

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**COORDENADORIA DE FAUNA SILVESTRE – SEMIL/SP**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONSERVAÇÃO DA FAUNA**

STEPHANIE KLOMANN DOS SANTOS

**PERCEPÇÃO DE PREDADORES POR *OLOLYGN ALCATRAZ* (B. LUTZ, 1973)  
(ANURA, HYLIDAE) E IMPLICAÇÕES PARA SUA CONSERVAÇÃO**

SÃO CARLOS – SP

2024

STEPHANIE KLOMANN DOS SANTOS

**PERCEPÇÃO DE PREDADORES POR *OLOLYGN ALCATRAZ* (B. LUTZ, 1973)  
(ANURA, HYLIDAE) E IMPLICAÇÕES PARA SUA CONSERVAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna, da Universidade Federal de São Carlos, como parte das exigências para obtenção ao título de Mestre Profissional em Conservação da Fauna.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius de Avelar São Pedro  
Coorientadora: Profa. Dra. Cinthia Aguirre Brasileiro  
Colaboradora: Msc. Cybele Sabino Lisboa

São Carlos – SP  
2024



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna

---

## Folha de Aprovação

---

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Stephanie Klomann dos Santos, realizada em 23/01/2024.

### Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Vinícius de Avelar São Pedro (UFSCar)

Profa. Dra. Paloma Rocha Arakaki Henriques (CFS)

Prof. Dr. Juan Fernando Cuestas Carrillo (UFMS)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna.

*“Only if we understand, will we care.*

*Only if we care, we will help.*

*Only if we help, shall all be saved.”*

*Jane Goodall*

## AGRADECIMENTOS

Ao Vinicius, meu orientador, só tenho a agradecer pela oportunidade e suporte desde o início.

À Cybele, agradeço pela parceria desde o início, pela ajuda para conceber a ideia do projeto e a nas análises estatísticas

À Cinthia, minha coorientadora, por todos os *insights* no projeto e possibilitar nossa viagem para Alcatrazes.

Ao Zoológico de São Paulo e todo o setor de répteis, Tita, Nathy, Flávia e todos que ajudaram no desenvolvimento da pesquisa do Zoo.

À UNIFESP e ao laboratório de Ecologia e Evolução, pelo suporte e estrutura fornecida para desenvolvimento do experimento.

Ao PPGCFau, à UFSCAR, à Coordenadoria de Fauna Silvestre do Estado de São Paulo e a Fundação Parque Zoológico, agradeço pela oportunidade.

Ao ICMBIO e a toda a equipe de Alcatrazes, RAN, Marinha do Brasil, pela permissão em visitar a Ilha de Alcatrazes e por fornecer a licença de coleta, bem como o suporte fornecido na Ilha.

Wellington (*in memoriam*), Roque e Vinicius, parceiros de Ilha e seus perrengues.

Ao Instituto Butantan e o Laboratório de Coleções Zoológicas, agradeço pelas doações das jararacas e aranhas e empréstimo da lacraia, obrigada Adriana Menzini, Giuseppe Porto e Felipe Grazziotin.

À Chiavini & Santos, agradeço pelo suporte e pelas liberações para cumprir as atividades do mestrado.

À minha família pelo apoio e incentivo sempre, especialmente ao Adriano por nunca me deixar desistir e ao Horus que é minha força.

À *Ololygon alcatraz*, agradeço pela oportunidade de estudo e aprendizado.

## RESUMO

A crise da biodiversidade é uma preocupação global que vêm motivando iniciativas de conservação nos mais variados setores da sociedade. Com cada vez mais sérias implicações aos ecossistemas, a importância da conservação *ex situ* aliada aos esforços de conservação *in situ* torna-se mais evidente, gerando resultados positivos. Ainda há limitações na conservação *ex situ*, em especial relacionado às deficiências comportamentais observadas em indivíduos de cativeiro. A ingenuidade frente a predadores e outras ameaças do ambiente natural, bem como habilidades de forrageio ineficientes, dificuldades na comunicação com conspecíficos nativos, são alguns dos aspectos cruciais que podem impactar diretamente o sucesso da reintrodução. A habilidade de distinguir predadores e não-predadores entre heteroespecíficos é um componente básico na avaliação de ameaças, sendo que a maioria das habilidades de reconhecimento de predadores é química ou visualmente orientada, ou muitas vezes em conjunto. No caso dos anuros, há extensa literatura a respeito de comportamento defensivo e percepção de predadores, bem como variações ontogenéticas entre girinos e indivíduos pós-metamórficos. Apesar de ser o grupo de vertebrados mais ameaçado de extinção, e contar com um esforço global na promoção de diversas ações conservacionistas em andamento, a conservação *ex situ* dos anfíbios anuros ainda é limitada. *Oloolygon alcatraz* é a primeira espécie alvo brasileira deste tipo de programa, uma espécie bromelícola, endêmica da Ilha de Alcatrazes e criticamente ameaçada de extinção, integrante do Programa de Conservação *ex situ* do Zoológico de São Paulo. O objetivo deste estudo foi avaliar a percepção de predadores por *Oloolygon alcatraz* e a interferência que a criação em cativeiro pode ter em seu comportamento, com o intuito de subsidiar possíveis ações de reintrodução na natureza, além de aprofundar o conhecimento etológico da espécie para conservação da população de vida livre. Foram avaliados quarenta indivíduos, sendo quinze de vida livre e vinte e cinco mantidos sob cuidados humanos, que foram expostos a estímulos químico-visuais de potenciais predadores naturais da espécie. Nossos resultados indicam que em geral os indivíduos mantidos sob cuidados humanos apresentaram uma resposta mais rápida aos estímulos, enquanto os indivíduos de vida livre mais frequentemente optaram por não se mover frente aos estímulos. A estratégia defensiva mais observada foi a imobilidade. Não houve diferenças significativas nas respostas em relação aos diferentes predadores. A variação no comportamento entre os grupos pode ser atribuída a diversos fatores, incluindo adaptação às condições *ex situ*, exposição prévia a estímulos semelhantes e variações nas condições ambientais.

**Palavras-chaves:** Amphibia; etologia; comportamento defensivo; conservação *ex situ*; percepção de predadores;

## ABSTRACT

The biodiversity crisis is a global concern that has been motivating various conservation initiatives across different sectors of society. With increasingly severe implications for ecosystems, the importance of ex situ conservation, combined with in situ conservation efforts, is evident and has been yielding more positive results. There are still limitations in ex situ conservation, especially related to behavioral deficiencies observed in captive individuals. Naivety towards predators and other threats in the natural environment, as well as inefficient foraging abilities and difficulties in communicating with native conspecifics, are some of the crucial aspects that can directly impact the success of reintroduction. The ability to distinguish between predators and non-predators among heterospecifics is a basic component in threat assessment, with most predator recognition skills being chemically or visually oriented, often in combination. In the case of anurans, there is extensive literature on defensive behavior and predator perception, as well as ontogenetic variations between tadpoles and post-metamorphic individuals. Despite being the most threatened group of vertebrates and having a global effort to promote various ongoing conservation actions, ex situ conservation of anuran amphibians remains limited. *Oloolygon alcatraz* is the first Brazilian target species for this type of program, a bromeliad-dwelling species endemic to Alcatrazes Island and critically endangered, part of the São Paulo Zoo's ex situ Conservation Program. The aim of this study was to assess the predator perception by *Oloolygon alcatraz* and the interference that captive breeding may have on its behavior, intending to support possible reintroduction actions in the wild and deepen the ethological knowledge of the species for the conservation of the free-living population. Forty individuals were evaluated, fifteen from the wild and twenty-five under human care, exposed to chemical-visual stimuli of potential natural predators of the species. Our results indicate that, overall, under human care individuals showed a faster escape response to stimuli, while wild individuals more frequently chose not to move when exposed to stimuli. The most observed defensive strategy was immobility, followed by escape. There were no significant differences in responses to different predators. The behavioral variation between groups can be attributed to various factors, including adaptation to ex situ conditions, previous exposure to similar stimuli, and variations in environmental conditions.

**Keywords:** Amphibia; defensive behavior; ethology; ex situ conservation; predator perception;

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

### FIGURAS

**Figura 1 a)** - *Ololygon alcatraz* em bromélia.

**Figura 1 b)** - *Ololygon alcatraz* em bromélia.

**Figura 2** – Localização do Arquipélago de Alcatrazes.

**Figura 3 a)** - Ilha de Alcatrazes.

**Figura 3 b)** - Bromelial em Alcatrazes.

**Figura 4** – Aquários para alojamento dos indivíduos de *Ololygon alcatraz*.

**Figura 5** – Exemplo de indivíduos usados nos testes, onde **(a)** *Avicularia avicularia*.

**Figura 5** – Exemplo de indivíduos usados nos testes, onde **(b)** *Bothrops jararaca*.

**Figura 6** – Realização de experimentos, onde (a) – Visão da arena de testes e caixa dos predadores.

**Figura 6** – Realização de experimentos, onde (b) – Testes com *Bothrops jararaca*.

**Figura 6** – Realização de experimentos, onde (c) – Testes com *Avicularia avicularia*.

**Figura 6** – Realização de experimentos, onde (d) - Modelo de configuração para desenvolvimento dos testes.

**Figura 7** - Tempo médio de reação de *Ololygon alcatraz* diante da aranha e da serpente em cada tratamento (estímulos químico, visual e ambos).

**Figura 8** - Percentual de escolhas para cada grupo (*ex situ* x *in situ*) baseado no tipo de tratamento.

### TABELAS

**Tabela 1.** Resumo das análises estatísticas quanto ao tempo de reação ao estímulo para cada tratamento para os indivíduos de procedência *ex situ* e *in situ*.

**Tabela 2.** Resultado das análises estatísticas quanto ao lado escolhido na primeira reação para cada tratamento mais a resposta forçada, para os indivíduos de procedência *ex situ* e *in situ*.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

CR - Criticamente em Perigo (*Critically Endangered*)

CRC - Comprimento Rostro-Cloacal

EC - Estação Ecológica

F1 - Primeira Geração

F2 - Segunda Geração

FPZSP - Fundação Parque Zoológico de São Paulo

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

IUCN - União Internacional para a Conservação da Natureza (*International Union for Conservation of Nature*)

MMA - Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima

MC - Massa Corpórea

RVS - Reserva de Vida Silvestre

SISBIO - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

UC - Unidade de Conservação

UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo

VU - Vulnerável (*Vulnerable*)

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. OBJETIVOS .....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	17
3.1 Espécie de Estudo .....	17
3.2 Habitat da espécie .....	18
3.3 Coleta de indivíduos em campo.....	20
3.4 Pesquisa de laboratório .....	21
3.5 Experimento.....	22
3.6 Análise de dados .....	26
4. RESULTADOS.....	28
5. DISCUSSÃO .....	32
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
APÊNDICE A.....	46

## 1. INTRODUÇÃO

A preocupação com a crise de biodiversidade não é um fenômeno recente, e diversas ações de conservação e sensibilização são atualmente promovidas por órgãos públicos, universidades, escolas, museus, mantenedores de fauna e organizações da sociedade civil (FCCC 2023). A conscientização acerca do impacto humano na biodiversidade é crescente, e muitos autores consideram a possibilidade de uma nova extinção em massa associada ao antropoceno (WAKE; VREDENBURG 2008, BRADSHAW et al. 2021, COWIE et al. 2022), mesmo diante de controvérsias (BRIGGS 2017). Neste contexto, a necessidade de se mitigar os efeitos da evolução humana sobre os demais seres vivos se torna cada vez mais evidente. (COWIE et al. 2022).

A perda de biodiversidade acarreta sérias implicações para os ecossistemas, afetando serviços essenciais para a sobrevivência no planeta, alguns deles expostos por Wake e Vredenburg (2008). Um marco crucial para a conservação da biodiversidade foi estabelecido com a Convenção sobre Diversidade Biológica em 1992, durante a Cúpula da Terra no Rio de Janeiro. Esse tratado internacional não apenas iniciou diversas ações para a conservação em uma escala global, como difundiu os termos conservação *in situ* e conservação *ex situ* (BRASIL 1994).

Conforme o Artigo 9 da CDB (BRASIL 1994), a conservação *ex situ* é apresentada como uma abordagem complementar às medidas de conservação *in situ*. Essa estratégia pode envolver a manutenção de populações sob cuidados humanos, criação de bancos de germoplasma, jardins botânicos, zoológicos e demais instalações controladas, visando a conservação de espécies ameaçadas, pesquisa científica, educação e sensibilização, além de programas de reprodução *ex situ*, entre outras ferramentas.

Diante da crise enfrentada, a importância da conservação *ex situ* é evidenciada, principalmente em situações onde a perda e destruição de habitats, mudanças climáticas, poluição, surgimento de doenças e epidemias ameaçam e, em alguns casos, ocasionam a extinção de diversas espécies (ZIPPEL et al. 2011). As reservas genéticas *ex situ* atuam possibilitando estratégias de restauração de ecossistemas e populações selvagens (ZIPPEL et al. 2011).

Nesse mesmo contexto, aliar os trabalhos de conservação *ex situ* aos de conservação *in situ* em um esforço conjunto e proativo, traz maior segurança e o melhor custo-benefício para

a conservação efetiva das espécies ameaçadas (CONDE et al. 2011; STERRETT et al. 2019). A criação *ex situ* vem notadamente trazendo diversos resultados positivos para a conservação de espécies ameaçadas, como *Anothea spinosa*, *Pristimantis diastema*, *Gastrotheca cornuta*, *Hemiphractus fasciatus*, *Hylomantis lemur* (GAGLIARDO et al. 2008); *Alytes muletensis*, *Bufo calamita*, *Chirixalus romeri*, *Hyla arborea*, *Leiopelma pakeka*, *Triturus cristatus* e *Triturus vulgaris* (HOFFMAN et al. 2010); e o papel de zoológicos e aquários neste processo é crescente (BUTCHART et al. 2006; CONWAY 2011; GILBERT et al. 2017).

Não obstante, a conservação *ex situ* ainda traz alguns fatores limitantes, como relatado por Gagliardo et al. (2008), Pessier et al. (2014), Frankham (2008) e Williams & Hoffman (2008). Entre os maiores desafios na criação *ex situ* para conservação e reintrodução de espécies ameaçadas, estão a dificuldade de reprodução em cativeiro, distúrbios nutricionais e desenvolvimento de doenças nas gerações F1 em diante, baixa variabilidade genética, depressão endogâmica, domesticação, mudanças comportamentais ou fenotípicas, aumento de mortalidade pós reintrodução, interrupção da seleção natural e adaptabilidade das espécies às mudanças do meio (KRAAIJEVELD-SMIT et al. 2006, GAGLIARDO et al. 2008, PESSIER et al. 2014, ZEGEYE 2017, DOLMAN et al. 2015, GRIFFITHS 2008, SANTOS et al. 2009, SNYDER et al., 1996; BANKS et al., 2002). Conhecer e se aprofundar nessas limitações é essencial para compreender os desafios que a conservação *ex situ* enfrenta e a complexidade associada à restauração de ecossistemas e populações selvagens.

Dentre os desafios mais intrincados e complexos, destaca-se a necessidade de atenção especial às deficiências comportamentais observadas em indivíduos mantidos sob cuidados humanos (BANKS et al. 2000). A ingenuidade frente a predadores e outras ameaças do ambiente natural, bem como habilidades de forrageio ineficientes, dificuldades na comunicação com conspecíficos nativos, são alguns dos aspectos cruciais que podem impactar diretamente o sucesso da reintrodução (BANKS et al. 2000, PASSOS et al. 2017, SNYDER et al. 1996, MATHEWS et al. 2005; SEDDON et al. 2007).

Snyder et al. (1996) e Fischer & Lindenmayer (2000) revelam uma relação inversa entre o sucesso da reintrodução e o risco de domesticação, principalmente em programas de longo prazo, sendo reportado alto índice de insucessos (SYNDER et al. 1996). Snyder sugere ainda, que a sobrevivência de indivíduos reintroduzidos seria melhor sucedida em espécies com comportamentos instintivos, topo de cadeia ou introduzidas em ambientes livres de predadores (SYNDER et al. 1996, SYNDER et al. 1992).

A seleção natural não cessa em cativeiro, sendo que algumas espécies mostram mudanças evolutivas por adaptação às condições *ex situ*, por vezes já a partir da 2ª geração, o que pode comprometer a aptidão à vida selvagem (KRAAIJEVELD-SMIT 2006). A seleção para traços como docilidade geralmente é forte em animais mantidos sob cuidados humanos, levando a populações divergentes da selvagem nos mais diversos pontos e tornando-as inadequadas para a reintrodução (SNYDER et al. 1996). Traços que são aprendidos ou transmitidos culturalmente [ex. *Vulpes fulva* (Belyaev 1979), *Lycaena dispar* (Pullin 1993), até peixes e invertebrados (Swain e Riddell 1990, Johson e Abrahams 1991)], estão especialmente sujeitos a uma perda rápida nas condições expostas, e não há manutenção genética que previna essas perdas (SYNDER et al. 1996). Além disso, o avanço das gerações e o tempo de permanência nas condições *ex situ* é uma variável relevante na perda de habilidades essenciais à sobrevivência (NAVAS; GOMES 2001, SNYDER et al. 1996, HEALY; HEALY 1959, STOCKWEEL; WEEKS 1999, PASSOS et al. 2017).

Diversos estudos vêm sendo conduzidos para evitar e mitigar os possíveis efeitos negativos que a criação *ex situ* pode ter na conservação e reintrodução das espécies (WHITE et al. 2005, SAURA et al. 2008, GRIFFITHS; PAVAJEAU 2008, HARDING et al. 2015, EDWARDS et al. 2021). Por isso, além de se avaliar as características da vitalidade em condições *ex situ*, se faz necessário uma avaliação da aptidão do indivíduo visando sua reintrodução (KRAAIJEVELD-SMIT et al. 2006). Uma das características mais importantes que os indivíduos reintroduzidos devem apresentar é seu comportamento defensivo e a habilidade de fugir de seus predadores, fator que mais ameaça a reintrodução de espécies cativas (ROWELL et al. 2020, KRAAIJEVELD-SMIT et al. 2006, WHITE et al. 2005, EDWARDS et al. 2021).

A capacidade de diferenciar predadores de não-predadores entre espécies diferentes é fundamental para avaliar ameaças (MATHIS; VICENT 2000). Animais que reagem com medo a estímulos inadequados estão desperdiçando tempo e energia que poderiam ser mais bem empregados em outras atividades, enquanto aqueles que não respondem adequadamente a um estímulo perigoso têm uma menor probabilidade de sobrevivência (MATHIS; VICENT 2000).

A maioria das habilidades de reconhecimento de predadores é química ou visualmente orientada, ou muitas vezes em conjunto, como já observado por Flowers & Graves 1997, Gallie et al. 2001 e Mathis & Vicent 2000, em estudos feitos com girinos de *Bufo americanus* - onde as respostas dos indivíduos foram significativamente afetadas pelo estímulo químico dos

predadores (GALLIE 2001); estudos feitos com larvas de salamandras, onde indivíduos apresentaram respostas mais efetivas aos estímulos conjuntos – químico e visual (MATHIS; VINCENT 2000); Estudo com *Bufo cognatus* e *Bufo elegans*, os indivíduos detectaram e evitaram predadores a partir de suas pistas químicas (Flowers & Graves 1997). Anfíbios podem detectar a presença de predadores por meio de sinais visuais, químicos, acústicos ou vibrações de substrato (FERREIRA et al. 2019).

No caso dos anuros, há extensa literatura a respeito de comportamento defensivo e percepção de predadores, bem como variações ontogenéticas entre girinos e indivíduos pós-metamórficos (FERREIRA et al. 2019, LOURENÇO-DE-MORAES et al. 2011, FLOWERS; GRAVES 1997, WALDMAN; BISHOP 2004, GALLIE et al. 2001, HEWS 1988, TOLEDO 2011). O comportamento antipredatório dos anuros pode ser classificado em 12 diferentes mecanismos, separados em três fases de defesa (evitar detecção, prevenção de ataque e contra-ataque). São eles: camuflagem, imobilidade, interrupção de vocalização, aposematismo, investida, postura, fuga, som de aviso, descarga cloacal, secreção, agressão, canto de estresse (FERREIRA et al. 2019). É importante entender se e como comportamentos de defesa são afetados em cativeiro para avaliar a capacidade de reintrodução de espécies e buscar subsídios para que esta ocorra com maior taxa de sucesso possível (LOURENÇO-DE-MORAES et al. 2011, GALLIE et al. 2001).

A eficiência entre pistas químicas e visuais é variável entre espécies e fase do desenvolvimento em que o anuro se encontra (GALLIE 2001, MATHIS; VINCENT 2000). É importante entender se e como comportamentos de defesa são afetados pelas condições *ex situ* para avaliar a viabilidade de indivíduos para a soltura na natureza e, assim, garantir o maior sucesso possível em programas de reintrodução de espécies (BANKS 2000, SEDDON 2007).

Amphibia é o grupo de vertebrados mais ameaçado de extinção no mundo (IUCN 2023), contando com 41% das espécies listadas em alguma categoria de ameaça (IUCN 2023). São diversas as causas para o declínio das populações de anfíbios, entre elas, perda e fragmentação de habitat, doenças emergentes, poluição, mudanças climáticas, expansão agropecuária, introdução de espécies exóticas, e a interação sinérgica entre estes estressores (ZEGEYE 2017, MURPHY et al. 2017).

Apesar de contar com um esforço global na promoção de diversas ações conservacionistas em andamento (GASGON et al. 2007, WREN 2015), além de a criação em cativeiro já ser considerada essencial para alguns anfíbios ameaçados (MCFADDEN et al.

2013, PAVAJEAU et al. 2008 E ZIPPEL et al. 2011), a conservação *ex situ* dos anfíbios anuros ainda pode ser considerada limitada quando comparada à outros grupos. Programas de conservação podem transcorrer por anos, até décadas até obter sucesso na reintrodução das espécies alvo, então muitas espécies que hoje já estão obtendo sucesso podem não ter sido contempladas nas listas citadas (HARDING 2015, GRIFFITHS 2008).

Dentre as iniciativas existentes, se destacam àquelas com relevante contribuição à conservação e a reintrodução de espécies, como o *Project Golden Frog* (Projeto Sapo Dourado), que preveniu a total extinção de três espécies de sapos dourados no Panamá, bem como está trabalhando para criação em cativeiro de outras espécies ameaçadas (GAGLIARDO 2008). No Brasil, a conservação *ex situ* de anfíbios ainda encontra-se em fase inicial (LISBOA et al. 2023). A perereca-de-alcatrazes (*Oloolygon alcatraz*) consta na lista de espécies alvo/prioritárias para ações de conservação *ex situ* (WREN 2015) e é a primeira espécie alvo brasileira deste tipo de programa, que teve início em 2011 (LISBOA; VAZ 2012). Mais recentemente, outras espécies também já começaram a ser criadas e reproduzidas *ex situ* com finalidades conservacionistas, como a perereca-de-capacete-do-rio-pomba (*Nyctimantis pomba*), com programa iniciado em 2019 e em 2022 tendo sido documentada a primeira reprodução sob condições *ex situ* para a espécie (LISBOA et al. 2023).

A perereca-de-Alcatrazes [*Oloolygon alcatraz* (B. Lutz, 1973)] é uma espécie endêmica do Brasil, com ocorrência restrita à Ilha dos Alcatrazes, litoral norte do Estado de São Paulo. Esta espécie é broméligena e está categorizada como Vulnerável pela lista oficial de espécies ameaçadas do Brasil (MMA 2022) e Criticamente em Perigo pelas listas de espécies ameaçadas de extinção do Estado de São Paulo e da International Union for Conservation of Nature (SÃO PAULO 2018, IUCN 2023). Em 2011, *O. alcatraz* foi submetida ao programa de conservação *ex situ* da então Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP), em concordância com as metas do Plano de Ação Nacional para a Conservação da Herpetofauna Insular Ameaçada de Extinção (BATAUS; REIS 2011).

A abundância de indivíduos selvagens e o sucesso do criadouro conservacionista, traz oportunidades de aprofundamento dos estudos com a espécie nos campos de comportamento, fisiologia e resistência a doenças, não somente visando uma possível necessidade de reintrodução da espécie, como também de modo a auxiliar a conservação dos indivíduos *in situ* e espécies similares (LISBOA et al. 2021). Apesar da citada abundância e sucesso do programa

*ex situ*, é necessário pesar a possibilidade de reintrodução da espécie e avaliar o fitness comportamental destes indivíduos para tal.

Ainda que seja alvo do programa de conservação do Zoológico de São Paulo, informações sobre história natural e ecologia da *O. alcatraz* ainda são pouco conhecidas (BRASILEIRO 2005, VAZ 2016, LISBOA 2017, MOROTI 2019). Embora o programa de conservação *ex situ* venha tendo grande sucesso até o momento, com bons resultados de sobrevivência e reprodução em cativeiro (LISBOA et al. 2021), seu objetivo principal é manter populações viáveis para uma eventual necessidade de reintrodução na natureza.

Por isso, é importante gerar informações etológicas específicas, de modo a trazer subsídios para eventuais ações de reintrodução. Entender como os indivíduos de vida livre e nascidos e os mantidos sob cuidados humanos reagem aos riscos de predação típicos de seu ambiente natural é fundamental para garantir o sucesso do programa de conservação como um todo.

Este projeto visa investigar as habilidades de detecção de predadores naturais em indivíduos de vida livre e sob cuidados humanos e avaliar possíveis diferenças comportamentais na estratégia defensiva de *Oololygon alcatraz*. Espera-se que este trabalho forneça subsídios para futuros estudos comportamentais e desvendar suas implicações para a conservação da espécie e à possibilidade de reintrodução dos indivíduos *ex situ* à Ilha de Alcatrazes.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a percepção de predadores por *Oloolygon alcatraz* e a interferência que a criação *ex situ* pode ter em seu comportamento, com o intuito de subsidiar possíveis ações de reintrodução na natureza, além de aprofundar o conhecimento etológico da espécie para conservação da população de vida livre.

A partir disso, foram definidos dois objetivos específicos para o trabalho:

- (1) Comparar habilidades de detecção de predadores entre indivíduos de vida livre e indivíduos sob cuidados humanos;
- (2) Testar diferenças comportamentais entre diferentes pistas predatórias e diferentes tipos de predadores.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Espécie de Estudo

*Ololygon alcatraz* é endêmica da Ilha dos Alcatrazes, ilha principal do Arquipélago de Alcatrazes, município de São Sebastião, litoral norte do Estado de São Paulo. Consta como Vulnerável pela última lista publicada pelo Ministério do Meio Ambiente (Portaria MMA n.º 148/2022) e pelas listas de fauna ameaçada de extinção da IUCN - *International Union for Conservation of Nature* (2023) e do Estado de São Paulo (Decreto n.º 63.853/2018), a espécie consta classificada como CR – *Critically Endangered*/Criticamente em Perigo.

Trata-se de uma espécie bromelígena, ou seja, é dependente de bromélias para completar seu ciclo de vida (BRASILEIRO, 2008), assim como todas as espécies do grupo *Ololygon perpusillus*. Seus ovos e girinos se desenvolvem na água das bromélias (modo reprodutivo 6, HADDAD; PRADO, 2005), bem como a área de ocorrência dos indivíduos pós metamórficos também se dá nos bromeliais da ilha, onde também usam como abrigo. A população *in situ* é abundante e facilmente encontrada nos bromeliais (HADDAD et. al 2018). Assim como diversas espécies de anuros, as fêmeas são maiores e mais pesadas do que os machos da espécie (BATAUS; REIS 2011).

Tal qual outras espécies do grupo (GOMES et al. 2002, SABAGH 2020, HARTMANN et al. 2003, PERTREL et al. 2010), acredita-se que *O. alcatraz* seja presa das espécies de jararaca (*Bothrops alcatraz*) e aranhas (*Ctenus medius* e *Phoneutria keyserlingi*) caçadoras da ilha (BATAUS; REIS 2011, ICMBIO 2017), tendo sido observado episódio de predação por *Ctenus medius* por Brasileiro e Oyamaguchi em 2006.

**Figura 1 – a) e b) Adultos de *Ololygon alcatraz* em bromélia registrada na Ilha dos Alcatrazes. Foto: Stephanie Klomann dos Santos.**



Por se tratar de uma espécie insular, *O. alcatraz* já se encontra especialmente vulnerável ao declínio de sua população (BATAUS; REIS 2011) - assim como demais espécies de ilha, inevitavelmente expostas a quaisquer situações adversas, como patologias e invasão de espécies exóticas (MARAGON 2023). As características de ambientes insulares, com vegetação terrestre composta por comunidades pequenas, isoladas, fragmentadas e interdependentes, se reflete na fauna associada, com espécies restritas a determinados ambientes, populações reduzidas e endêmicas ao arquipélago (BATAUS; REIS 2011).

Neste mesmo contexto, o paredão rochoso da região do Saco do Funil, principal área de ocorrência da perereca, era muito usado pela Marinha para treino de tiro, o que representava uma forte ameaça à espécie (HADDAD et al. 2018). Desde 2013, os treinos de tiro da Marinha estão restringidos à Ilha da Sapata na porção terrestre do Arquipélago, sendo a maior preocupação atual quanto aos impactos à espécie, a reabertura à visitação pública do Refúgio de Alcatrazes, retomada no ano de 2018 (ICMBio 2018), além do constante risco de desembarques não autorizados na ilha, facilitados pela distância e dificuldade logística de incursões de fiscalização ao arquipélago (BATAUS; REIS 2011).

### **3.2 Habitat da espécie**

A Ilha de Alcatrazes faz parte do Arquipélago dos Alcatrazes, localizado no litoral norte do Estado de São Paulo, distante a cerca de 35 km do continente (24°05'25" S e 45°41'00" W) e possui área aproximada de 135 ha. O arquipélago é atualmente protegido por duas Unidades de Conservação Federal de Proteção Integral, sob administração do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), a Estação Ecológica Tupinambás (Decreto de criação n.º 94.656, de 20 de julho de 1987), e o Refúgio de Vida Silvestre do Arquipélago de Alcatrazes (Decreto de criação de 02 de agosto de 2016).

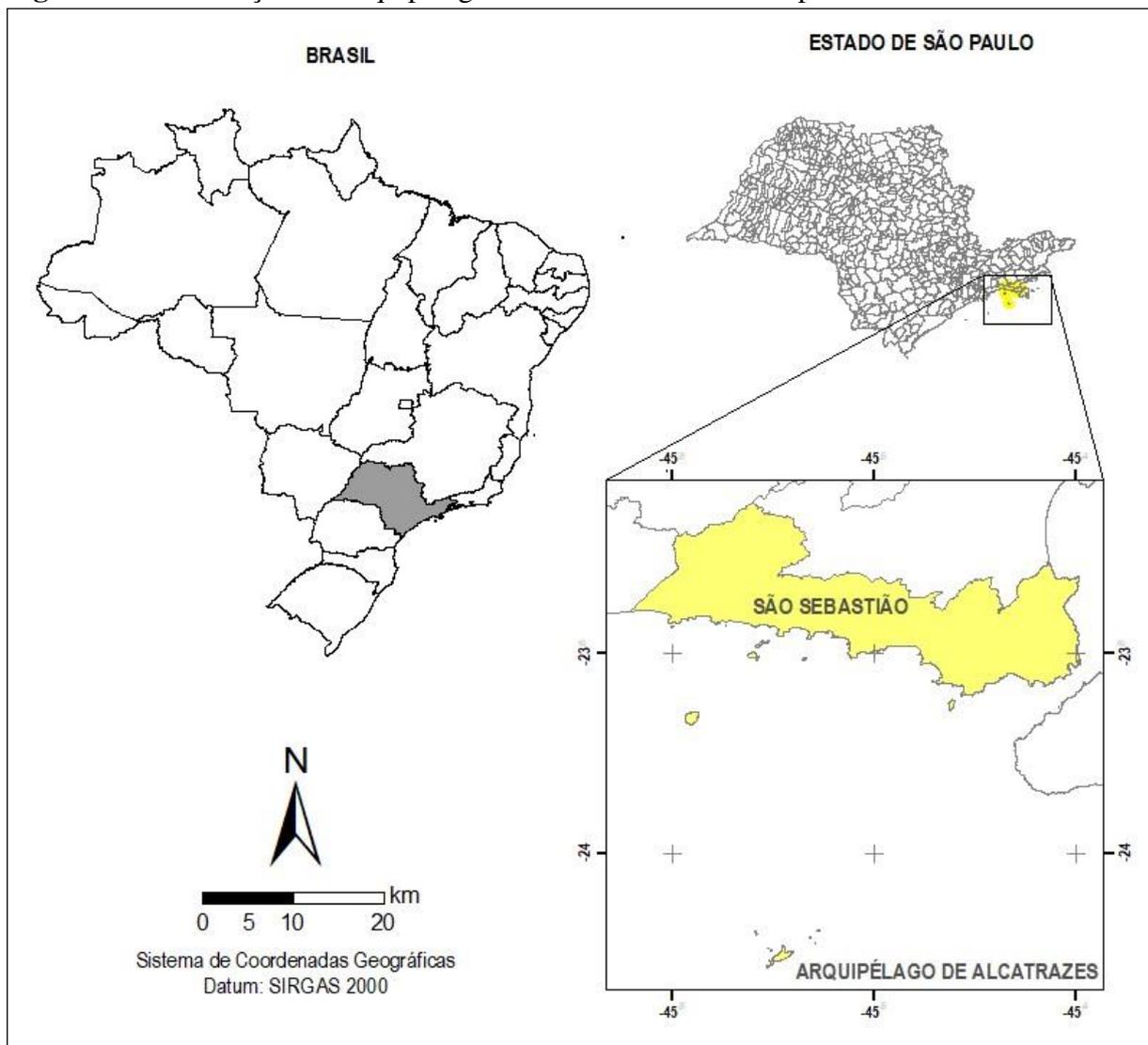
O Refúgio compreende todo o arquipélago dos Alcatrazes, com exceção da Ilha da Sapata e outras protegidas pela ESEC Tupinambás, e seu significativo entorno marinho, sendo a maior UC marinha de proteção integral das regiões Sul e Sudeste do Brasil (ICMBio 2017). Integram ainda as áreas do Refúgio o espaço aéreo, o fundo marinho e o subsolo correspondentes às suas áreas previstas em Decreto.

A ilha da Sapata e parte da área marinha da Zona de Amortecimento do Refúgio é reservada às atividades militares da Marinha do Brasil, e possuem as mesmas proibições permanentes de atividades recreativas, pesca, caça-submarina, mergulho e fundeio (ICMBio

2017). A Ilha de Alcatrazes é reconhecida por seu patrimônio natural, sítio de espécies ameaçadas, endêmicas e migratórias.

Na época de elaboração do Plano de Manejo da RVS e EC, haviam sido identificadas 1.292 espécies de fauna e flora, com pelo menos 93 delas sob algum grau de ameaça. Das nove espécies de herpetofauna terrestre identificadas, três são endêmicas da Ilha de Alcatrazes e estão categorizadas em algum grau de ameaça: *Cycloramphus faustoi*, *Ololygon alcatraz* e *Bothrops alcatraz* (ICMBio 2017). Este é o resultado de um isolamento genético de cerca de 11 mil anos.

**Figura 2** – Localização do Arquipélago de Alcatrazes. Fonte: Stephanie Klomann dos Santos.

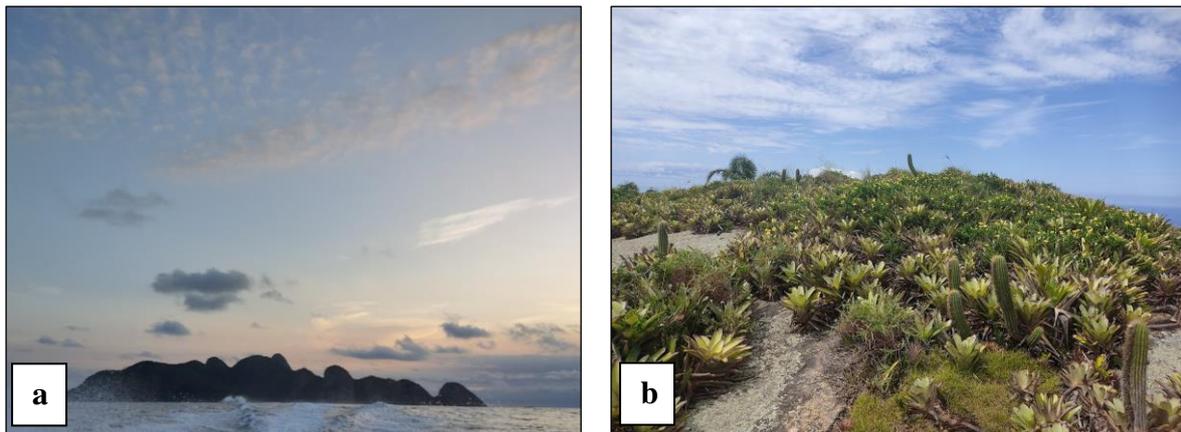


A fisionomia vegetal presente na ilha é característica de Mata Atlântica, típica de ambientes insulares com comunidades pequenas, isoladas do continente, fragmentadas e interdependentes (BATAUS; REIS 2011). Suas principais formações são os costões rochosos,

formações rupestres, e floresta ombrófila densa de porte arbustivo à arbóreo médio, com estrutura de dossel aberto e abundância de palmeiras (ICMBio 2017).

As populações de *O. alcatraz* estão restritas aos bromeliais presentes na ilha, de ocorrência principalmente nas áreas de vegetação rupestre com formação saxícola (BATAUS; REIS, 2011, ICMBio 2017).

**Figura 3** – **a)** Ilha de Alcatrazes; **b)** Bromelial em Alcatrazes. Foto: Stephanie Klomann dos Santos.



### 3.3 Origem dos indivíduos amostrados

Para investigar as habilidades naturais da espécie em reconhecer e detectar seus possíveis predadores naturais, foram utilizados indivíduos de origem *in situ* e *ex situ* para os testes comportamentais.

Os indivíduos de cativeiro são provenientes da população *ex situ* mantida no Zoológico de São Paulo, bem como a pesquisa foi desenvolvida majoritariamente na instituição – realização de teste piloto e o experimento com os indivíduos mantidos sob cuidados humanos. Foram utilizados indivíduos pós-metamórficos nascidos em diferentes períodos e anos (idade 1 a 60 meses após a metamorfose), para obter variedade morfológica e etária no grupo amostral, de modo semelhante ao encontrado em natureza (LISBOA, 2017).

A coleta dos indivíduos em campo foi realizada em março de 2023, onde foram capturados quinze indivíduos adultos (pós-metamórficos) de *O. alcatraz* conforme disposto por Lisboa (2017), sendo cinco fêmeas e dez machos. Os animais coletados foram transportados até a Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, em potes plásticos com

fundo preenchido com água e vegetação para manter a umidade e criar pontos de fuga (LISBOA 2017).

Os indivíduos coletados foram alocados, alimentados e passaram por quarentena de três dias antes do experimento e coleta de dados, para evitar possíveis mudanças nas características fisiológicas decorrentes da permanência em cativeiro (NAVAS; GOMES 2001, LISBOA 2017).

Para a coleta dos indivíduos nativos e realização do experimento foram obtidas as respectivas autorizações necessárias do Zoológico de São Paulo, Comissão de Ética no Uso de Animais da UNIFESP (CEUA n.º 6366270722) e SISBIO (Documento n.º 80343-5).

### **3.4 Condições de Manutenção em Cativeiro**

A pesquisa de laboratório foi dividida em duas etapas, a primeira, foi realizada no laboratório de Ecologia, Zoologia e Fisiologia Comparada da UNIFESP – Campus Diadema, onde os indivíduos de vida livre foram testados logo após sua coleta; e a segunda, realizada no Zoológico de São Paulo, onde o criadouro *ex situ* de *Ololygon alcatraz* é mantido.

Os indivíduos de procedência *ex situ* ficaram alojados e mantidos sob as condições previamente utilizadas pelo Zoológico de São Paulo: em terrários de vidro (45X45X60cm) (Figura 4), com ventilação adequada e sem substrato. Iluminação: Fotoperíodo natural e 4h semanais de luz UVB artificial; Alimentação: grilos recém-nascidos suplementados com cálcio, quantidade *ad libitum*, ofertados 2x por semana; Qualidade da água: filtrada, *ad libitum*; Ventilação: natural. Potes com vegetação promovem abrigo (LISBOA, 2017).

Os indivíduos coletados em campo foram mantidos na UNIFESP para aclimação e realização dos experimentos. Os indivíduos de vida livre permaneceram no Laboratório de Ecologia, Zoologia e Fisiologia Comparada, e após o experimento, dez indivíduos foram doados à UNIFESP e cinco doados ao criadouro do Zoológico de São Paulo. As condições do mantenedouro foram adaptadas para o mais próximo possível do que é encontrado no Zoológico de São Paulo e que é bem-sucedido para manutenção da espécie em cativeiro. As condições do mantenedouro são apresentadas a seguir: Dimensões da instalação: Terrários de vidro de 30x20x30cm (AxLxP); Iluminação: Artificial; Alimentação: grilos recém-nascidos, ofertados 1x por semana; Qualidade da água: filtrada; Ventilação: ar condicionado (22-25 °C); Potes com vegetação e água para abrigo.

**Figura 4** – Aquários para alojamento dos indivíduos de *O. alcatraz*. Fotos: Stephanie Kломann dos Santos.



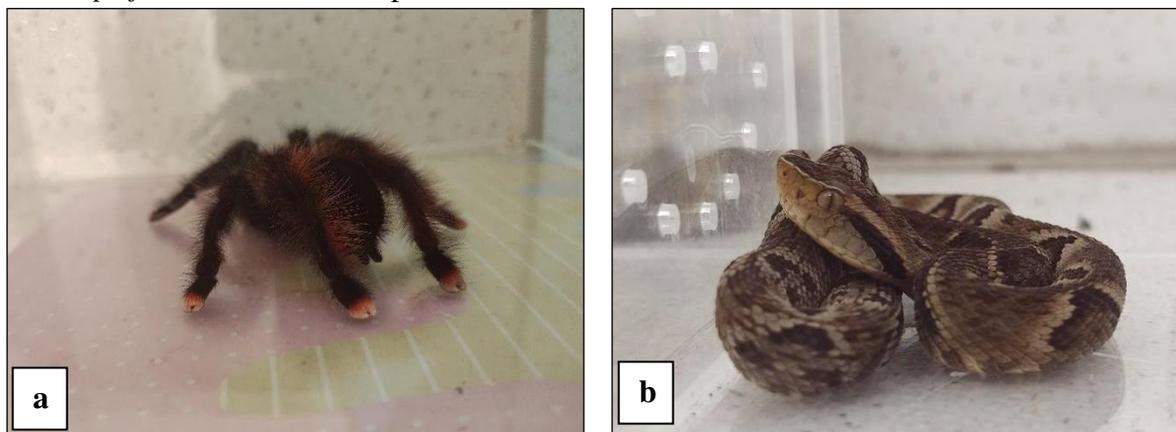
Para o experimento, foi utilizado um total de 40 indivíduos adultos, sendo 15 de vida livre (10 machos e 5 fêmeas), coletados da Ilha de Alcatrazes, e 25 de cativeiro (13 machos e 12 fêmeas) (HAMER et al. 2011, LISBOA, 2017).

### 3.5 Experimento

Tendo em vista a dificuldade de se adquirir indivíduos nativos da ilha, que não envolvesse novas capturas, foram utilizados para os experimentos indivíduos de espécies semelhantes e com ecologia alimentar similar aos predadores esperados de *O. alcatraz*, sendo elas a serpente *Bothrops jararaca* e as aranhas *Avicularia avicularia*, *Acanthoscurria* sp. e *Plesiopelma* sp. (BRASILEIRO; OYAMAGUCHI, 2006; ICMBIO, 2017).

Para o experimento na UNIFESP, recebemos doação de um indivíduo de *B. jararaca* e um indivíduo de *Plesiopelma* sp. do Laboratório de Coleções Zoológicas do Instituto Butantan. Para os experimentos realizado no Zoo de São Paulo, foram utilizadas aranhas das espécies caranguejeira (*Acanthoscurria* sp.) e tarântula-de-dedos-rosas (*Avicularia avicularia*), pertencentes ao plantel do zoológico, e 3 indivíduos de *B. jararaca* que foram encontrados nas imediações do Zoológico de São Paulo e coletados para uso exclusivo no experimento. O Zoológico está inserido na Unidade de Conservação Estadual Parque Estadual das Fontes do Ipiranga – PEFI, local de ocorrência natural da espécie *Bothrops jararaca* (LISBOA et al. 2021).

**Figura 5** – Exemplo de indivíduos usados nos testes, onde **(a)** *Avicularia avicularia* e **(b)** *Bothrops jararaca*. Fotos: Stephanie Klomann dos Santos.



De modo a avaliar a influência da presença dos predadores no comportamento de *O. alcatraz*, as pererecas foram expostas a estímulos visuais e químicos de cada predador.

Para os testes, foi utilizada uma arena de acrílico confeccionada exclusivamente para o projeto (tubo retangular transparente de medidas 10 x 70 x 10 cm (AxCxP) (Figura 6a) (HAMER et al. 2011), com abrigos em cada extremidade externa perpendicular ao tubo (potes de plástico medindo 10 x 10 cm com água e vegetação, similar aos utilizados pelas *O. alcatraz* em condições ex situ – LISBOA et al. 2021). Adicionalmente, os predadores utilizados no experimento foram alocados em uma caixa acrílica separada (medidas 16x16x16cm) (Figuras 6b e 6c), de modo a minimizar os riscos ocupacionais de manejo, bem como facilitar a movimentação dos mesmos.

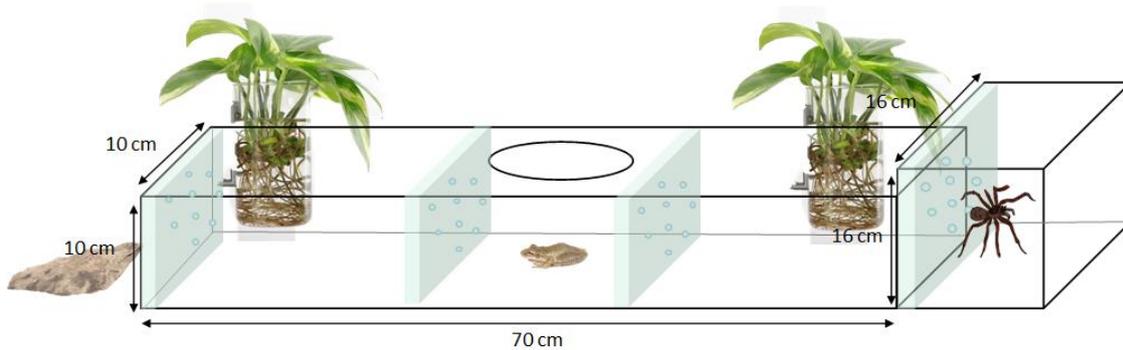
As pererecas foram colocadas individualmente no centro do tubo e expostas a 6 diferentes tratamentos:

- (1) Químico jararaca x controle;
- (2) Químico aranha x controle;
- (3) Visual jararaca x controle;
- (4) Visual aranha x controle;
- (5) Visual e Químico jararaca x controle;
- (6) Visual e Químico aranha x controle.

**Figura 6** – Realização de experimentos, onde (a) – Visão da arena de testes e caixa dos predadores. (b) – Testes com *Bothrops jararaca*. (c) – Testes com *Avicularia avicularia*. (d) Configuração para desenvolvimento dos testes. Fotos: Stephanie Klomann dos Santos.



**Figura 7** – Modelo conceitual da arena de testes, caixa dos predadores e exemplo de configuração para desenvolvimento dos testes. Fonte: Stephanie Klomann dos Santos.



Para o teste químico, o odor do predador foi obtido através da colocação de papel toalha nos recintos dos indivíduos, onde permaneceram por pelo menos 5 dias, depois foram retirados, cortados e congelados em quadrados de 5 x 5 cm para prevenir perda do odor (FLOWERS; GRAVES 1997, HAMER et al. 2011). Os papéis foram colocados na extremidade do tubo acrílico que correspondia ao lado predador. Para os testes visuais, foi utilizado um acrílico inteiriço, para evitar a passagem de odor (LOURENÇO-DE-MORAES et al. 2016; HAMER et al. 2011). Para o teste de estímulo conjunto (visual e químico), os predadores foram dispostos em acrílico vazado, de modo a possibilitar a passagem de ar entre os recintos e a visualização direta entre os animais. Todos os testes utilizaram um fragmento de rocha no lado controle, representando o lado sem predador. A distância entre a perereca e o estímulo predador foi de cerca de 35 cm.

A escolha dos lados onde o estímulo do predador era disposto foi aleatorizada de modo a evitar a influência de outros efeitos indesejados (BURGHARDT 1969). Foi determinado que o animal cruzou para um dos lados quando mais de 50% do seu corpo ultrapassou a divisa da caixa.

Ademais, devido à aparente imobilidade apresentada por alguns indivíduos, após o término dos experimentos com o predador, foram realizados mais três estímulos artificiais, de modo a buscar aumentar o nível de estresse e forçar uma reação do animal, a saber: salto ou recuo no mesmo lugar ou para um dos lados da arena (predador x controle). O estímulo foi realizado na seguinte ordem: aproximação rápida do indivíduo, bater na caixa, e tocar no animal, até que este realizasse o primeiro movimento.

Os testes com cada predador foram realizados em dias separados e decorreram por 35/40 minutos por indivíduo, sendo cerca de 12 minutos para cada estímulo (2 minutos de aclimatação após colocação do indivíduo e mais 10 minutos de observação com cada pista). Foram realizados cerca de 5 a 6 testes por dia, nunca com o mesmo indivíduo, sendo que foi dado um intervalo de pelo menos 5 dias para realizar um novo teste com o mesmo indivíduo. A atividade do anfíbio foi monitorada em vídeo e áudio por câmeras infravermelho, e foram anotados os comportamentos apresentados e horário, bem como o tempo que o indivíduo permaneceu em cada lado da arena. Foram anotadas as condições de temperatura e umidade em cada dia de testes e com o auxílio de um paquímetro digital, foram tomados os seguintes dados biométricos dos indivíduos: 1) comprimento rostro-cloacal (CRC); 2) massa corpórea (MC) (LISBOA 2017). A arena foi limpa com álcool 70 % a cada troca de experimento.

Os dados foram separados por grupos (vida livre e cativo) e estímulos, contendo o tempo que cada indivíduo do grupo demorou para reagir ao estímulo realizado, bem como a preferência do indivíduo entre os lados controle x predador. A preferência do indivíduo foi determinada pelo lado escolhido em sua primeira ação após a exposição ao estímulo, podendo ser controle, predador ou não escolheu.

Os testes na UNIFESP decorreram ao longo do mês de março/2023, com uma variação de temperatura de 23,5-24,4 °C e umidade relativa do ar entre 40-41 % e os testes no zoológico, incluindo teste piloto, ocorreram entre outubro/2022 e outubro/2023, com variação de temperatura de 19,5-25 ° C e umidade de 60-89%.

### **3.6 Análise de dados**

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa PAST v. 3.26 (HAMMER et al. 2001). A normalidade dos dados foi testada pelo método Shapiro-Wilk, considerando  $P > 0,05$  como hipótese nula para uma distribuição normal.

Para verificar as diferenças no tempo de reação entre os grupos (*ex situ* e *in situ*) para cada tipo de tratamento, foi realizado o teste não paramétrico Mann-Whitney – devido à não normalidade das amostras. Os resultados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

Para avaliar a preferência dos grupos entre os lados predador e controle, foi anotado o lado escolhido na primeira movimentação e posteriormente calculada a frequência de cada escolha, variando entre: controle, predador e não escolheu lado. De modo a testar a significância da associação entre as frequências, foi realizado o teste Chi-quadrado e o teste V

de Cramer para avaliar a força da associação. Foi considerado  $P > 0,05$  como hipótese nula para uma distribuição normal. Os resultados estão expressos em porcentagem.

Para verificar possíveis diferenças entre às repostas aos estímulos forçados, foi calculada a frequência de cada reação, e posteriormente realizado o teste Chi-quadrado para testar sua significância e V de Cramer para avaliar a força da associação. Foi considerado  $P > 0,05$  como hipótese nula para uma distribuição normal. Os resultados estão expressos em porcentagem.

#### 4. RESULTADOS

Os indivíduos de vida livre apresentaram comprimento rostro-cloacal (CRC) variando de 23,1 a 33,43 mm ( $26,50 \pm 3,47$  mm;  $n = 15$ ) e os sob cuidados humanos de 19,4 a 27,50 mm ( $24,02 \pm 2,37$  mm;  $n = 25$ ). O CRC médio de ambos os grupos foi semelhante (Mann-Whitney  $p = 0,067$ ).

A massa corpórea (MC) dos indivíduos de vida livre variou de 0,7 a 2,33 g ( $1,24 \pm 0,52$  g;  $n = 15$ ). Nos indivíduos sob cuidados humanos a MC variou de 0,7 a 2,4 g ( $1,48 \pm 0,47$  g;  $n = 25$ ). A massa corpórea média de ambos os grupos foi semelhante (Mann-Whitney  $p = 0,174$ ).

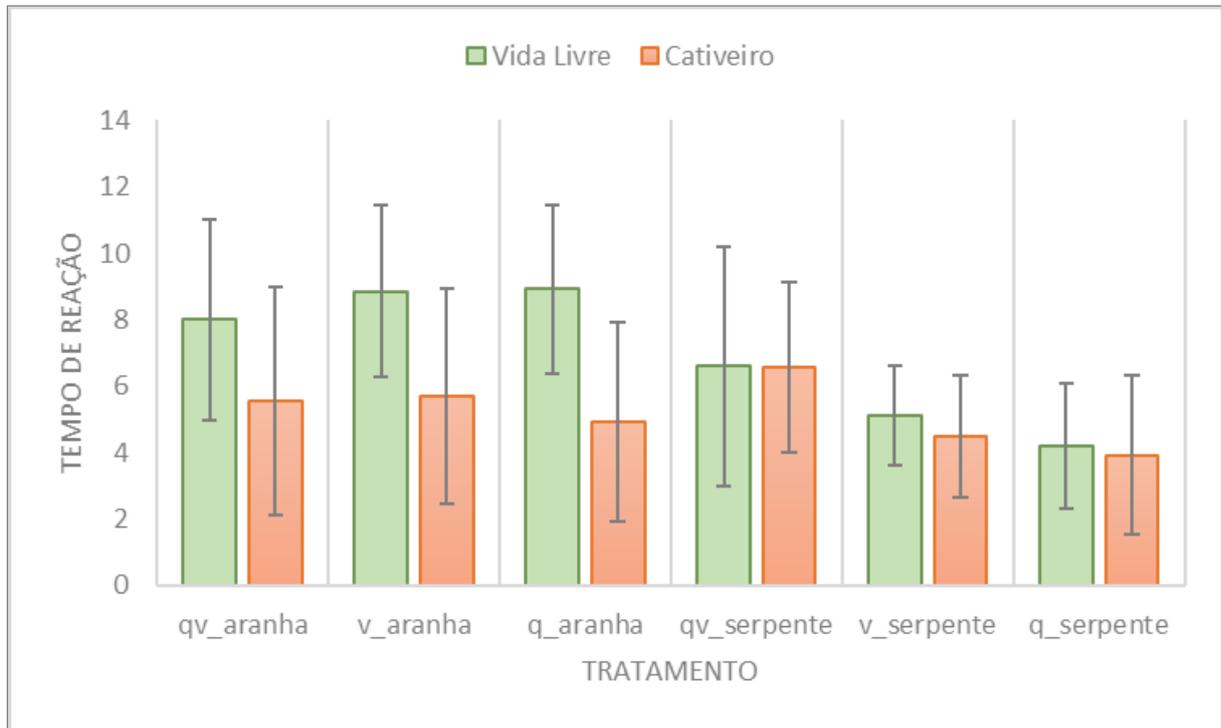
Em relação às médias dos grupos quanto ao tempo de resposta após exposição ao estímulo, houve diferença significativa em todos os grupos (*ex situ* e vida livre) e tratamentos, exceto para a exposição ao estímulo químico-visual da jararaca. Para todos os demais estímulos, ao contrário do esperado, o grupo de cativeiro apresentou uma resposta mais rápida aos estímulos do que o grupo de vida livre (Tabela 1).

**Tabela 1** - Resumo das análises estatísticas quanto ao tempo de reação ao estímulo para cada tratamento para os indivíduos de procedência *ex situ* e *in situ*. Destacado em vermelho, o resultado Mann-Whitney com  $p$  não significativo.

Tempo de Resposta ao Estímulo						
	Pista	Grupo <i>In situ</i> (n=15)		Grupo <i>Ex situ</i> (n=25)		Mann-Whitney
		Shapiro-Wilk	Média	Shapiro-Wilk	Média	
Aranha	químico-visual	W= 0,6872; $p = 0,000182$	$8 \pm 3,03$	W= 0,8152; $p = 0,000411$	$5,56 \pm 3,44$	$p = 0,0342$
	visual	W= 0,498; $p = 0,000003$	$8,87 \pm 2,60$	W= 0,8536; $p = 0,002061$	$5,72 \pm 3,24$	$p = 0,0039$
	químico	W= 0,5055; $p = 0,000004$	$8,93 \pm 2,43$	W= 0,8652; $p = 0,003474$	$4,92 \pm 2,99$	$p = 0,0003$
	Pista	Grupo <i>In situ</i> (n=15)		Grupo <i>Ex situ</i> (n=24)		Mann-Whitney
Serpente	químico-visual	W= 0,7815; $p = 0,00215$	$6,6 \pm 3,59$	W= 0,8577; $p = 0,002473$	$6,58 \pm 2,55$	$p = 0,9887$
	visual	W= 0,6613; $p = 0,000099$	$5,1 \pm 1,50$	W= 0,8428; $p = 0,001289$	$4,5 \pm 1,83$	$p = 0,0070$
	químico	W= 0,5954; $p = 0,000023$	$4,2 \pm 1,88$	W= 0,8362; $p = 0,000975$	$3,92 \pm 2,4$	$p = 0,0011$

A figura 8 apresenta graficamente o tempo médio de reação dos grupos para cada tipo de tratamento.

**Figura 8** - Tempo médio de reação de *Ololygon alcatraz* diante da aranha e da serpente em cada tratamento (estímulos químico, visual e ambos). As linhas verticais representam o desvio-padrão **Legenda:** **qv\_aranha:** estímulo químico-visual aranha; **v\_aranha:** estímulo visual aranha; **q\_aranha:** estímulo químico aranha; **qv\_serpente:** estímulo químico-visual Serpente; **v\_serpente:** estímulo visual Serpente; **q\_serpente:** estímulo químico Serpente.



Quanto à escolha do lado após estímulo, houve uma associação significativa entre os grupos para todos os estímulos, com exceção da resposta ao estímulo forçado, onde não houve diferença significativa entre as escolhas dos grupos *ex situ* e vida livre, bem como não houve influência do estímulo no lado escolhido. A maioria dos tratamentos apresentou ainda uma associação forte em relação à procedência do indivíduo na escolha dos lados, com exceção do tratamento químico-visual, que para ambos os predadores apresentou uma associação fraca entre as variáveis.

Em suma, os resultados apontam para padrões claros de associação entre a procedência do grupo e suas escolhas, com algumas variações específicas dependendo do tipo de estímulo realizado.

A tabela 2 apresenta o resumo das análises estatísticas realizadas a partir da escolha de lado para cada grupo e tratamento, enquanto a figura 8 apresenta os percentuais para cada. As

frequências absoluta e relativa de cada grupo para cada tratamento realizado está disponível no

## Apêndice A.

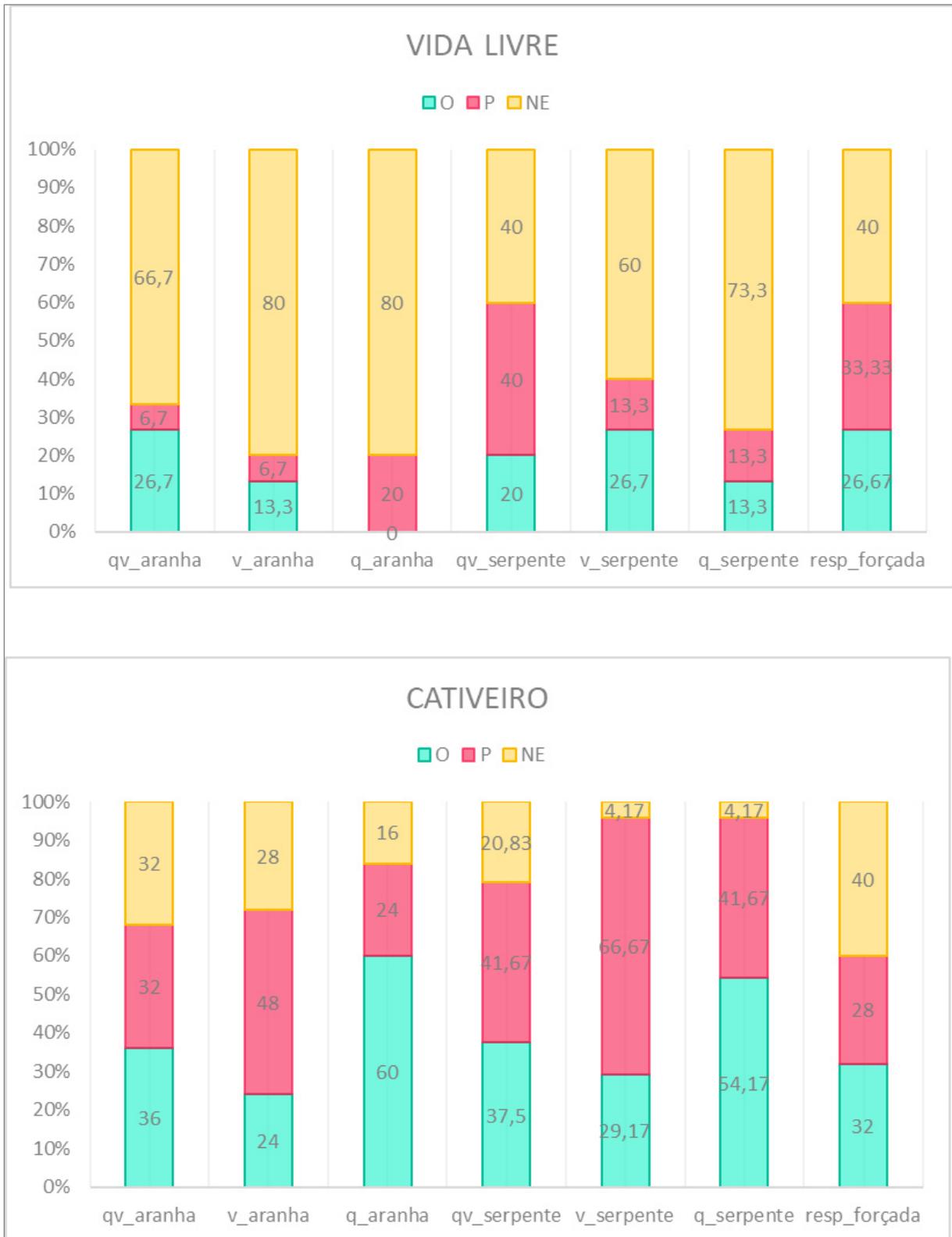
**Tabela 2** - Resultado das análises estatísticas quanto ao lado escolhido na primeira reação para cada tratamento mais a resposta forçada, para os indivíduos sob cuidados humanos e de vida livre. Destacado em vermelho, os resultados de Cramer's V com p significativo, indicando uma forte associação.

Lado escolhido			
	Pista	Chi <sup>2</sup>	Cramer's V
Aranha	químico-visual	Chi <sup>2</sup> = 31,181; p= 1,69E-07	0,397
	visual	Chi <sup>2</sup> = 60,97; p= 5,76E-14	0,554
	químico	Chi <sup>2</sup> = 103,03; p= 4,24E-23	0,718
Serpente	químico-visual	Chi <sup>2</sup> = 11,73; p= 2,84E-03	0,243
	visual	Chi <sup>2</sup> = 84,721; p= 4,01E-19	0,654
	químico	Chi <sup>2</sup> = 101,44; p= 9,39E-23	0,716
Resposta forçada		Chi <sup>2</sup> = 1,0255; p= 0,59884	0,072

Quando observadas as frequências de escolhas dos grupos para cada tratamento, é possível verificar que os animais de vida livre se mantiveram imóveis, sem fugir para um dos lados, com uma frequência muito maior que os sob cuidados humanos. Em média, 63% dos indivíduos de vida livre ficaram imóveis, enquanto 19% escolheram o lado do predador e 18% escolheram o lado controle na primeira movimentação após estímulo. Enquanto os animais cativos, apenas 21 % se mantiveram imóveis, contra 40% que escolheram lado predador e 39% que escolheram o lado controle. Para os indivíduos que escolheram lado, foi possível observar que não houve diferença significativa entre o lado escolhido (*ex situ* p=0,75; *in situ* p=0,74).

Esses resultados indicam que para todos os tratamentos, exceto a resposta forçada, a procedência dos indivíduos (*ex situ* x *in situ*), influenciou significativamente o lado escolhido para fuga, embora variando no tamanho do efeito. Sendo que, na maior parte das vezes, o grupo de vida livre escolheu não se movimentar, enquanto o grupo *ex situ* se movimentou, independentemente do lado escolhido.

**Figura 9** - Percentual de escolhas para cada grupo (cativeiro x vida livre) baseado no tipo de tratamento. **Legenda:** **qv\_aranha:** estímulo químico-visual aranha; **v\_aranha:** estímulo visual aranha; **q\_aranha:** estímulo químico aranha; **qv\_serpente:** estímulo químico-visual Serpente; **v\_serpente:** estímulo visual Serpente; **q\_serpente:** estímulo químico Serpente; **resp\_forçada:** resposta à reação forçada; **O** = controle; **P** = predador; **NE** = não escolheu.



## 5. DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstram que a *Ololygon alcatraz* de vida livre mais frequentemente escolheu permanecer imóvel, com um tempo de reação médio maior que o do grupo *ex situ*, e mesmo quando escolheu se movimentar, não escolheu um lado. Já o grupo de indivíduos sob cuidados humanos, se movimentou mais rapidamente que os espécimes de vida livre, porém não apresentou uma clara preferência pelos lado predador ou controle, se movimentando similarmente em ambos os lados.

A imobilidade é uma característica defensiva bem documentada em anuros, conforme trabalhos de Toledo 2010 e 2011, Lourenço-de-Moraes 2016, Ferreira et al. 2019, Sweckard 2021, Marchisin e Anderson 1978 e Relyea 2001, podendo ocorrer sozinha ou em conjunto com outras técnicas defensivas, principalmente a fuga (TOLEDO et al. 2011, TOLEDO; HADDAD 2009). Conforme observado por Sweckard em 2021, 33% das espécies que registraram ocorrência de imobilidade tônica pertenciam a família Hylidae, à qual pertence a *Ololygon alcatraz*.

A imobilidade é um comportamento defensivo passivo, que tem por objetivo evitar a detecção do predador (LOURENÇO-DE-MORAES 2016), sendo que já foi demonstrado ser sucesso em espécies de anuros e salamandras contra diversos tipos de predadores, principalmente aves e serpentes, conforme registros realizados por Brodie (1977), Marchisin e Anderson (1978) e Toledo (2011). Mesmo após a detecção por predadores, permanecer imóvel pode ajudar a reduzir a intensidade do ataque do predador do que realizar uma tentativa de fuga (BRODIE 1977, TOLEDO 2011).

Principalmente para presas de espécies que caçam por movimento, a mobilidade aumenta notadamente a possibilidade de detecção por predadores (BRODIE 1977, MARCHISIN; ANDERSON 1978), além de representar um alto gasto de energia (WELLS 2007), o que faz com que cada comportamento e reação à ameaça de predação deva ser cuidadosamente calculada (MARCHISIN; ANDERSON 1978).

Considerando a história natural dos potenciais predadores de *Ololygon alcatraz*, que possuem enfoque em presas ativas (MARQUES et al. 2002, MENIN 2005), a imobilidade pode ser esperada como principal comportamento defensivo de *O. alcatraz*.

Jararacas, conforme descrito por HARTMANN (2003), em geral adotam uma estratégia de caça de espreita, principalmente quando jovens, focando em presas ativas, sendo documentada a preferência de *B. alcatraz* por centípedes e anfíbios (MARQUES et al. 2002, CICCHI et al. 2007). Aranhas, como destacado por MENIN (2005), têm comportamentos predominantemente predatórios, mantendo-se imóveis por longos períodos enquanto aguardam suas presas. A ecologia alimentar de ambos os grupos sustenta a preferência de *O. alcatraz* em manter a imobilidade o máximo possível até que seja necessário se movimentar (MARQUES et al. 2002, CICCHI et al. 2007, MENIN 2005).

Apesar destas observações, ainda existem lacunas de conhecimento, como evidenciado pelo fato de muitos relatos de predação de anfíbios por aranhas não capturarem o momento exato da interação (BARBO 2021). Até o presente momento, o único outro registro de predação de anfíbios em Alcatrazes fora o de Brasileiro (2008), é o de Barbo (2021), onde observou predação de *C. faustoi* por *Ctneus medius*, também conhecida por ser uma forrageadora ativa com hábitos noturnos, porém também é um registro que não capturou o exato momento da interação – o encontro ocorreu pós-predação.

Não obstante, Lourenço-de-Moraes (2016) levantou a hipótese de que quando testados sob condições *ex situ*, a imobilidade estava diretamente relacionada à menor intensidade do estímulo realizado e conseqüentemente menor estresse causado ao animal. Embasando essa hipótese, Gomes (2002) observou que as respostas ativas antipredatórias foram mais frequentes após a aplicação de um segundo estímulo (toque) em sapos testados. Esse achado sugere que as respostas antipredatórias passivas podem ser mais eficazes quando os sapos primeiro percebem a abordagem de um predador, enquanto as respostas ativas podem ser mais eficazes quando a perturbação persiste.

Ainda sobre a relação direta entre a intensidade do estímulo à intensidade da resposta, Relyea (2001) explorou a relação entre a magnitude do estímulo e a subsequente resposta comportamental, citando que uma atividade reduzida poderia mitigar o risco de predação. Tal afirmação é suportada por estudos de Gascon (1989), Lawler (1989), Skelly (1994), e Anholt et al. (1996), os quais evidenciam que as presas tendem a responder mais intensamente a predadores que representam um risco elevado de predação.

De modo comparativo aos estímulos realizados no presente trabalho – aproximação do sapo sem tocá-lo; mover tarântula de plástico na direção do sapo sem tocá-lo; mover serpente

na direção do sapo sem tocá-lo – foram estímulos realizados por Lourenço-de-Moraes (2016), considerados de baixo grau estressor e que ocasionaram apenas uma resposta defensiva passiva. Os resultados do trabalho são compatíveis ao nível estressor ocasionado ao espécimes testados, e uma oportunidade de estudo futura, seria realizar estímulos mais incisivos como realizado por Lourenço-de-Moraes (2016), de modo a aumentar o nível de estresse e avaliar se isso geraria um comportamento antipredatório ativo dos indivíduos de ambos os grupos.

O fato de o grupo *ex situ* ter se movimentado mais rapidamente aos tratamentos pode significar que estes mantêm o seu comportamento defensivo inato caracterizado pela fuga, e que estes são mais sensíveis à estímulos externos, podendo ser causado pelas condições *ex situ*, porém o fato de não haver diferença significativa entre os lados escolhidos, pode evidenciar que não há um reconhecimento dos predadores a que foram expostos.

Já a imobilidade apresentada principalmente na *Ololygon alcatraz* de vida livre, pode ser devido à algum estresse residual da captura ou o baixo nível estressor, optando pelo não gasto de energia representado por um baixo risco de predação.

Sendo a imobilidade uma estratégia primária de defesa em *Ololygon alcatraz*, pode significar que a fuga é uma estratégia secundária, acionada apenas com a maior aproximação do predador ou intensidade da investida. Caso essa hipótese esteja correta, o comportamento defensivo se mantém na população *ex situ* e a fuga pode não ter sido detectada com tanta frequência nos indivíduos de vida livre devido ao estresse da captura recente – demonstrando que o tempo utilizado para a quarentena não foi suficiente. Bem como, em relação à imobilidade, que pode não ter sido detectada tão frequentemente no grupo *ex situ* tanto devido à baixa periculosidade de predação (LOURENÇO-DE-MORAES et al.2016), como por adaptação ao cativeiro (KRAAIJEVELD-SMIT 2006).

Também é contundente considerar a influência que a variação de umidade/temperatura com que foram realizados os experimentos; principalmente a umidade, possa ter afetado nos resultados, sabendo-se que os anfíbios possuem influência da umidade em seu padrão de atividade (SILVA-E-SOUZA 2011). Os experimentos com os animais de vida livre ocorreram com uma variação de temperatura de 23,5-24,4 °C e umidade relativa do ar entre 40-41 % e os testes com os indivíduos *ex situ* ocorreram com variação de temperatura de 19,5-25 °C e umidade de 60-89%. Apesar de ser de conhecimento comum que a umidade influencia os padrões de atividade de anfíbios, sendo que em condições de alta umidade é observada maior

atividade (SILVA-E-SOUZA 2011), até o momento não foram encontrados estudos específicos que testam alterações no comportamento antipredatório de anfíbios com base em variações de umidade. Paralelamente, há experimentos que comprovam que altas temperaturas contribuem para maior atividade e expressões de comportamentos defensivos em anfíbios (GOMES et al. 2002), e no presente estudo, este parâmetro não apresentou variação significativa. Ainda, pode haver outras condições específicas dos experimentos que não foram consideradas no presente momento que também podem ter influenciado nos resultados.

A plasticidade fenotípica, conforme discutido por Relyea (2002), é a capacidade dos organismos de alterar seu comportamento, morfologia, fisiologia ou história de vida em resposta a mudanças ambientais. A crescente literatura sobre o assunto destaca que, embora nem todas as mudanças sejam necessariamente adaptativas, muitas respostas ambientalmente induzidas tendem a favorecer a adaptação. Esse conceito é reforçado pela hipótese da plasticidade adaptativa proposta por Dudley & Schmitt (1996). Um exemplo notável dessa plasticidade é observado na resposta dos animais aos predadores. Quando confrontados com ameaças, muitos organismos modificam seu comportamento, optando por evitar áreas de alto risco ou reduzindo suas atividades (RELYEA 2002, RELYEA 2004). Face a estes dados, as diferenças de comportamento observadas entre os animais de vida livre e sob cuidados humanos podem se dar devido à diferenças de manejo de ambos os grupos, sendo que o comportamento apresentado pelos indivíduos de cativeiro pode ser apenas momentâneo em decorrência das características de seu ambiente, e não afetando em nada uma possível reintrodução (LISBOA 2017).

No contexto de reintrodução da espécie, seria importante entender se realmente as diferenças observadas entre os grupos possuem influência de experiências passadas por ambos os grupos, tanto o grupo de vida livre por estresse residual de captura, tanto o grupo *ex situ* por realmente ter uma possível adaptação ao cativeiro. Uma avaliação aprofundada dessas observações se faz necessária, e em caso de comprovação que o plantel mantido sobre condições *ex situ* está de fato adaptado ao cativeiro, torna imperativo a realização de ações para garantir a reintrodução da espécie.

Seguindo essa linha de raciocínio, Mathis & Vicent 2000, Gallie et al. 2001 e Griffiths 2008 discorrem sobre anfíbios absorverem informações do ambiente quando no ovo, e já nascendo, portanto, com comportamento antipredatório inato. Em estudos realizados com anfíbios em estágio larval, que eclodiram de um ovo que esteve em contato com a pista química

do predador da espécie, e conseguiram reconhecer este predador tanto quimicamente quanto visualmente (GALLIE 2001, MATHIS; VINCENT 2000). A possibilidade de uma reintrodução direto no ovo, traz ganhos ao programa de conservação da espécie, não havendo demanda de tempo e gastos para manter o indivíduo em cativeiro até atingir o estágio pós-metamórfico, além da garantia que os padrões comportamentais naturais da espécie fossem mantidos (MATHIS; VICENT 2000, GALLIE et al. 2001 E GRIFFITHS 2008).

Outra possível ação que pode ser eficaz para a reintrodução de *Oloolygon alcatraz* seria o condicionamento pré-reintrodução, seja *in situ* ou *ex situ*, como exemplos explanados por SEDDON (2007) com espécies de *Corvus* sp., *Grus* sp., *Mustela nigripes*, *Chlamydotis* sp. ou WHITE (2005) com *Amazona vittata*, que obtiveram sucesso de reintrodução com diferentes técnicas de condicionamento, seja exposição direta aos predadores, exposição aos estímulos químicos e/ou visuais, em cativeiro ou direto no local de reintrodução. Também pode ser estudada a reintrodução controlada, onde o indivíduo é reinserido em vida livre em um ambiente controlado com pouco ou nenhum predador, por meio de um tipo de cercamento/isolamento, e aos poucos a área de vida vai sendo aumentada bem como o número de predadores, oferecendo um ambiente mais controlado para que os indivíduos possam ir perdendo a ingenuidade perante ao site de reintrodução e aos predadores (SYNDER 1996, BANKS 2005). Tal método já obteve sucesso em alguns programas de reintrodução de *Microtus rossiaemeridionalis*, como relatado por BANKS em 2000.

Estudos genéticos, como o de Bell (2012), evidenciaram que *O. alcatraz* apresenta uma divergência genética significativa em relação a outras espécies do grupo *perpusillus*, portanto seria interessante, aprofundar os estudos genéticos e etológicos com a espécie, de modo a avaliar possíveis diferenças entre outras espécies do grupo, além de também estudar o comportamento defensivo dos outros anuros da ilha, haja vista que possuam os mesmos predadores da espécie, e seria interessante avaliar se e como diferentes estratégias defensivas evoluíram ao longo do tempo (FERREIRA et al. 2019).

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- a) Comportamento Defensivo: A imobilidade, foi uma resposta comum em ambas as condições (vida livre e *ex situ*), sugerindo que essa estratégia pode ser o comportamento defensivo primário de *Ololygon alcatraz*. Os experimentos mostraram que os indivíduos mantidos sob cuidados humanos tendem a responder mais prontamente aos estímulos do que os indivíduos de vida livre, embora não seja claro se é uma resposta direta à presença do predador ou não, evidenciado pela falta de preferência por nenhum dos lados.
- b) Limitações do estudo: Possíveis explicações para essa resposta pode ser influência de diversas variáveis, como as condições específicas dos experimentos, a familiaridade dos animais *ex situ* com ambientes controlados. Portanto é necessário considerar que as experiências pretéritas do indivíduos e variação de fatores ambientais na realização dos experimentos podem haver influenciado os resultados obtidos.
- c) Relevância do estudo e Contribuições teóricas: Aumentar conhecimento de história natural de *O. alcatraz*; e fornecer informações para auxiliar na avaliação de aptidão em cativeiro e para reintrodução. O estudo fornece subsídios para pesquisas posteriores com *O. alcatraz* e contribuições para planos de reintrodução e condicionamento;
- d) Sugestões para reintrodução: Reintrodução direto no ovo ou em fase larval; Reintrodução em ambiente controlado; Condicionamento pré-reintrodução, *ex situ e in situ*.
- e) Possibilidade de Estudos Futuros: Realizar novos testes aumentando o nível estressor dos estímulos, buscando uma resposta antipredatória ativa dos indivíduos; testar indivíduos com exposição pretérita aos estímulos (no ovo e fase larval) para avaliar se há diferenças comportamentais; e testes *in situ*, de modo a avaliar o comportamento mais próximo do natural.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANHOLT B. R., SKELLY D. K., WERNER E. E. Factors Modifying Antipredator Behavior in Larval Toads. *Herpetologica*, v. 52(3):301-313, 1996.
- BANKS P.B., NORRDAHL K., KORPIMÄKI E. Mobility decisions and the predation risks of reintroduction. *Bio Conserv.*, v. 103:133-138, 2006.
- BARBO F.E. Predation of the critically endangered island-dwelling species *Cycloramphus faustoi* (Anura: Cycloramphidae) by the ctenid spider *Ctenus medius* (Araneae: Ctenidae) in Ilha dos Alcatrazes, southeastern Brazil. *Herpetology Notes*, v. 14:1375-1377, 2021.
- BATAUS, Y. S. L.; REIS, M. L. (organizadores). Plano de Ação Nacional para a Conservação da Herpetofauna Insular Ameaçada de Extinção. Série Espécies Ameaçadas n. 21, Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, 2011.
- BELL R.C., BRASILEIRO, C.A., HADDAD C.F.B., ZAMUDIO Z.R. Evolutionary history of *Scinax* treefrogs on land-bridge islands in south-eastern Brazil. *J. Biogeography.*, 39(9):1733-174, 2012.
- BRADSHAW C.J.A., EHRLICH P.R., BEATTIE A., CEBALLOS G., CRIST E. et al. Underestimating the Challenges of Avoiding a Ghastly Future. *Frontiers in Conservation Science*. v.1, a. 615419. 2021.
- BRASIL. Decreto Legislativo n.º 2 de 1994. Aprova o texto do Convenção sobre Diversidade Biológica, assinada durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, realizada na Cidade do Rio de Janeiro, no período de 5 a 14 de junho de 1992. *Diário Oficial da União*, Brasília, n.25, 4 fev. 1994, Seção 1.
- BRASIL. Decreto s/n, de 2 de agosto de 2016. Estabelece a criação do Refúgio de Vida Silvestre do Arquipélago de Alcatrazes, no litoral norte do Estado de São Paulo, Município de São Sebastião. *Diário Oficial da União*, Brasília, n.148, 3 ago. 2016, Seção 1, ISSN 1677-7042.
- BRASIL. Portaria MMA n.º 148, de 7 de junho de 2022. Altera os Anexos da Portaria n.º 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria n.º 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria n.º 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção. Ministério do Meio Ambiente. *Diário Oficial da União*, Brasília, Ed. 108, 8 ago. 2022, Seção 1, pg. 74.
- BRASILEIRO, C. A.; OYAMAGUCHI, H. M.; THOME, M. T. C. Distribuição, história natural e conservação de *Scinax alcatraz* (Anura:Hylidae) na Ilha dos Alcatrazes, SP. In: Congresso Brasileiro de Herpetologia, Belo Horizonte. *Anais do 2 Congresso Brasileiro de Herpetologia*, 2005.
- BRASILEIRO, C. A.; OYAMAGUCHI, H. M. Registro de predação de *Scinax alcatraz*. *Herpetological Review*, 2006, *Natural History Notes*, Belo Horizonte. 37(4), 2006.

- BRAVERMAN, I. Conservation without nature: the trouble with in situ versus ex situ conservation. *Geoforum*, 51:47-57, 2014.
- BRIGGS J.C. Emergence of a sixth mass extinction? *Biological Journal of the Linnean Society*, 122:243-248, 2017.
- BRODIE E.D. Salamander antipredator postures. *American Society of Ichthyologists and Hepertologists*, 3:523-535, 1977.
- BURGHARDT G.M. Comparative prey-attack studies in newborn snakes of the genus *Thamnophis*. University of Chicago, Chicago, Illinois, USA. 1969
- BUTCHART S.H.M.; STATTERSFIELD A.J.; COLLAR N.J. How many bird extinctions have we prevented? *Oryx*, 40(3):266-278, 2006.
- CICCHI P.J.P., SENA M.A., PECCININI-SEALE D.M., DUARTE M.R. Snakes from coastal islands of State of São Paulo, Southeastern Brazil. *Biota Neotrop.*, 7(2), 2002.
- CONDE D.A.; FLESNESS N.; COLCHERO F.; JONES O.R.; SCHEUERLEIN J.A. An emerging role of zoos to conserve biodiversity. *Science*, 331:1390-1391, 2011.
- CONWAY W.G. Buying time for wild animals with zoos. *Zoo Biology*, 30:1-8, 2011.
- COWIE R.H., BPUCHET P. FONTAINE B. The Sixth Mass Extinction: fact, fiction or speculation? *Biol. Rev.*, 97:640-663, 2022.
- DOLMAN P.M.; COLLAR N.J.; SCOTLAND K.M.; BURNSIDE R.J. Ark or park: the need to predict relative effectiveness of ex situ and in situ conservation before attempting captive breeding. *Journal of Applied Ecology*, 52:841-850, 2015.
- DUDLEY S.A.; SCHMITT J. Testing the adaptive plasticity hypothesis: density-dependent selection on manipulated stem length in *Impatiens capensis*. *American Naturalist*, 47:445-465, 1996.
- EDWARDS M.C.; FORD C.; HOY J.M.; FITZGIBBON S.; MURRAY P.J. How to train your wildlife: a review of predator avoidance training, *Applied Animal Behaviour Science* (2020). doi: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2020.105170>.
- FCCC – FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE. First global stocktake. Proposal by the President. Draft decision -/CMA.5.2023. Disponível em: <[https://unfccc.int/sites/default/files/resource/cma2023\\_L17\\_adv.pdf](https://unfccc.int/sites/default/files/resource/cma2023_L17_adv.pdf)>. Acesso em dez 2023.
- FERREIRA, R.B.; LOURENÇO-DE-MORAES, R.; ZOCCA, C.; DUCA, C.; BEARD, K.H.; BRODIE-JR, E.D. Antipredator mechanisms of post-metamorphic anurans: a global database and classification system. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 73:69, 2019.
- FISCHER J., LINDENMAYERD.B. An assessment of the published results of animal relocations. *Biological Conservation*, 96:1-11, 2000.

- FLOWERS M.A., GRAVES B.M. Juvenile toads avoid chemical cues from snakes predators. *Anim. Behav.*, 53:641-646, 1997.
- FRANKHAM R. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*, 17:325-333, 2008.
- GAGLIARDO R.; CRUMP P.; GRIFFITH E.; MENDELSON J.; ROSS H.; ZIPPEL K. The principles of rapid response for amphibian conservation, using the programmes in Panama as an example. *Int. Zoo Yb.*, 42:125-135, 2008.
- GALLIE J.A., MUMME R.L., WISSINGR S.A. Experience has no effect on the development of chemosensory recognition of predators by tadpoles of the american toad, *Bufo americanus*. *Herpetologica*, 57(3):376-383, 2001.
- GASGON C. Predator-prey size interaction in tropical ponds. *Revta bras. Zool.*, 6(4):701-706, 1989.
- GILBERT T.; GARDNER R.; KRAAIJEVELD A.R.; RIORDAN P. Contributions of zoos and aquariums to reintroductions: historical reintroduction efforts in the context of changing conservation perspectives. *Int. Zoo Yb.*, 51:1-7, 2017.
- GOMES F.R., BEVIER C.R., NAVAS C.A. Environmental and physiological factors influence antipredator behavior in *Scinax hiemalis* (Anura: Hylidae). *Copeia*, 4:994-1005, 2002.
- GRIFFITHS, R. A.; PAVAJEAU, L. Captive Breeding, Reintroduction and the Conservation of Amphibians. *Conservation Biology*, 22(4):852–861, 2008.
- HADDAD 2018
- HADDAD C.F.B., PRADO C.P.A. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantica Forest of Brazil. *BioScience*, 55(3):207-217, 2005.
- HAMER R.; LEMCKERT F.L.; BANKS P.B. Adult frogs are sensitive to the predation risks of olfactory communication. *Biol. Lett.*, 2011. doi:10.1098/rsbl.2010.1127.
- HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4(1):9, 2001.
- HARDING G.; GRIFFITHS R.A.; PAVAJEAU L. Developments in amphibian captive breeding and reintroduction programs. *Conservation Biology*, 30(2):340-349, 2015.
- HARTMANN P.A., HARTAMNN M.T., GIASSON L.O.M. Uso do habitat e alimentação de juvenis de *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae) na Mata Atlântica do sudeste do Brasil. *Phyllomedusa*, 2(1):35-41, 2003.
- HAYES T.B.; FALSO P.; GALLIPEAU S.; STICE M. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. *The Journal of Experimental Biology*, 213:921-933, 2010.

- HEALY W.M., HEALY G.B(Eds.). Proceedings of the Sixth National Wild Turkey Symposium. National Wild Turkey Federation. U.S. Forest Service, 90-61366, 1990.
- HEWS D.K. Alarm response in larval western toads, *Bufo boreas*: release of larval chemicals by a natural predator and its effects on predator capture efficiency. *Anim. Behav.*, 36:125-133, 1988.
- HOFFMAN, M. et al. The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science*, 330:1503, 2010.
- ICMBIO INSTITUTO CHICO MENDES. Plano de Manejo da Estação Ecológica Tupinambás e Refúgio de Vida Silvestre do Arquipélago de Alcatrazes. Volume 1 - Diagnóstico. Brasília, março 2017.
- ICMBIO - INSTITUTO CHICO MENDES. 2018. Alcatrazes abre para mergulho e visita embarcada. Disponível em: <<https://www.icmbio.gov.br/portal/ultimas-noticias/20-geral/10138-alcatrazes-abre-para-mergulho-e-visita-embarcada>>. Acesso em jan 2021.
- ICMBIO – INSTITUTO CHICO MENDES. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume V - Anfíbios. 1. ed. Brasília, DF: ICMBio/IBAMA, 2018.
- IUCN - INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE. 2023. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2023-1. Disponível em: <<https://www.iucnredlist.org>> Acesso em dez 2023.
- JAEGER R.G.; GERGITS W.F. Intra- and interspecific communication in salamanders through chemical signals on the substrate. *Anim. Behav.*, 27: 150-156, 1979.
- KRAAIJEVELD-SMIT F.J.L.; GRIFFITHS R.A.; MOORE R.D.; BEEBEE T.J.C. Captive breeding and the fitness of reintroduced species: a test of the responses to predators in a threatened amphibian. *Journal of Applied Ecology*, 43:360–365, 2006.
- LAWLER S.P. Behavioral responses to predators and predation risk in four species of larval anurans. *Anim. Behav.*, 38:1039-1047, 1989.
- LISBOA C.S. Capacidade de locomoção de *Ololygon alcatraz* (Anura: Hylidae): subsídios para a conservação ex situ [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2017.
- LISBOA C.S.; VAZ R.I. Captive breeding and husbandry of *Scinax perpusillus* at São Paulo zoo: preliminary Action for ex situ conservation of *Scinax alcatraz* (Anura: Hylidae). *Herpetological Review*, 43(3):435-437, 2012.
- LISBOA C.S., VAZ R.I., BRASILEIRO C.A. Captive breeding program for *Scinax alcatraz* (Anura: Hylidae): introducing amphibian ex situ conservation in Brazil. *Amphibian & Reptile Conservation* 15(2)279–288, 2021.
- LISBOA C.S., VAZ R.I., MALAGOLI L.R., BARBO F.E., VENTURINI R.C., BRASILEIRO C.A. Herpetofauna From an Atlantic Forest fragment in São Paulo, Brazil. *Herpetological Conservation and Biology*, 16(2):346-451, 2021.

- LISBOA, C.S.; OSWALD, C.B., MACHADO, I.F.; SERRANO, J.A.; RAMALHO, Q.; VAZ, R.I.; CARRILLO, L. & ASSIS, C.L. (Orgs.). 2023. Plano Estratégico de Conservação de Anfíbios – *Nyctimantis pomba* (2023-2028). Grupo de Especialistas em anfíbios do Brasil, IUCN. ISBN 978-65-00-67853-6
- LOURENÇO-DE-MORAES R.; FERREIRA R.B.; MIRA-MENDES C.V.; ZOCCA C.Z.; MEDEIROS T.; RUAS D.S.; REBOUÇAS R.; TOLEDO L.F.; BRODIE-JR E.D.; SOLÉ M. Escalated antipredator mechanisms of two neotropical marsupial treefrogs. *Herpetological Journal*, 26:237-244, 2016.
- MARAGON G.M.C., GALVÃO A., GUIMARÃES T.C.S., MARINI M.M.G. Espécies exóticas invasoras nos planos de ação nacional para a conservação das espécies ameaçadas de extinção. Instituto Chico Mendes da Biodiversidade. *Biodiversidade Brasileira*, 13(4):1-14, 2023.
- MARCHISIN A., ANDERSON D. Strategies employed by frogs and toads (Amphibia, Anura) to avoid predation by snakes (Reptilia, Serpentes). *Journal of Herpetology*, 12(2):151-155, 1978.
- MARQUES O.A.V., MARTINS M., SAZIMA I. A new insular species of pitviper from Brazil, with comments on evolutionary biology and conservation of the *Bothrops jararaca* group (Serpentes, Viperidae). *Herpetologica*, 58(3):303-312, 2022.
- MATHIS A., VICENT F. Differential use of visual and chemical cues in predator recognition and threat-sensitive predator-avoidance responses by larval newts (*Notophthalmus viridescens*). *Can. J. Zool.* 78:1646-1652, 2000.
- MATHEWS F., ORROS M., MCLAREN G., GELLING M., FOSTER R. Keeping fit on the arkt: assessing the suitability of captive-bred animals for release. *Biological Conservation* 121: 569-577, 2005.
- MCFADDEN M., HARLOW P., HOBBS R. MARANTELLI G. Captive management and breeding of the Critically Endangered Southern Corroboree Frog (*Pseudophryne corroboree*) (Moore 1953) at Taronga and Melbourne Zoos. *Amphibian and Reptile Conservation* 5(3):70-87, 2013.
- MENIN M., RODRIGUES D.J., AZEVEDO C.S. Predation on amphibians by spiders (Arachnida, Araneae) in the Neotropical region. *Phyllomedusa*, 4(1):39-47, 2005.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Portaria MMA n.º 148, de 7 de junho de 2022. Altera os Anexos da Portaria n.º 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria n.º 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria n.º 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção.
- MOROTI M. et al. Interaction between ostracods and anurans: a review and new records in Brazil. *Phyllomedusa*, 18(2): 269-275, 2019.

- MURPHY J.B.; GRATWICKE B. History of captive management and conservation amphibian programs mostly in zoos and aquariums. Part I – Anurans. *Herpetological Review*, 48(1):241-260, 2017.
- NAVAS C.A.; GOMES F.R. Time in captivity as a confounding variable in herpetological research: an example from the metabolic physiology of frogs. *Herpetol. Rev.*, 32:228–230, 2001.
- PASSOS L.F., GARCIA G. YOUNG R.J. Neglecting the call of the wild: Captive frogs like the sound of their own voice. *PLoS ONE*, 12(7), 2017.
- PAVAJEAU L., ZIPPEL K.C., GIBSON R., JOHNSON K. Amphibian Ark and the 2008 Year of the Frog Campaign. *Int. Zoo Yb*, 42:24-29, 2008.
- PESSIER A.P.; BAITCHMAN E.J.; CRUMP. P; WILSON B.; GRIFFITH E.; ROSS H. Causes of mortality in anuran amphibians from an ex situ survival assurance colony in Panama. *Zoo Biology*, 9999:1-11, 2014.
- PETREL W., FERREIRA R.B. Comparison of diet and use of bromeliads between a bromelicoloua and a bromeligenous anuran at an inselberg in the southeastern of Brazil. *Caldasia* 32(1):149-159, 2010.
- RELYEA R.A. The relationship between predation risk and antipredator responses in larval anurans. *Ecology*, 82(2):541-554, 2001.
- RELYEA R.A. Competitor-induced plasticity in tadpoles: consequences, cues, and connections to predator-induced plasticity. *Ecological Monographs*, 72(4):523-540, 2002.
- ROWELL T.A.A.D; MAGRATH M.J.L.; MAGRATH R.D. Predator-awareness training in terrestrial vertebrates: Progress, problems and possibilities. *Biological Conservation*, 252:108740, 2020.
- SABAGH L.T., PICCOLI G.C.O., VIANA L.A., ROCHA C.F.D. Predation and parasitism on bromeligenous Snouted Treefrogs (*Oloolygon* spp.) *Herpetology Notes*, 13:271-279, 2020.
- SANTOS T; PÉREZ-TRIS J.; CARBONELL R.; TELLERÍA J.L.; DÍAZ J.A. Monitoring the performance of wild-born and introduced lizards in a fragmented landscape: Implications for ex situ conservation programs. *Biological Conservation*, 142:2923-2930, 2009.
- SÃO PAULO. Decreto Estadual n.º 63.853, de 27 de novembro de 2018. Declara as espécies da fauna silvestre no Estado de São Paulo regionalmente extintas, as ameaçadas de extinção, as quase ameaçadas e as com dados insuficientes para avaliação, e dá providências correlatas. *Diário Oficial – Executivo*, v.128 n.221, p.1.
- SAURA M.; PÉREZ-FIGUEROA A.; FERNÁNDEZ J.; TORO M.A.; CABALLERO A. Preserving population allele frequencies in ex-situ conservation programs. *Conservation Biology*, 22(5):1277-1287, 2008.

- SEDDON P.J., ARMSTRONG D.P., MALONEY R.E. Developing the science of reintroduction Biology. *Conservation Biology*, 21(3):303-312, 2017.
- SILVA E SOUZA, V.C., WOGELH., ABRUNHOSA P.A. Influência de fatores ambientais e sociais sobre a atividade de vocalização de *Hylodes nasus* Lichtenstein (1823) (Amphibia, Anura) em um riacho na Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Biol. Neotrop.*, 16(1):09-18, 2019.
- SKELLY D.K. Activity level and the susceptibility of the anuran larvae to predation. *Anim. Behav.*, 47:465-468, 1994.
- SNYDER N.F.R., DERRICKSON S.R., BEISSINGER S.R., WILEY J.W. et al. Limitations of Captive Breeding in Endangered Species Recovery. *Conservation Biology*, 10(2):338-348, 1996.
- SNYDER N.F., KOENIG S.E., KOSCHMANN J., SYNDER H.A., JOHSON T.B. Thick-billed parrot releases in Arizona. *The Condor*, 96:845-862, 1994.
- STERRET S.C.; KATZC R.A.; BRAND A.B.; FIELD W.R.; DIETRICH A.E., HOCKING D.J.; FOREMAN T.M.; WIEWEL A.N.M.; GRANT E.H.C. Proactive management of amphibians: Challenges and opportunities. *Biological Conservation*, 236:404-410, 2019.
- STOCKWEEL C.A., S.C. WEEKS. Translocations and rapid evolutionary response in recently established populations of western mosquitofish (*Gambusia affinis*). *Animal Conservation*, 2:103-110, 1999.
- SWECARKD L. J. Tonic Immobility in Amphibians: A Literature Overview. Honors Capstones., 1330, 2021.
- TOLEDO L.F., HADDAD C.F.B. Colors and some morphological traits as defensive mechanisms in anurans. *International Journal of Zoology* (910892):1–12, 2009.
- TOLEDO L.F., SAZIMA I., HADDAD C.F.B. Is it all death feigning? Case in anurans. In: *Journal of Natural History*, 44(31):1979-1988, 2010.
- TOLEDO L.F., SAZIMA I., HADDAD C.F.B. Behavioural defences of anurans: an overview. In: *Ethology Ecology & Evolution*, 23(1):1-2, 2011.
- VAZ R.I. Efeitos de ambientes artificiais no perfil da comunidade microbiana cutânea de *Scinax alcatraz* (Anura:Hylidae) [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2016.
- WAKE D.B., VREDENBURG V.T. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *PNA*, 105(1):11466-11473, 2008.
- WALDMAN B., BISHOP P.J. Chemical communication in an archaic anuran amphibian. *Behavioral Ecology*, 15(1):89-95, 2004.
- WALLS S.C.; GABOR C.R. Integrating behavior and physiology into strategies for amphibian conservation, *Conservation Front. Ecol. Evol.*, 7:234, 2019.

- WELLS K.D. The ecology and behaviour of amphibians. Chicago, The University of Chicago Press, 2007.
- WHITE T.H.; COLLAZO J. A.; VILELLA F.J. Survival of captive-reared Puerto Rican parrots released in the Caribbean National Forest. *The Condor*, 107:424-432, 2005.
- WILLIAMS S.E.; HOFFMAN E.A. Minimizing genetic adaptation in captive breeding programs: A review. *Biological Conservation*, 142:2388-2400, 2009.
- WREN S., BORZÉE A., MARCEC-GREAVES R., ANGULO A. (Eds.). The Amphibian Conservation Action Plan (ACAP): A status review and roadmap for global amphibian conservation. IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2015.
- ZEGEYE H. In situ and ex situ conservation: Complementary approaches for maintaining biodiversity. *IJRES*, 4:1-12, 2017.
- ZIPPEL K., JOHSON K., GAGLIARDO R., GIBSON R., MCFADDEN M., BROWNE R., MARTINEZ C., TOWNSEND E. The Amphibian Ark: a global community for Ex Situ conservation of amphibians. *Herpetological Conservation and Biology* 6(3):340-352, 2011.

## APÊNDICE A

**Tabela com as frequências absoluta e relativa das escolhas realizadas pelos grupos de cativoiro e vida livre de *Ololygon alcatraz*, para cada tratamento realizado.**

Vida Livre

		Controle		Predador		Não Escolheu		Total
Tratamento		FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)	(n)
Aranha	químico-visual	4	26,70	1	6,70	10	66,70	15
	visual	2	13,30	1	6,70	12	80,00	15
	químico	0	0,00	3	20,00	12	80,00	15
Serpente	químico-visual	3	20,00	6	40,00	6	40,00	15
	visual	4	26,70	2	13,30	9	60,00	15
	químico	2	13,30	2	13,30	11	73,30	15
Resposta forçada		4	26,67	5	33,33	6	40,00	15

Cativeiro

		Controle		Predador		Não Escolheu		Total
Tratamento		FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)	(n)
Aranha	químico-visual	9	36,00	8	32,00	8	32,00	25
	visual	6	24,00	12	48,00	7	28,00	25
	químico	15	60,00	6	24,00	4	16,00	25
Serpente	químico-visual	9	37,50	10	41,67	5	20,83	24
	visual	7	29,17	16	66,67	1	4,17	24
	químico	13	54,17	10	41,67	1	4,17	24
Resposta forçada		8	32,00	7	28,00	10	40,00	25