Girinos categoria 3 ($x= 4,08$,
312 $DP= 0,68$, $n= 42$), as nátiades ($x=4,20$, $DP= 0,64$, $n= 42$). Já os girinos de *S. x-signatus* e
313 nátiades, apresentaram comprimento médio, desvio padrão e número total
314 respectivamente para cada categoria: girinos categoria 1 ($x= 2,18$, $DP= 0,86$, $n= 51$) e
315 nátiades ($x= 2,78$, $DP= 0,72$, $n= 51$); girinos categoria 2 ($x= 2,87$, $DP=0,75$, $n= 49$) e as
316 nátiades ($x=3,23$, $DP= 0,64$, $n= 49$); girinos categoria 3 ($x=3,38$, $DP= 0,65$, $n= 40$) e as
317 nátiades ($x=3,97$, $DP= 0,61$, $n= 40$).

318 Os resultados referentes à taxa de predação de girinos de *P. bahiana* ($n = 140$) e
319 *Scinax x-signatus* ($n =140$), mostraram que:

320 **2.1 Ocorrência ou não de predação.**

321 A predação em girinos de *P. bahiana* diminuiu de acordo com o avanço do
322 estágio de desenvolvimento ontogenético da espécie ($F=4,18$; $gl=2$; $p=0,02$) (Figura 4).
323 A predação para girinos de *S. x-signatus* se manteve constante mesmo com o avanço do
324 desenvolvimento ontogenético dos girinos da espécie ($F=1,052$; $gl=2$; $p=0,36$) (Figura
325 5).

326 **2.2 Reação anti-predação dos girinos.**

327 Girinos de *P. bahiana* e de *S. x-signatus* evitaram as nátiades de Odonata, quando as
328 mesmas tentavam se aproximar, esses girinos se afastaram das nátiades, principalmente,
329 girinos de *P. bahiana* em estágios mais avançados (38-41). Algumas nátiades chegaram
330 a se aproximar e atacar alguns girinos de *P. bahiana* nesses estágios (38-41), só que não
331 os predaram. Após o ataque, passaram a evitar o encontro com esses girinos, se
332 mantiveram distantes, em cantos opostos. Os girinos de *P. bahiana* ficaram paralisados

333 a maior parte do tempo quando, principalmente em potes nos quais ocorreu o ataque das
334 nárides, diferentemente dos girinos de *S. x-signatus*.

335

352 **3. Preferência do predador diante das duas espécies de girinos.**

353 Para o teste de escolha da presa pelo predador, contendo girinos de *P. bahiana* e
354 girinos de *S. x-signatus* (um de cada) e uma náride de Odonata, os girinos e nárides
355 apresentaram comprimento médio, desvio padrão e número total respectivamente para
356 cada categoria de desenvolvimento ontogenético pré-estabelecida segundo a Tabela 1.

357 Nas três categorias de desenvolvimento ontogenético, os girinos de *P. bahiana*
358 foram predados em menor número do que os girinos de *S. x-signatus* ($F=9,29$; $gl=5$;
359 $p<0,05$), indicando uma preferência do predador por uma espécie que seja palatável
360 (Figura 6).

361

362 **DISCUSSÃO**

363 Nossos resultados confirmaram as três hipóteses testadas: i) houve redução na
364 atividade natatória de girinos de *P. bahiana* quando submetidos ao sinal químico do
365 predador; ii) as nárides de odonata evitaram se alimentar de girinos de *Phyllomedusa*
366 *bahiana* em estágios mais avançados de desenvolvimento ontogenético (38-41),
367 indicando que os girinos dessa espécie seriam impalatáveis a esse predador e iii)
368 nárides de odonata preferiram consumir os girinos de *Scinax x-signatus* aos de *P.*
369 *bahiana* em todos os estágios de desenvolvimento, quando oferecido às duas espécies
370 de girinos no mesmo pote.

371 Estratégias relacionadas à baixa detecção podem ser usadas por girinos de
372 algumas espécies, incluindo a permanência estática (Casillas-Barragán *et al.*, 2016).
373 Girinos de *P. bahiana* em estágios de desenvolvimento 31-35 (Gosner, 1960) foram
374 capazes de detectar as pistas químicas de predadores e evitaram possível confronto
375 permanecendo imóveis, comportamento usual entre girinos de outras espécies (Chelini
376 *et al.*, 2009), inclusive para *Phyllomedusa tarsius*, em fases anteriores de
377 desenvolvimento (Schmidt *et al.*, 2001), *Trachycephalus resinifictrix* (Casillas-
378 Barragán *et al.*, 2016), *Lithobates pipiens* (Hossie & Murray, 2012). Isso reforça a ideia
379 de que girinos podem reconhecer e diferenciar espécies de potenciais predadores
380 (Kiesecker *et al.*, 1996; Schmidt *et al.*, 2001).

381 Nos girinos de *Phyllomedusa bahiana* essa estratégia de permanência estática
382 no ambiente natural, associada à coloração disruptiva que apresenta, pode diminuir
383 ainda mais as chances de ser detectado pelo predador, conforme registrado em outros
384 trabalhos (Merilaita & Lind 2005). A coloração disruptiva promove a identificação
385 errônea dos contornos do corpo ou mesmo o disfarce e/ou semelhança de um
386 organismo com um objeto não comestível, aumentando a camuflagem e dificultando o
387 reconhecimento por parte dos predadores (Polo-Cavia & Gomez-Mestre, 2017).

388 A impalatabilidade, produzida pelo acúmulo de substâncias tóxicas na pele, é um
389 mecanismo comum em de girinos de muitas espécies (Costa & Nomura, 2014). Nossos
390 resultados indicam que a impalatabilidade está presente em girinos de *Phyllomedusa*
391 *bahiana* e varia com o estágio ontogenético de desenvolvimento, conforme já apontado
392 por Lawler & Hero (1997) para girinos de outras espécies. No caso dos girinos de *P.*
393 *bahiana*, a impalatabilidade se intensifica à medida que o indivíduo se aproxima de sua
394 fase final de metamorfose. Em contraste, Brodie e Formanowicz (1987), usando nárides
395 de odonata e baratas d'água, demonstraram que girinos em estágios iniciais de
396 desenvolvimento (25-28, Gosner, 1960) e pré-metamórficos (38-41) de *Anaxyrus*
397 *americanus* eram desagradáveis para predadores, enquanto os estádios intermediários de
398 desenvolvimento (31-35) eram palatáveis. Portanto, as respostas e estratégias anti-
399 predação em girinos podem ser específicas. Por sua vez, a impalatabilidade não depende
400 da detecção prévia de um predador para ser eficiente, mas sim, da sensibilidade deste à
401 substância impalatável e da capacidade de aprendizagem (Hero *et al.*, 2001; Nomura *et*
402 *al.*, 2011). Já girinos de *S. x-signatus* foram predados em todos os estágios de
403 desenvolvimento testados, confirmando que não se tratam de organismos impalatáveis.

404 Ainda, na presença de girinos das duas espécies, larvas de Odonata preferiram se
405 alimentar de girinos de *S. x-signatus*. Estes resultados reforçam a hipótese de que
406 girinos de *P. bahiana* são impalatáveis e que a impalatabilidade se acentua nos estágios
407 próximos à metamorfose. O mesmo resultado, entretanto, mais uma vez não se aplica
408 aos girinos de *S. x-signatus* que foram predados em todas as categorias de
409 desenvolvimento ontogenético aqui estabelecidas, indicando que os mesmos são
410 palatáveis às larvas de odonata. Há de se considerar que a coloração disruptiva presente
411 em girinos de *P. bahiana*, principalmente nos estádios intermediários (31-35) e pré-
412 metamórficos (38-41), auxiliaria na confusão por parte do predador na sua detecção,

413 coloração está que não foi observada em girinos de *S. x-signatus* em nenhum de seus
414 estágios de desenvolvimento ontogenético.

415 A impalatabilidade em girinos é mais eficiente contra predadores que engolem
416 a presa inteira, como peixes, ou que mastigam a presa antes de consumi-la, como larvas
417 de Odonata (Hero *et al.*, 2001; Van Burskirk, 1988). Szuroczki & Richardson (2011),
418 afirma em seu trabalho com girinos de *Lithobates catesbeianus* nas fases (30-34), que
419 predadores possuem a capacidade de detectar itens alimentares que são impalatáveis e
420 em seguida, modificar forrageamento, refletindo uma aversão aprendida. Entretanto, no
421 nosso trabalho, não temos como afirmar que as náïades testadas tiveram qualquer
422 contato anterior com girinos de *Phyllomedusa bahiana*, caracterizando a menor
423 predação nos estágios mais avançados de desenvolvimento como uma aprendizagem.

424 O desenvolvimento de glândulas secretoras de toxinas poderia explicar a
425 impalatabilidade dos girinos de *P. bahiana*, com o avanço de seu desenvolvimento
426 ontogenético, assim como acreditam Lawler & Hero (1997) e Heyer *et al.*, (1975), no
427 seu estudo com *Rhinella marina*, também em três categorias de desenvolvimento
428 ontogenético pré-estabelecidas e utilizando como predador um vertebrado (*Lates*
429 *calcarifer*). Os autores discutiram que o aumento da impalatabilidade nesses girinos em
430 estágios posteriores pode simplesmente ser uma função de seu tamanho maior (área de
431 superfície aumentada) e, portanto, da maior dose de toxinas encontradas pelos
432 predadores. Não sabemos se o mesmo aconteceria com os girinos de *Phyllomedusa*
433 *bahiana*. Seriam necessárias amostras histológicas de pele para constatar se ocorre
434 aumento de número de glândulas granulosas ou se o aumento é decorrência da maior
435 área pelo crescimento dos girinos ao longo do desenvolvimento ontogenético.

436 As defesas contra predadores são ajustadas pela evolução para permitir que as
437 presas sobrevivam com predadores específicos, também um importante determinante da
438 distribuição de espécies e espera-se que apenas girinos com as defesas apropriadas
439 sobrevivam em um determinado corpo de água com tipos específicos de predadores
440 (Hero *et al.*, 2001).

441 Nos experimentos deste estudo, buscamos oferecer as condições mínimas nas
442 quais os predadores e girinos encontram no ambiente natural. Entretanto, a
443 complexidade estrutural do habitat natural somado ao efeito de múltiplos predadores
444 pode reduzir o risco e predação de girinos (Costa & Nomura, 2014; Kopp *et al.*, 2006),
445 portanto, são necessárias mais informações sobre as respostas induzidas por predadores

446 específicos e como a taxa de abundância e predação interagem na formação de respostas
447 induzidas.

448 **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

449 Os resultados indicam que o comportamento de natação dos girinos de
450 *Phyllomedusa bahiana*, foi afetado pela presença de pistas indiretas do predador, sinais
451 químicos das náiades de Odonata. Girinos de *P. bahiana* apresentaram uma plasticidade
452 comportamental induzida pelo predador que foi a suspensão da natação e paralisia do
453 girino. Essa estratégia pode ser reforçada pela coloração disruptiva.

454 A impalatabilidade de *P. bahiana* pode estar presente desde estágios iniciais dos
455 girinos e se intensificar à medida que o indivíduo se aproxima de sua fase final de
456 metamorfose, podendo esses girinos apresentarem maior quantidade de glândulas
457 secretoras de substâncias tóxicas a medida que se desenvolvem. Portanto novos estudos
458 que investiguem como essas glândulas se desenvolvem ao longo do desenvolvimento
459 dos girinos de *Phyllomedusa bahiana* podem ajudar na compreensão dos mecanismos
460 defensivos em girinos de *P. bahiana*.

461

462 **AGRADECIMENTOS**

463 À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de nível Superior (CAPES) pela
464 concessão da bolsa de estudos. A todos que contribuíram na formação do manuscrito, na
465 coleta de dados em campo e nas análises de dados. A Divisão de Anfíbios e Répteis
466 (DAR) do Museu de Zoologia de Feira de Santana pelo apoio logístico e a Universidade
467 Estadual de Feira de Santana (UEFS), pelo auxílio no transporte.

468

469

470

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

481

482 **REFERÊNCIAS**

483

484 ALCOCK, J. **Animal Behavior**. 6th ed. Sunderland: Sinauer Associates. 640p. 1998.

485 ALMEIDA, F.S; MARTINS, L; FARJI-BRENER, A,G. Estratégias de Artrópodes
486 Contra Predação por Formigas em Floresta Secundária no Rio de Janeiro.
487 **EntomoBrasilis**, v. 3, n.2, p. 69-72, 2010.

488 ALTIG, R; WHILE, M. R; TAYLOR, C. L. What do tadpoles really eat? Assessing
489 the Trophic Status of an Understudied And Imperiled Group of Consumers in
490 Freshwater Habitats. **Freshwater Biology**, v. 52, n. 2, p. 386–395, 2007.

491 BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER , J. L. 2007. Ecologia de Indivíduos a
492 Ecossistemas. 4^a ed, **Artmed**, Porto Alegre, 2007).

493 BOORSE, G. C; DENVER, R. J. Endocrine Mechanisms Underlying Plasticity in
494 Metamorphic Timing in Spadefoot Toads. **Integrative and Comparative
495 Biology**, v. 43, n. 5, p. 646–657, 2003.

496 BORTEIRO, C; BALDO, D; KUNZ, T.S; R PEREZ, R;; ELTZ, R. P; KOLENC, F.
497 Contracting behaviour in three species of Phyllomedusa (Anura: Hylidae:
498 Phyllomedusinae). **Herpetology Notes**, volume 7: 393-395 (2014).

499 CAMURIJI, F,; LIMA, T.M; MERCÊS, E.A.; JUNCÁ, F.A. Anurans of the Reserva
500 Ecológica da Michelin, Municipality of Igrapiúna, State of Bahia, Brazil. **Biota
501 Neotropica**, São Paulo, v. 10, n. 2, 2010.

502 CASILLAS-BARRAGÁN, I. COSTA-PEREIRA, R. & PEIXOTO, P, C. Risco de
503 predação percebida diminui o movimento e aumenta a agregação de rã do leite

- 504 da Amazônia (Anura, Hylidae) girinos em todo ontogenia. **PEC Hydrobiologia**
505 , v, 10, 765: 379, 2016.
- 506 COSTA, R. N.; NOMURA, F. Avaliação de risco e plasticidade comportamental
507 limitada em girinos de *Rhinella ornata* (Anura, Bufonidae). **Iheringia. Série**
508 **Zoologia**, v. 104, n. 2, p. 162–167, 2014.
- 509 CUTHILL, C. I.; STEVENS, M. Coloração disruptiva, crypsis e detecção de bordas no
510 processamento visual inicial. **Proceedings da Royal Society B: Biological**
511 **Sciences**.273 (1598): 2141-2147, 2006.
- 512 DEL-CLARO, K. 2004. Comportamento animal: uma introdução à ecologia
513 comportamental. Jundiaí: Livraria e Editora Conceito. 132p.
- 514 DELFINO, G. BRIZZI, R. ALVAREZ, B, B. KRACKE-BERNDORFF.; Serous
515 cutaneous glands in *Phyllomedusa hypocondrialis* (Anura: Hylidae) secretoty paternns
516 during ontogeney. **Tissue & Cell**, 30 (1) 30-40.1988.
- 517 DUELLMAN, W. E, & TRUEB, L., 1994. Biology of Amphibians. **Baltimore: Johns**
518 **Hopkins University**, p 87- 107, 1994.
- 519 EDMUNDS, M. Defense in animals. **Logman Group Limited**, Great Britain 1974.
- 520 FIGUEIRAS. H. S. F. Ecologia Trófica e Reprodutiva de *Phyllomedusa*
521 *hypochondrialis* (Daudin, 1802) (Hylidae, Phyllomedusinae) na Amazônia
522 Oriental, Para, Brasil. Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade
523 Federal do Para e **Muzeu Paraense Emilio Goeldi**. 57 p. 2011.
- 524 GOSNER, K. L. (1960). A simplified table for staging anuran embryos and larvae with
525 notes on identification. **Herpetologica** 16, 183–190, 1960.
- 526 GNASPINI, P. & HARA, M.R. Defense mechanisms. Em: Harvestmen: the biology of
527 Opiliones (R. Pinto-da-Rocha, G. Machado & G. Giribet, eds). **Harvard**
528 **University Press**, Massachussets, p. 375-399 2007.
- 529 GRIFFTHS, R.A.; L. SCHLEY, P.E. SHARP; J. DENNIS & A. ROMA. Behavioural
530 responses of mallorcan midwife toad tadpoles to natural and unnatural snake
531 predators. **Animal Behaviour**, 55:207-214, 1998.
- 532 GUNZBURGER, M, S. TRAVIS, J. Critical Literature Review of the Evidence for
533 Unpalatability of Amphibian Eggs and Larvae. **Journal of Herpetology**, V. 39,
534 No. 4, p. 547–571, 2005.
- 535 HADDAD, C.F.B., PRADO, C.P.A. Reproductive modes in frogs and their unexpected
536 diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience** 55(3): 207-217. 2005.

- 537 HEYER, W. R.; MCDIARMID, R. W. & WEIGMANN, D. L. 1975. Tadpoles,
538 predation and pond habits in the tropics. **Biotropica** 7:100-111.
- 539 HERO, J. M.; MAGNUSSON, W. E.; ROCHA, C. F. D. & CATTERALL, C. P., 2001.
540 Antipredator defenses influence the distribution of amphibian prey species in the
541 central Amazon rain forest. **Biotropica** 33:131-141. 2001.
- 542 KIESECKER, J. M., AND A. R. BLAUSTEIN. 1997. Population differences in
543 responses of Red-Legged Frogs (*Rana aurora*) to introduced bullfrogs. **Ecology**,
544 78: 1752– 1760. 1997.
- 545 KRISHNARAJ, R.; PRITCHARD, G. Influence of larval size, temperature and
546 components of functional response to prey density on growth rate of the
547 dragonflies *Lestes disjunctus* and *Coenagrion resolutum* (Insecta: Odonata).
548 **Can. J. Zool.**, Ottawa, v.73, p.1672-1680, 1995.
- 549 KÖHLER, J., and W. BÖHME. 1996. Anuran amphibians from the region of Pre-
550 Cambrian rock outcrops (inselbergs) in northeastern Bolivia, with a note on the
551 gender of *Scinax Wagler, 1830* (Hylidae). **Revue Française d'Aquariologie,**
552 **Herpétologie** 23: 133–140
- 553 KOOP, K.; WACHLEVS KI, M. & ETEROVICK, P. C. 2006. Environmental
554 complexity reduces tadpole predation by water bugs. **Canadian Journal of**
555 **Zoology**, 84: 136-140. 2006.
- 556 LAWLER, K. L e HERO, J.-M., 1997 Palatability of *Bufo marinus* Tadpoles to a
557 Predatory Fish Decreases with Development. **Wildlife Research**, v. 24, n. 3, p.
558 327, 1997.
- 559 LEFCORT, H., AND S. M. EIGER. 1993. Antipredatory behaviour of feverish
560 tadpoles: implications for pathogen transmission. **Behaviour**, 126:13–27, 1993.
- 561 LIMA, T.M.; JUNCÁ, F.A.; A herpetofauna de serapilheira da Reserva Ecológica da
562 Michelin, Ituberá, Bahia, Brasil. **Sitientibus, Série Ciências Biológicas**, v. 8, n.
563 3-4, p. 316-321, 2008.
- 564 MARCO Jr. P. Environmental determination of dragonfly assemblage in aquaculture
565 ponds. **Aquac. Res., Oxford**, v.30, no.5, p.357-364, 1999.
- 566 McCOLLUM, S. A. & VAN BUSKIRK, J. 1996. Costs and benefits of a predator-
567 induced polyphenism in the gray treefrog *Hyla chrysoscelis*. **Evolution**
568 50(2):583-593. 1990.
- 569 MCDIARMID, R.W., ALTIG, R. Tadpoles, the Biology of Anuran Larvae. **The**
570 **University of Chicago Press**, p. 240-278, 1999.

- 571 MERILAITA S, LIND J. Background-matching and disruptive coloration, and the
572 evolution of cryptic coloration. **Proceedings da Royal Society B: Biological**
573 **Sciences.** 2005;272:665–670
- 574 MIGNOGMA, G.; SEVERENI, C; ERSPAMER, G.F.; SILICIANO, R.; KREILH, G.;
575 BARRA, D. Tachykinins and other biologically active peptides from the skin of
576 the Costa Rican Phyllomedusid frog *Agalychnis callidryas*. **Peptides**, v.18, n.3,
577 p.367-372, 1997.
- 578 MOORE, R. D.; GRIFFITHS, R. A.; O'BRIEN, C. M.; MURPHY, A. & JAY, D. 2004.
579 Induced defences in an endangered amphibian in response to an introduced
580 snake predator. **Oecologia** 141:139-147, 2004.
- 581 MUNDIN, N. C. C. R., 2008 Prospecção de Bradicininas de anfíbios do gênero
582 *Phyllomedusa*. **Journal of Inorganic Biochemistry**, p. 84, 2008.
- 583 NOMURA, F; PRADO, V. H. M; SILVA, F. R; BORGES, R. E; DIAS, N. Y. N. &
584 ROSSA-FERES, D. C. 2011. Are you experienced? Predator type and predator
585 experience trade-offs in relation to tadpole mortality rates. **Journal of Zoology**,
586 288:144-150, 2011.
- 587 ODUM, Eugene Pleasants. Fundamentos de ecologia. 6. ed. Lisboa: **Fundação**
588 **Calouste Gulbenkian**, 927 p, 2001.
- 589 ORICCHIO, F. CORREIRA, J. COSTA, K. PEREIRA, T. Antes só do que mal
590 acompanhado : agregação e velocidade de deslocamento em girinos de *Rhinella*
591 *ornata* (Bufonidae) em diferentes estágios de desenvolvimento. **Pós graduação**
592 **em Ecologia Universidade de são paulo**, p. 1–4, 2013.
- 593 POLO-CAVIA, N. GOMEZ-MESTRE, I.; Pigmentation plasticity enhances crypsis in
594 larval newts: associated metabolic cost and background choice behaviour
595 **Scientific Reports**, V. 7, 39739, 2017.
- 596 PETRANKA, J. W., L. B. KATS, AND A. SIH. 1987. Predatorprey interactions among
597 fish and larval amphibians: use of chemical cues to detect predatory fish.
598 **Animal Behaviour**, 35:420–425, 1987.
- 599 PETERSON, J. A., and BLAUSTEIN, A. R. (1992). Relative palatabilities of anuran
600 larvae to natural aquatic insect predators. **Copeia**, 577–584, 1992.
- 601 POMBAL, J. P., Jr., and C. F. B. HADDAD. 1992. Espécies de Phyllomedusa do
602 grupo bahiana do Brasil oriental, com descrição de uma espécie nova (Amphibia,
603 Hylidae). **Revista Brasileira de Biologia** 52: 217–229.

- 604 PREISSER, E.L.; BOLNICK, D.I & BERNARD, M.F, 2005.Scared to death? The
605 effects of intimidation and consumption in predator-prey interactions. **Ecology**,
606 86(2):501–509, 2005.
- 607 SANTOS, F. J. M; PROTÁZIO, A. S; MOURA, C. W. N; JUNCÁ, F. A. Diet And
608 Food Resource Partition Among Benthic Tadpoles of Three Anuran Species in
609 Atlantic Forest Tropical Streams. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 31, n. 1,
610 p. 53–60, 2015.
- 611 SIH, A.; ENGLUND, G. & WOOST ER, D. 1998. Emergent impacts of multiple
612 predators and prey. **Trends Ecology and Evolution**, 13:350-355, 1998.
- 613 SCHMIDT, B & AMÉZQUITA, A. (2001). Predator-induced behavioural responses:
614 Tadpoles of the neotropical frog Phyllomedusa Tarsius do not respond to all
615 predators. *Herpetol. J.*. 11. 2001.
- 616 SILVA-FILHO, I. S & JUNCÁ, F. A.; Evidence of full species status of the neotropical
617 leaf-frog Phyllomedusa bahiana bahiana (A. Lutz, 1925) (Amphibia, Anura,
618 Hylidae). **Zootaxa** 1113: 51–64 (2006)
- 619 SNOWDON, C. T.. O significado da pesquisa em Comportamento Animal. **Estud.**
620 **psicol. (Natal)** [online]. 1999, vol.4, n.2, pp.365-373. ISSN 1678-4669.
- 621 SPIELER, M.; LINSENMAIR, K. E. Aggregation Behaviour of *Bufo maculatus*
622 Tadpoles as an Antipredator Mechanism. **Ethology**, v. 105, n. 8, p. 655–686,
623 1999.
- 624 SPIX, J. B. v. 1824. *Animalia nova sive Species novae Testudinum et Ranarum quas in*
625 *itinere per Brasiliam annis MDCCCXVII–MDCCXX jussu et auspiciis*
626 *Maximiliani Josephi I. Bavariae Regis*. München: F. S. Hübschmann.
- 627 SOTO, M.E.L.; FERNÁNDEZ-BADILLO, A. Cambios em composicion y diversidad
628 de la entomofauna de lo Rio Guey, Parque Nacional Pittier, Estado Aragua,
629 Venezuela. **Bol. Entomol.** Venez., Provo, v.9, no.1, p.25-32, 1994.
- 630 STURARO, M. J., and P. L. V. PELOSO. 2014. A new species of *Scinax* Wagler, 1830
631 (Anura: Hylidae) from the Middle Amazon River Basin, Brazil. **Papéis Avulsos**
632 **de Zoologia**. São Paulo 54: 9–23.
- 633 SZUROCZKI, D. RICHARDSON, J, M, l.; Palatability of the Larvae of Three Species
634 of *Lithobates*. *Herpetologica*, 67(3):213-221, 2011.
- 635 SUMMERS, K.; GLOUGH, M.E. The evolution of coloration and toxicity in the poison
636 frog family (Dendrobatidae). **PNAS**, v.98, n.11, p.6627-6632, 2000.

- 637 TOLEDO, L. F.; SAZIMA, I.; HADDAD, C. F. B. Behavioural defences of anurans: an
638 overview. **Ethol. Ecol. Evol.**, v. 23, n, 1, p. 1-25, 2011.
- 639 TOUCHON, J.C.; WARKENTIN, K. M. Fish and dragonfly nrmph preadtors induce
640 oppsite shifts in color and morphology of tadpoles. **Oikos**, v. 117, p. 634-640,
641 2008.
- 642 UETZ, G.W.; J. BOYLE; C.S. HIEBER & R.S. WILCOX. 2002. Antipredator benefits
643 of group living in colonial web-building spiders: the „early warning“ effect.
644 **Animal Behaviour**, 63:445-452, 2002.
- 645 VAN BUSKIRK, J. 1988. Interactive effects of dragonfly predation in experimental
646 pond communities. **Ecology** 69:857-867, 1998.
- 647 VAN BUSKIRK, J; MCCOLLUM, S.A. Influence of tail shape on tadpole swimming
648 performance. **Journal of Experimental Biology** 203: 2149-2158. 2000.
- 649 WASSERSUG, R. 1971. Aspects of social behavior in anuran larvae. Evolutionary
650 biology of the anurans. Contemporary research on major problems. Columbia:
651 **University of Missouri Press**. p. 273-297, 1971.
- 652 WELLS, K. D. 2007. The Ecology and Behavior of Amphibians. **The University of
653 Chicago**. p. 729-752.
- 654 WERNER, E. E. & PEACOR, S. D. 2003. A Review of Trait-Mediated Indirect
655 Interactions in Ecological Communities. **Ecology** 84(5):1083-1100, 2003.
- 656 ZUG, G. R. 1993. Herpetology: An introductory Biology of Amphibians And Reptiles.
657 **Academic Press**, San Diego, P. 1993.
- 658
- 659
- 660
- 661
- 662
- 663
- 664
- 665
- 666
- 667

668

669

670

671

672

673

674

675

676 **LEGENDA DAS FIGURAS**

677

678

679 **Figura 1: Ambientes onde coletamos girinos de *Phyllomedusa bahiana* e *Scinax x-signatus*, nárides de Odonata e água para execução do experimento.** Lagoa próxima
680 ao Centro de Estudos em Biodiversidade (1); lagoa formada numa estrada (2); lagoa
681 próxima a uma plantação de cacau (3A, 3B); lagoa próxima a uma plantação de banana
682 (4); lagoa próxima ao restaurante da reserva (5).

684

685

686 **Figura 2: Observação de ocorrência de predação de girinos por nárides.** Potes com
687 girinos e nárides (1); Predação de girinos de *Phyllomedusa bahiana* (2).

688

689 **Figura 3: Média e desvio padrão de girinos de *Phyllomedusa bahiana* paralisados**
690 **em diferentes tratamentos: água destilada e macerado de náides de Odonata.**

691

692 **Figura 4: Media e desvio padrão do número de girinos em três estágios de**
693 **desenvolvimento ontogenético de *Phyllomedusa bahiana*, predados por nárides de**
694 **Odonata.** Inicial (25-28); intermediário (31-35); pré-metamórfico (38-41), seguindo
695 Gosner (1960).

696

697 **Figura 5: Media e desvio padrão do número de girinos em três estágios de**
698 **desenvolvimento ontogenético de *Scinax x-signatus*, predados por nárides de**

699 **Odonata.** Inicial (25-28); intermediário (31-35); pré-metamórfico (38-41), seguindo
700 Gosner (1960).

701

702 **Figura 6: Media e desvio padrão do número de girinos em três estágios de**
703 **desenvolvimento ontogenético de *Phyllomedusa bahiana* e *Scinax x-signatus*,**
704 **predados por náfiades de Odonata.** Phyllo – girinos de *P. bahiana*, Scinax – girinos
705 de *Scinax x-signatus*. Phyllo1 – estágios 25 a 28; Phyllo2 – estágios 31 a 35; Phyllo3 -
706 estágios 38 a 41. Scinax1 – estágios 25 a 28; Scinax2 – estágios 31 a 35; Scinax3 -
707 estágios 38 a 41, seguindo Gosner (1960).

708

709 **Fig 1:**

710

711



728 **Fig 2:**

729



730 1



731 2

732

733

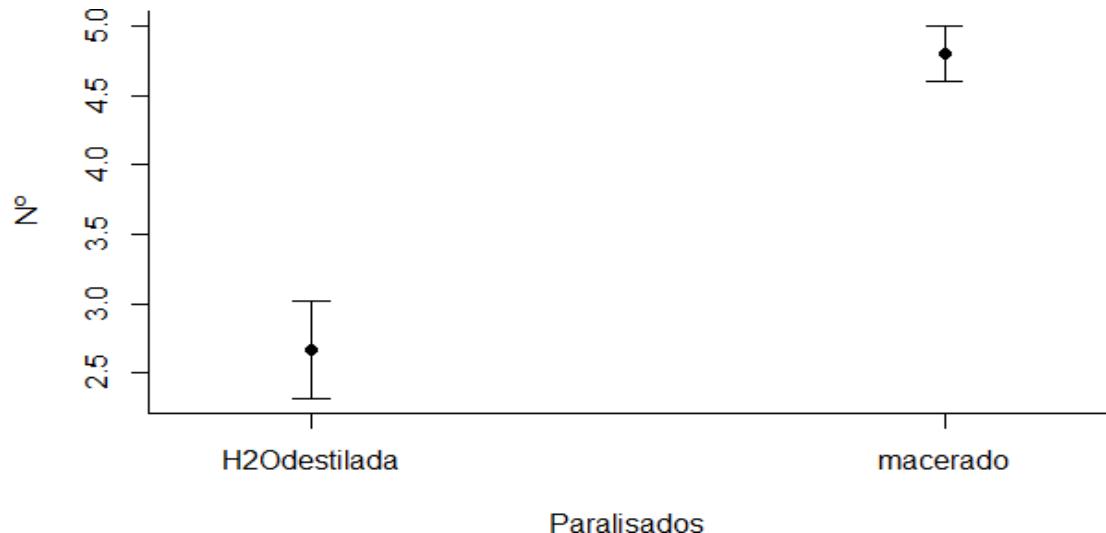
734

735

736 **Fig 3:**

737

738



739

740

741

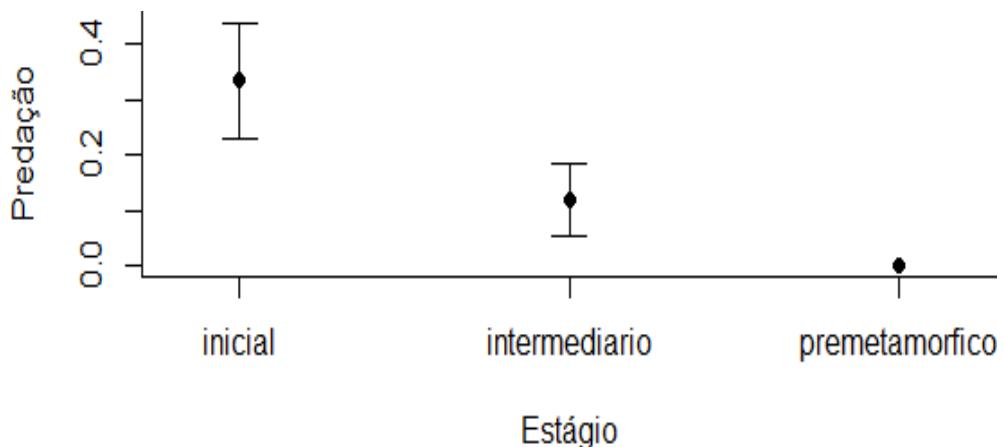
742

743

744

745

746 **Fig 4:**

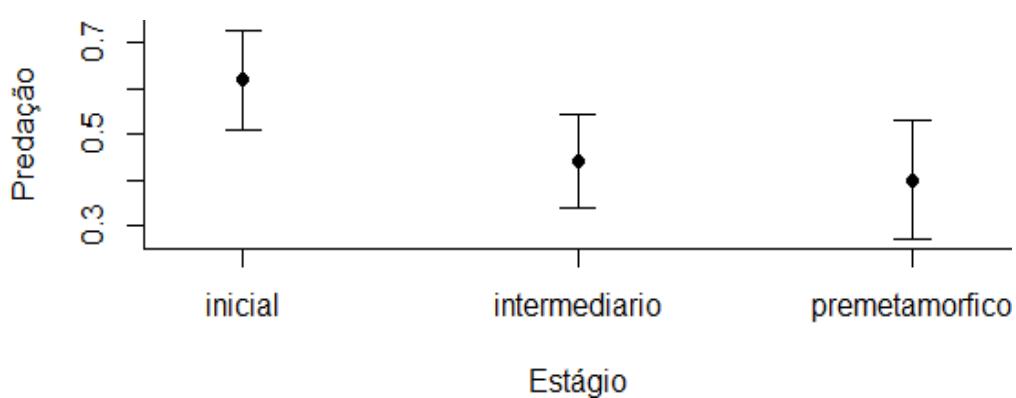


747

748

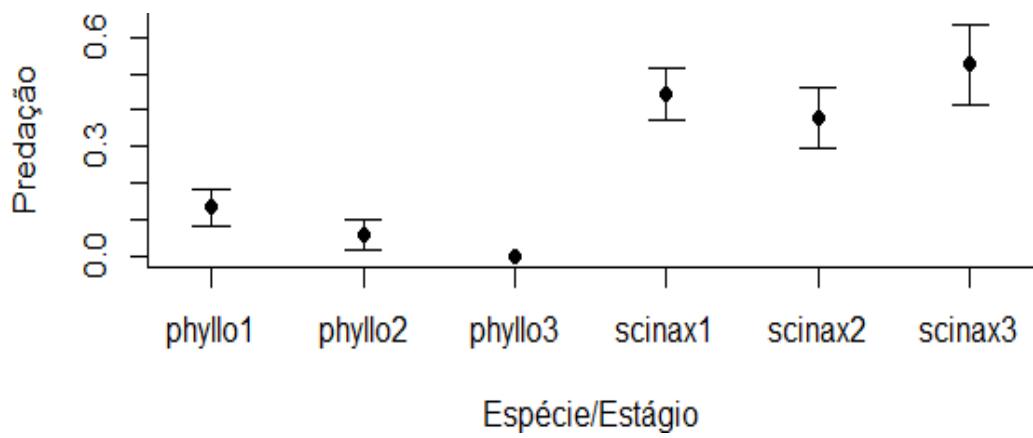
749

750 **Figura 5:**



751

752 **Fig 6:**



753

754

755

756

757

758

759

760

761

762

763 **TABELAS:**

764

765 **Tabela 1.** Média (x) e desvio padrão (DP) do comprimento e número de indivíduos (n)
766 de girinos de *Phyllomedusa bahiana* e *Scinax x-signatus* e nátiades de Odonata
767 utilizados nos testes de predação, em cada categoria de desenvolvimento larval (CDL).
768 Inicial (25-28), Intermediário (31-35), Pré-metamórfico (38-41), seguindo Gosner
769 (1960).

CDL (n)	<i>P. bahiana</i> x (DP)	<i>S. x-signatus</i> x (DP)	Nátiades x (DP)
Inicial (51)	2,32 (0,98)	2,28 (0,86)	2,80 (0,75)
Intermediário (46)	3,21 (0,83)	2,97 (0,75)	3,40 (0,62)
Pré-metamórfico (43)	4,28 (0,78)	3,58 (0,65)	4,20 (0,64)

770

771

772

773

774

775

776

777

778

779

780

781

782

783

784

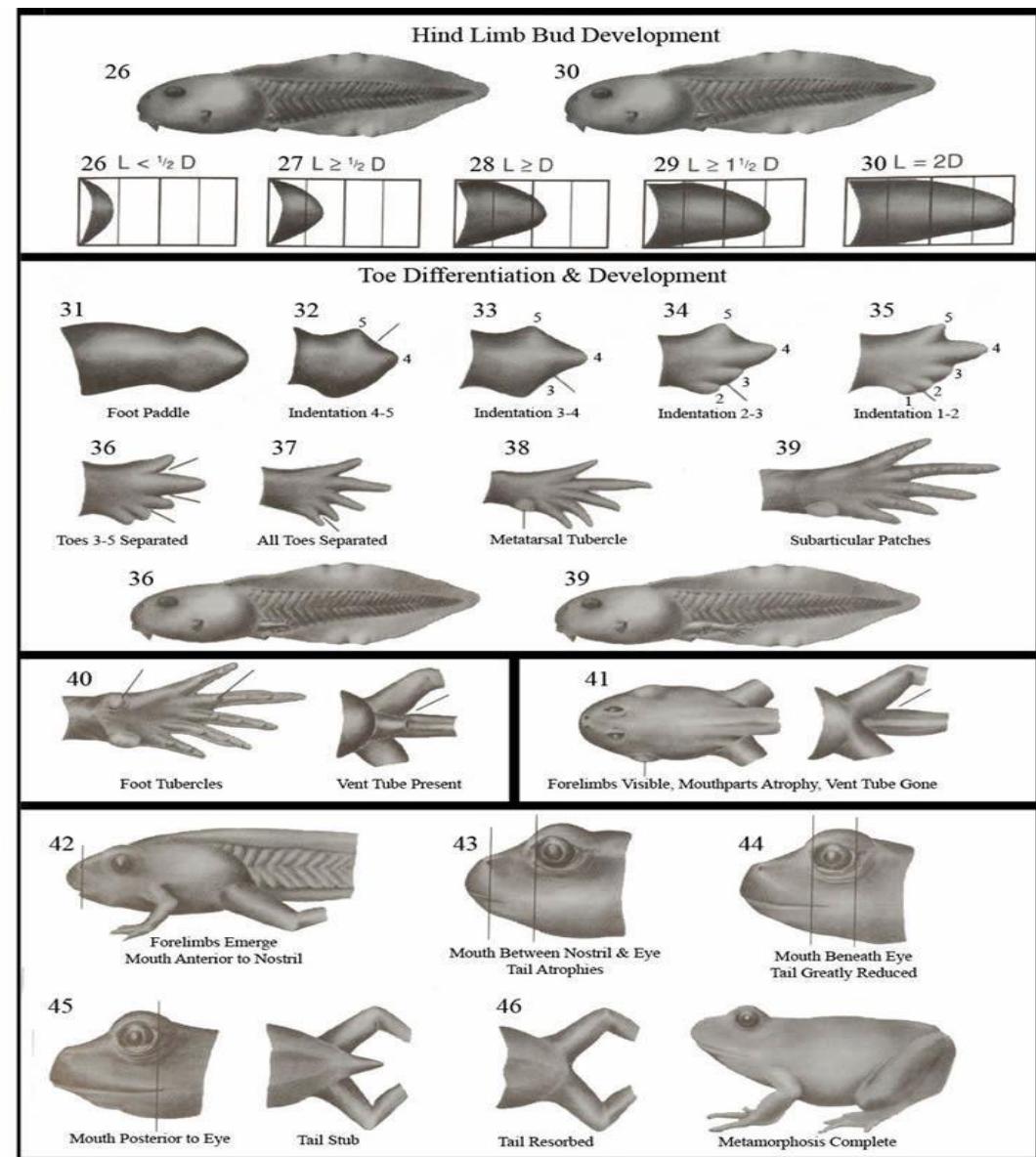
785

786

787 ANEXOS

- 788 1. Representação dos diferentes estágios de desenvolvimento de girinos, a
789 partir do estágio 26 ao 42, segundo Gosner (1960).

L
A
R
V
A
E



790

791

792

793

794

795

796

797

798 2. Normas da revista Journal of Experimental Biology para submissão de artigo,

Journal of Experimental Biology

799

800 Manuscript preparation

801 [General information](#)

802 [Manuscript length](#)

803 [Preparing the text and tables](#)

804 [File formats](#)

805 [Article sections](#)

806 [Preparing the text](#)

807 [Preparing tables](#)

808 [Preparing display equations](#)

809 [Preparing figures](#)

810 [General information](#)

811 [Preparing graphs and diagrams \(line art\)](#)

812 [Preparing photographic images](#)

813 [Image manipulation](#)

814 [Figure permissions](#)

815 [Preparing movies](#)

816 [Supplementary information](#)

817

818

819

820 1. General information

821 JEB requires authors to submit their manuscripts online using the [Bench>Press](#)
822 [manuscript processing system](#). All manuscripts should adhere to the journal's
823 [terms of submission](#).

824 Authors are required to read our [journal policies](#) before preparing their
825 manuscripts and to complete and submit our [submission checklist](#) with their
826 manuscripts. This form asks authors to confirm that they have followed best
827 practice guidelines regarding experimental subjects, data reporting and
828 statistics. The checklist is based on the [NIH Principles and Guidelines for](#)

829 [Reporting Preclinical Research](#) and is intended to help ensure high standards
830 for reporting and to aid reproducibility.

831 All pre-submission or general editorial queries should be directed to the [Editorial](#)
832 [Office](#).

833

834

835

836 2. Manuscript length

837 The following table shows the maximum word count of the main text (excluding
838 title page, abstract, references and figure captions) and maximum number of
839 display items (figures and tables) for different article types.

Article type	Maximum word count	Maximum no. of display items
Research Article	7000	10
Short Communications	2500	3
Methods & Techniques	2500	3
Review	7000	8
Commentary	4500	5

840 Articles exceeding the limits specified above will be returned to authors at
841 submission.

842

843

844 3. Preparing the text and tables

845 The information below relates to a standard Research Article. For all other
846 article types, please refer to the style and layout guidelines provided on
847 our [article types](#) page.

848

849 3.1 File formats

850 For manuscript text and tables, our preferred **file format** is **Microsoft Word**
851 **.docx** (or **.doc**). We also accept Pages (rtf format) and LaTeX.

852 Please include tables as part of the manuscript file. Tables must be editable and
853 not embedded as an image.

854 If you are submitting a LaTeX file, please include any component files, such as
855 .st (style file), .cls (class file) and .bib (bibliography file) in your file submission.
856 Please note that LaTeX files will be converted to Microsoft Word files during the
857 production process and that authors will be required to check the conversion of
858 symbols and special characters carefully at the proofing stage.

859 For mathematical equations, our preferred file format is MathType. We also
860 accept Equation Editor (Microsoft Word) and LaTeX.

861

862 3.2. Article sections

863 3.2.1. *Title page*

864 This section should include a **title** of 120 characters or less that clearly and
865 concisely summarises your specific findings and avoids specialist abbreviations,
866 a **running title** of 40 characters or less, the full **names** (including middle
867 initials) and **affiliations of all authors** (including present addresses for authors
868 who have moved), and the **corresponding author's email address**. Please
869 note any cases where authors contributed equally to the work. Please also
870 include **3-6 key words** for indexing purposes (select key words that will make
871 your manuscript easily searchable).

872 3.2.2. *Summary statement*

873 Provide a brief Summary Statement for use in emailed and online tables of
874 content alerts. The text should be between 15 and 30 words, and should
875 explain, without overstatement, why someone should read the article. Please do
876 not simply repeat the title, and avoid unfamiliar terms and abbreviations, as the
877 text should be comprehensible to non-experts. We reserve the right to edit the
878 text.

879 3.2.3. *Abstract*

880 Provide a brief abstract of no more than 250 words for Research Articles (150
881 words for Short Communications and Methods & Techniques). This should
882 succinctly and clearly introduce the topic of the paper, summarise the main
883 findings and highlight the significance of the data and main conclusions. The
884 abstract is used by abstracting services without modification and is often read
885 more frequently than the full paper and therefore needs to be comprehensible in
886 its own right. Do not include subheadings or references, and avoid any non-
887 standard abbreviations.

888 3.2.4. *Introduction*

889 This section should succinctly provide the background information that is
890 required to set the results into their proper biological context. It should not
891 contain subheadings.

892 **3.2.5. Materials and methods**

893 This section should include sufficient detail to understand and to replicate the
894 experiments performed, in conjunction with cited references. It should be
895 divided into sections, and should include subsections detailing reagents, animal
896 models and statistical analysis. Provide names and locations (town, state,
897 country) for ALL equipment and reagent suppliers. Give Latin names and
898 taxonomic authority (e.g. Linnaeus) for all experimental species. Reporting
899 standards should follow those recommended in our [journal](#)
900 [policies](#) and [submission checklist](#).

901 **3.2.6. Results**

902 This section should describe the results of the experiments performed and
903 should be broken up by subheadings to organise the findings presented and
904 walk the reader through the results. Reproducibility of results must be included
905 – see our [submission checklist](#) for further information. Please ensure that the
906 distinction between new results and published findings/established facts is
907 clear.

908 **3.2.7. Discussion**

909 This section should explain the significance of the results and should place
910 them into the broader context of the current literature. The Discussion may
911 contain subheadings to highlight important areas that are expanded on in the
912 text.

913 **3.2.8. Acknowledgements**

914 This section should mention any individuals or groups that are not named as
915 authors but have contributed to the research presented (e.g. in terms of
916 reagents, time, expertise) or writing of the manuscript.

917 **3.2.9. Competing interests**

918 Include a statement to identify any potential influences that readers may need to
919 know about when thinking about the implications of the presented research. For
920 more specific information regarding the affiliations and associations that must
921 be disclosed, please see our [journal policies](#) page. Authors without financial or
922 competing interests should explicitly assert this and include the statement 'No
923 competing interests declared'.

924 **3.2.10. Author contributions**

925 An author is someone who has made significant and substantial contributions to
926 a study. JEB requires that the independent contributions of each author are
927 stated in the manuscript. Please refer to [journal policies](#) for further information
928 on our authorship policies. It is the responsibility of the corresponding author to
929 ensure that ALL co-authors have checked and confirmed their contribution
930 statement prior to manuscript submission.

931 **3.2.11. Funding**

932 Details of all funding sources must be provided. It is the responsibility of the
933 corresponding author to provide the relevant funding information from ALL
934 authors. Please provide the official funding agency name as listed on
935 the [Crossref Funder Registry](#), i.e. 'National Institutes of Health', not 'NIH', and
936 all relevant grant numbers. If your Funder is not listed in the Registry, please
937 provide the name in full.

938 Where individuals need to be specified for certain sources of funding, please
939 add initials after the relevant agency or grant number. Please use the following
940 format: This work was supported by the National Institutes of Health [AA123456
941 to C.S., BB765432 to M.H.]; and the Alcohol & Education Research Council
942 [hfgr667789]. Where no specific funding has been provided for the research,
943 please state 'This research received no specific grant from any funding agency
944 in the public, commercial or not-for-profit sectors'.

945

946 **3.2.12. Data availability**

947 All publicly available datasets supporting your work should be included in the
948 Data availability section. Details should include repository name, identifier such
949 as accession number or doi and, where possible, include a hyperlink to the URL
950 of the dataset. Datasets should be made publicly available at the time of
951 publication. For more information on our data deposition requirements, see
952 our [Journal Policies](#).

953 Please note that JEB endorses the [Force 11 Data Citation Principles](#) and
954 recommends that references to datasets should also be included in the
955 reference list with DOIs/accession numbers and hyperlinks, where available.

956 **3.2.13. References**

957 All references cited in the text, tables and figure legends should be included in a
958 single reference list at the end of the article. We strongly encourage the citation
959 of the primary literature over review articles wherever possible, and for this
960 reason do not have a limit on the number of references that can be included.
961 For specific information about reference formatting, please see
962 the [references](#) section below.

963 3.2.14. *Figure legends*

964 Figure legends should be listed at the end of the manuscript. The first sentence
965 of the legend should summarise the figure and be in bold. Each figure legend
966 should stand alone and should contain enough information to ensure that the
967 figure is understandable without having to refer to the main text. Figure panels
968 should be labelled with uppercase letters (A, B, C, etc.), and each panel should
969 be described in the legend. Any abbreviations not given in the main text should
970 be defined. For further details on what should be included in figure legends,
971 please refer to our [submission checklist](#).

972 3.2.15. *Appendices*

973 This optional section can be used for information that is critical to the
974 manuscript but would interrupt the flow of the article and is not suitable for
975 inclusion as [supplementary information](#). It should be formatted according to
976 normal journal style. All figures, tables and equations should be numbered
977 separately from the main text as Fig. A1, Table A1, Eqn A1, etc. Please note
978 that the text, figures and tables in an Appendix count towards the
979 overall [manuscript length](#).

980

981 3.3. Preparing the text

982 3.3.1. *General information*

983 Prepare manuscripts in English (either US or UK spelling is acceptable but be
984 consistent within the manuscript). Your writing should be comprehensible to
985 editors and reviewers, and your writing style should be concise and accessible.
986 If English is not your first language, please consider using a language editing
987 service prior to submission.

988 Ensure that the language in your manuscript is original and does not contain
989 previously published passages of text (including those from your own
990 publications) – see our [journal policies](#) for more details. All accepted
991 manuscripts are routinely screened using plagiarism-detection software.

992 Use 1.5 line spacing and continuous line numbering throughout the paper in
993 order to facilitate online reviewing.

994 Do not embed figures in the text.

995 Cite each figure, table and movie in the text in numerical order. Figure or table
996 parts should be labelled with uppercase letters (A, B, C, etc.). Use the following
997 format for citations: Fig. 1A,B or Figs 1, 2 or Table 1 or Movie 1.

- 998 If necessary, display equations should be cited using the following format: Eqn
999 1.
- 1000 For supplementary figures, tables and equations, cite as Fig. S1, Table S1, Eqn
1001 S1.
- 1002 Define abbreviations at first mention and include a List of Symbols and
1003 Abbreviations used.
- 1004 For special characters not available on a standard keyboard (e.g. Greek
1005 characters, mathematical symbols), use the Symbol font or the ‘Insert Symbol’
1006 function in Microsoft Word, where possible. For special characters that are not
1007 available via this route, please use MathType characters; do not use embedded
1008 images (e.g. GIF).
- 1009 *3.3.2. Units and nomenclature*
- 1010 Units of measurement should follow the SI system, e.g. ml s^{-1} rather than ml/s.
1011 Guidance on using the SI convention can be found [here](#). Type a space between
1012 a digit and a unit, e.g. 1 mm (except 1%, 1°C).
- 1013 Use s.e.m. and s.d. for standard errors, etc.
- 1014 Taxonomic nomenclature: the Latin names and taxonomic authority (e.g.
1015 Linnaeus) should be provided for all experimental species. All species names
1016 should be italicized.
- 1017 Genetic nomenclature: gene names should be in italic type, but the protein
1018 product of a gene should be in Roman type. Genetic nomenclature should be in
1019 accordance with established conventions and should be approved by the
1020 relevant nomenclature curator if applicable. See below for some relevant links.
- 1021 HGNC list of genome databases: <http://www.genenames.org/useful/all-links#ovgdb>
- 1023 *Caenorhabditis elegans*: <http://www.wormbase.org>
- 1024 *Dictyostelium*: <http://dictybase.org/>
- 1025 Chicken: <http://birdgenenames.org/cgnc/guidelines>
- 1026 *Drosophila*: <http://flybase.org/wiki/FlyBase:Nomenclature>
- 1027 Human: <http://www.genenames.org/about/guidelines>
- 1028 Maize: http://www.maizegdb.org/maize_nomenclature.php
- 1029 Mouse: <http://www.informatics.jax.org/mgihome/lists/lists.shtml>
- 1030 *Saccharomyces cerevisiae*: <http://www.yeastgenome.org/>

- 1031 *Schizosaccharomyces pombe*: <http://www.pombase.org/submit-data/gene-naming-guidelines>
- 1032 *Xenopus*: <http://www.xenbase.org/gene/static/geneNomenclature.jsp>
- 1033 Zebrafish: <https://wiki.zfin.org/display/general/ZFIN+Zebrafish+Nomenclature+Guidelines>
- 1034 3.3.3. References
- 1035 3.3.3.1. *References in text*
- 1036 References in the text should be cited using the Harvard (name, date) referencing system.
- 1037 Each reference cited in the text (including those cited in supplementary information) must be listed in the Reference list and vice versa: please check these carefully.
- 1038 Literature citations in text are as follows.
- 1039 One author – (Jones, 1995) or (Jones, 1995; Smith, 1996).
- 1040 Two authors – (Jones and Kane, 1994) or (Jones and Kane, 1994; Smith, 1996).
- 1041 More than two authors – (Jones et al., 1995) or (Jones et al., 1995a,b; Smith et al., 1994, 1995).
- 1042 Manuscripts accepted for publication but not yet published: include in Reference list and cite as (Jones et al., in press).
- 1043 Manuscripts posted on preprint servers but not yet published: include in Reference list and cite as (Smith et al., 2016 preprint).
- 1044 Citation of unpublished work: we discourage citation of unpublished data; if it is necessary, use the format (S. P. Jones, unpublished observations/data). Unpublished data cannot be included in the Reference list.
- 1045 PhD theses: include in Reference list and cite as (Smith, 2016).
- 1046 Website URLs: cite in the text but do not include in the Reference list; provide the URL and, if the website is frequently updated, the date that the site was accessed.
- 1047 Personal communications (i.e. the unpublished observations of other scientists): when a person who is not an author on the paper is the source of unpublished data, those data should be cited as a personal communication using the format (full name, institution, personal communication). Personal communications

- 1064 should not be cited in the Reference list and will only be published when
1065 substantiated by written permission (e.g. email) from the scientist cited.
- 1066 Dataset: we recommend that all publicly available datasets are fully referenced
1067 in the reference list with an accession number or unique identifier such as a
1068 DOI. Cite as (Jones and Jane, 1994).
- 1069 **3.3.3.2. Reference List**
- 1070 References are listed in alphabetical order according to surname and initials of
1071 first author.
- 1072 Use the following style:
- 1073 *Journal*
- 1074 **Rivera, A. R. V., Wyneken, J. and Blob, R. W.** (2011). Forelimb kinematics
1075 and motor patterns of swimming loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*): are
1076 motor patterns conserved in the evolution of new locomotor strategies? *J. Exp.*
1077 *Biol.* **214**, 3314-3323.
- 1078 *Book*
- 1079 **Hochachka, P. W. and Somero, G. N.** (2002). *Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- 1080 *Book chapter*
- 1081 **Feller, G.** (2008). Enzyme function at low temperatures in psychrophiles.
In *Protein Adaptation in Extremophiles* (ed. K. S. Siddiqui and T. Thomas), pp.
35-69. New York: Nova Science Publishers, Inc.
- 1082 *Preprint server*
- 1083 **Baillie-Johnson, P., van den Brink, S. C., Balayo, T., Turner, D. A. and Martinez Arias, A.** (2014). Generation of aggregates of mouse ES cells that show symmetry breaking, polarisation and emergent collective behaviour in vitro. *bioRxiv* doi:10.1101/005215.
- 1084 *PhD thesis*
- 1085 **Jones, A. R.** (2016). Title of thesis. *PhD thesis*, University of Washington,
Seattle, WA.
- 1086 *Dataset with persistent identifier*
- 1087 **Zheng, L.-Y., Guo, X.-S., He, B., Sun, L.-J., Peng, Y. and Dong, S.-S.** (2011). Genome data from sweet and grain sorghum (*Sorghum bicolor*). *GigaScience Database*. <http://dx.doi.org/10.5524/100012>.

1098 Kingsolver, J. G., Hoekstra, H. E., Hoekstra, J. M., Berrigan, D., Vignieri, S.
1099 N., Hill, C. E., Hoang, A., Gibert, P. and Beerli, P. (2001). Data from: The
1100 strength of phenotypic selection in natural populations. *Dryad Digital*
1101 *Repository*. <http://dx.doi.org/10.5061/dryad.166>.

1102 If there are more than 10 authors, use 'et al.' after the 10th author.

1103 Within a group of papers with the same first author, list single author papers
1104 first, then papers with two authors, then et al. papers. If more than one
1105 reference exists for each type, arrange in date order. Use a and b for papers
1106 published in the same year.

1107 'In press' citations must have been accepted for publication and the name of the
1108 journal or publisher included.

1109

1110 3.4. Preparing tables

1111 Prepare tables in 'cell' format and include in the same file as the main text.
1112 Tables must be editable and not embedded as an image.

1113 The title of the table should be a single sentence and should summarise the
1114 contents of the table. Details referring to one or more isolated item(s) in the
1115 table are best given in a table footnote. Units should be given in parentheses at
1116 the top of each column (do not repeat in the table).

1117

1118 3.5. Preparing display equations

1119 Our preferred file format for equations is MathType. We also accept Equation
1120 Editor (Microsoft Word) or LaTex.

1121 Please number all display equations, consecutively. They should take the form:

$$1122 \quad Q = \frac{-\kappa A_p [p]}{\mu T_p}, \quad (1).$$

1123 Units should be defined in the text rather than included in the equation.

1124

1125

1126 4. Preparing figures

1127 4.1. General information

- 1128 Figures should be numbered in a single series that reflects the order in which
1129 they are referred to in the text.
- 1130 Figures should be prepared at the smallest size that will convey the essential
1131 scientific information; final figure size is at the discretion of the journal. For
1132 further information on how to arrange your figures to optimise viewing by
1133 reviewers and readers, download our [figure layout](#) guidelines.
- 1134 At initial submission, you may submit a single PDF file containing all text and
1135 figures. Once an article has been accepted for publication, you are required to
1136 submit separate files for each figure (see below for file formats).
- 1137 Figure legends should be included in the main text file and not in the figure file.
- 1138 There are no charges for the use of colour in figures, although gratuitous use of
1139 colour in graphs and diagrams should be avoided and colour should only be
1140 used to improve scientific clarity.
- 1141 We strongly encourage the use of colours that are suitable for colour-blind
1142 readers, particularly in the preparation of fluorescent microscopy images. Most
1143 notably, we discourage the use of red/green for the display of 2-channel
1144 images; authors should consider an alternative colour combination (e.g.
1145 magenta/green).
- 1146
- 1147 4.2. Preparing graphs and diagrams (line art)
- 1148 4.2.1. General information
- 1149 The maximum figure size, including lettering and labels, is 180 mm × 210 mm.
- 1150 Line thicknesses and symbols should be of sufficient size to ensure clarity if the
1151 figure is reduced in size.
- 1152 For graphs, our preferred symbols are filled and open circles, triangles,
1153 squares, or diamonds; where possible, the same symbol should be used for the
1154 same entity in different figures.
- 1155 Colour: supply line art in RGB (not CMYK) mode, as this maximizes colour
1156 quality and is how the figures will be displayed online; do NOT use Spot,
1157 Pantone or Hex colours and do NOT assign a colour profile.
- 1158 Text labelling: use 12 pt bold uppercase letters (A, B, C, etc.) to distinguish
1159 figure panels; other labelling should be 8 pt Arial font (sentence case) (headings
1160 should be bold); for gene sequences, use Courier font to ensure that each letter
1161 is the same width; use Symbol font for Greek characters.
- 1162 4.2.2. *File formats*

1163 Authors should submit their source figures in an editable format (vector graphic)
1164 that retains font, line and shape information. This format ensures that we can
1165 edit where necessary and produce high-quality print and online PDFs.

1166 **We accept the following file formats for graphs/line art: EPS, PDF, and**
1167 **WMF.**

1168 Applications such as Adobe Illustrator, Canvas, DeltaGraph, Corel Draw,
1169 Freehand, MatLab and SigmaPlot provide these formats.

1170 Please ensure that you 'export' or 'save' with (text/font) information included
1171 Save text/font information as 'text' not 'curves' or 'outlines'.

1172 If combining images, always 'embed' images; do NOT simply 'link' them. In
1173 Adobe Illustrator, copying and pasting or dragging an image directly from Adobe
1174 Photoshop will embed the image. Alternatively, if you use the 'Place' command,
1175 uncheck 'Link' in the dialogue box. For other software applications, please refer
1176 to the documentation (often there will be a 'link', 'proxy', 'OLE' or 'OPI' option,
1177 which must NOT be used with EPS files).

1178 *Note that submission of JPEG or TIFF format for graphs/line art may delay*
1179 *production of your article.*

1180

1181 4.3. Preparing photographic images

1182 4.3.1. General information

1183 Photographic images (also known as bitmap images) are made up of pixels
1184 (e.g. light, fluorescence and electron microscopy, gels, and traditional
1185 photography)

1186 The maximum figure size, including lettering and labels, is 180 mm x 210 mm.

1187 Images should be saved at a resolution of 300 pixels per inch. Any image
1188 quality option should be set to maximum.

1189 For micrographs, use a scale bar to show the magnification and give the length
1190 of this in the figure legend.

1191 Colour: supply images in RGB (not CMYK) mode, as this maximizes colour
1192 quality and is how the figures will be displayed online; do NOT use Spot,
1193 Pantone or Hex colours and do NOT assign a colour profile.

1194 Text labelling: use 12 pt bold uppercase letters (A, B, C, etc.) to distinguish
1195 figure panels; other labelling should be 8 pt Arial font (sentence case) (headings

1196 should be bold); for gene sequences, use Courier font to ensure that each letter
1197 is the same width; use Symbol font for Greek characters.

1198

1199 4.3.2. File formats

1200 Accepted file formats are: **EPS/PDF** (vector based, such as Adobe Illustrator).

1201 EPS / PDF format for figures with mixed data, such as line drawn vector-graphs
1202 and Photographic Images.

1203 TIFF format with text-layers enabled, for Photographic Images only.

1204 ARIAL or HELVETICA must be the font choice used throughout figure
1205 preparation.

1206 **PowerPoint images:** we do NOT accept PowerPoint files. Instead, please save
1207 as PDF using the instructions below.

1208 Go to 'print' and then choose 'Save as PDF' in the print dialogue box

1209 You can download free software which will enable you to print EPS/PDF files to
1210 disk:[Download software for Windows](#)

1211 [Download software for Mac](#)

1212

1213 4.4. Image manipulation

1214 Any alterations made to figures using computer software must be consistent
1215 with our [image manipulation](#) policy. The images presented in the manuscript
1216 must remain representative of the original data, and the corresponding author
1217 will be asked to confirm this at submission. Please read our requirements for
1218 preparing your figures ([download PDF](#)) to avoid a potential delay in the
1219 publication process or rejection on the basis of non-compliance with these
1220 guidelines.

1221 All accepted manuscripts are routinely screened by our production department
1222 for any indication of image manipulation. If evidence of inappropriate
1223 manipulation is detected, the journal's Editors might ask for the original data to
1224 be supplied and, if necessary, may revoke the acceptance of the article.

1225

1226 4.5. Figure permissions

1227 It is the responsibility of the author to obtain permission to use figures from
1228 another publication in any article submitted to JEB and to ensure that any such
1229 use is credited to the source. Any fees associated with use of the figure are the

1230 responsibility of the author. Written permission from the author and/or publisher
1231 of the original material, as appropriate, should be provided at the time of
1232 submission, otherwise publication may be delayed. If a figure has been modified
1233 from a previously published figure, please check with the copyright owners to
1234 see whether permission is required and include a complete citation/reference
1235 for the original article.

1236

1237

1238 5. Preparing movies

1239 Our preferred **file format** for movies is **.mp4**, but we also accept **.mov**
1240 Please provide a separate text file containing the titles and captions of all
1241 movies. Please keep captions as short as possible and ensure that they explain
1242 what is being shown in the movie and any necessary details of how the movie
1243 was made.

1244 Movies should be numbered in a single series that reflects the order in which
1245 they are cited in the text, e.g. see Movie 1. Movie 2, etc.

1246 In the final online article, all movies are displayed in the [supplementary](#)
1247 [information](#).

1248 We have a limit of **50 MB** for all movie and supplementary information files. If
1249 your movies exceed this limit, please contact the [Editorial Office](#) for advice
1250 before submission; we may be able to reduce the size of your movie files
1251 without losing resolution or discuss other options for hosting. For example, if
1252 you have movies that exceed our file limits and that are supplementary to the
1253 core message of the paper (or if you wish to provide readers with a higher-
1254 resolution version of the movie than can be displayed within our file size limits),
1255 we encourage you to deposit them in a reliable data repository such
1256 as [Dryad](#) or [Figshare](#) and link to them from the main paper - please see our
1257 guidelines on Data deposition for further information. Alternatively, we may
1258 consider hosting large movies that are central to the article on the
1259 journal's [YouTube channel](#), again with a direct link from the main paper.

1260 Please note that we reserve the right to make movies or other data forms
1261 available on an Open Access basis via The Company of
1262 Biologists' [website](#), [You Tube](#) and other online channels. Where we do, the
1263 movies and other data forms may on occasion be made available under the
1264 terms of the [Creative Commons Attribution 3.0 Unported \(CC-BY\) Licence](#).
1265 These terms permit the copying and/or adaptation of the movie and the
1266 distribution of the movie or any such adaptation by any means and in any
1267 medium or format to any other person, including for commercial purposes,

1268 provided that you are credited as the original author. There would be no
1269 additional cost to you, the author.

1270

1271

1272

1273 6. Supplementary information

1274 Data that are essential for interpretation of the results of the main paper should
1275 be included in the main paper. Supplementary information provides access to
1276 supporting data that do not appear in the printed article or PDF but that
1277 accompany the final version of a paper online.

1278 These data are peer reviewed and subject to the same criteria as the data that
1279 are to be published in the paper itself. During peer review, editors and reviewers
1280 are asked to assess whether supplementary information is appropriate and
1281 essential for supporting the findings of a paper.

1282 All supplementary data will be strictly limited to **a total of 50 MB per article**.

1283 We only accept data files - such as datasets, movies, audio, figures and tables -
1284 as supplementary information. We do NOT accept text files that provide
1285 additional materials and methods, results or discussions related to the article;
1286 these should be included in the article itself. Statistical and computational
1287 analyses should ideally be included in the methods section or as an appendix in
1288 the main article. Very large files or those requiring specialist software are not
1289 suitable as supplementary information. For large datasets, e.g. computational
1290 analyses, please see our guidelines on [data deposition](#).

1291 Criteria for each supplementary information type are listed in the table below.
1292 The total number of supplementary information items of all types (figures,
1293 tables, movies, etc.) per article should not exceed the total number of figures
1294 and tables in the main article.

1295

Data type	Criteria	Citation style
Figures and tables	Max. of 6 items per article (should not exceed the total number of figures/tables in the main article)	Fig. S1, Fig. S2; Table S1, Table S2, etc.

Data type	Criteria	Citation style
Datasets	Include as supplementary tables	Table S1, Table S2, etc.
Movies and audio clips	Max. of 3 movies/audio per article	Movie S1, Movie S2, etc.; Audio S1, Audio S2, etc.
1296		
1297	With the exception of movies (see section on preparing the movies) and large	
1298	all supplementary information should be collated into a single PDF	
1299	file . If your table is very large, or you wish readers to be able to export and/or	
1300	manipulate the data, we would prefer you to submit it as a Microsoft Excel file.	
1301	Use a separate numbering system from that used in the main article and use	
1302	the format Fig. S1, Fig. S2, Table S1 etc. If a supplementary figure relates to a	
1303	particular figure in the text, please cite it as close to this figure as possible. For	
1304	the convenience of readers, please place each figure next to the corresponding	
1305	legend in the supplementary information PDF. Please include a legend for each	
1306	figure and a title for each table.	
1307	Please note that supplementary information files are not copyedited by JEB and	
1308	therefore authors must ensure that all files are checked carefully before	
1309	submission and that the style of terms and figures conforms to that of the	
1310	article. Modification of supplementary information after publication will require a	
1311	formal correction.	
1312	Refer to each piece of supplementary information at least once within the text of	
1313	the main article (the article that is published in the print issue of the journal).	
1314		
1315		
1316		
1317		