

Ecología trófica de anfibios juveniles (Amphibia: Anura) y
análisis de la incidencia de las hormigas (Hymenoptera:
Formicidae) como presa potencial

Tesina de grado de la Licenciatura en Ciencias
Biológicas

Lucía Moreira Demarco



TUTOR

Dr. Raúl Maneyro

Laboratorio De Sistemática e Historia Natural De Vertebrados

CO-TUTORA

Dra. Paloma Álvarez Blanco

Estación Biológica de Doñana, España

TRIBUNAL

MSc. Alvaro Laborda

Dr. Gabriel Francescoli

*Laboratorio De Sistemática e Historia Natural De Vertebrados – Facultad de Ciencias –
Universidad de la República*

2020

Contenidos

AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	4
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	5
Objetivos.....	7
CAPÍTULO 1 – DIETA.....	9
Materiales y métodos.....	10
Resultados.....	12
Discusión.....	18
CAPÍTULO 2 – APETENCIA.....	24
Materiales y métodos.....	25
Resultados.....	29
Discusión.....	32
DISCUSIÓN GENERAL.....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	42
APÉNDICE I.....	53
APÉNDICE II.....	55

Agradecimientos

A mis tutores, Dr. Raúl Maneyro y Dra. Paloma Álvarez Blanco, por su orientación, enseñanzas, y paciencia. A Juan Llopart por su colaboración y por todas las horas compartidas durante los experimentos, expediciones y "pesca" de termitas. A los gurises del laboratorio por sus sugerencias y orientaciones dentro del "labo". Al Dr. Martín Bollazzi y al Dr. Francisco J. Sola por su ayuda en la identificación de las especies de hormigas. Al Dr. Miguel Simó y MSc. Carolina Rojas por lo aprendido en el transcurso del PAIE 2018, que me ayudo enormemente en la identificación de artrópodos. A la Dra. Elena Angulo por sus comentarios durante el transcurso del trabajo. A los miembros del tribunal, Dr. Gabriel Francescoli y MSc. Alvaro Laborda, por su disposición y valiosos aportes. A mis padres y familia por todo su apoyo, a mis amigos de la vida y de la carrera por siempre darme para adelante, en especial Caro y Fío. Andrés por su compañía y apoyo.

RESUMEN

Para comprender la ecología trófica de una especie, además del conocimiento de los patrones en la dieta, resulta necesario el estudio de los procesos causantes de esos patrones. Sin embargo, los trabajos que incluyen estos aspectos de forma integrada, sobre todo en anfibios juveniles, son escasos. En el presente trabajo, se evaluó la ecología trófica de individuos juveniles pertenecientes a dos especies de anuros, *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*, con especial enfoque de la incidencia de los formícidos como presa en la dieta. Se integró la descripción de los patrones en la dieta con la evaluación de la interacción directa entre los juveniles y las hormigas. Para describir la dieta, se analizó el contenido digestivo de individuos capturados en la naturaleza, donde se estimó la representatividad de cada ítem taxonómico encontrado, y en particular de los géneros de hormigas. A su vez, se evaluó la relación entre las variables morfológicas de los individuos y diversas variables de las presas. Adicionalmente, de una porción de la muestra se describió la selectividad de presas respecto a las disponibles en el ambiente. Para evaluar la interacción depredador-presa, se llevaron a cabo experimentos de apetencia con individuos criados en cautiverio, en los que se les presentaron hormigas de las especies *Linepithema humile*, *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.*. Se analizó la preferencia por los distintos tipos de hormiga en su primer encuentro, y se evaluó la relación entre el comportamiento defensivo de las hormigas y su posterior consumo. Los resultados de dieta indican que los juveniles de *O. americanus* presentan un hábito de forrajeo generalista, siendo Isopoda la unidad taxonómica más representativa, seguido de Coleoptera y Larvas; su consumo de hormigas puede deberse a su comportamiento oportunista. *Rhinella arenarum*, resultó en una posición intermedia dentro del espectro especialista-generalista, siendo principalmente hormigas y secundariamente ácaros las presas de preferencia; los géneros de hormiga más consumidos fueron *Solenopsis* y *Linepithema*. Se encontraron diferencias en la composición de la dieta entre ambas especies y en la diversidad de presas, *O. americanus* presentó una dieta más diversa, también resultaron de mayor tamaño, y consumieron un volumen y largo de presas superior. Hubo asociación positiva entre el tamaño del individuo y el volumen de presa consumido únicamente en *O. americanus*. De los resultados de la disponibilidad ambiental, *O. americanus* consumió de forma oportunista una hormiga del género *Acromyrmex*, *R. arenarum* prefirió presas pequeñas como ácaros y los géneros *Linepithema* y *Wasmannia*. Por otra parte, los resultados de apetencia mostraron preferencia de ambas especies por *Pheidole sp.* en primer lugar, seguido por *L. humile*, y muy baja por *Solenopsis sp.*; *R. arenarum* consumió mayor número y diversidad de hormigas que *O. americanus* evidenciando su hábito especialista. Los ataques de las hormigas hacia los anfibios incidieron negativamente en su posterior consumo. Se discute la influencia de las características especie-específicas de las hormigas que pueden incidir en los procesos de captura y, por tanto, en su consumo por parte del anfibio. Se destaca la posible influencia de la toxicidad de las hormigas polimórficas del género *Solenopsis* en el comportamiento de forrajeo de los anfibios. En este sentido, se pone de manifiesto la necesidad de evaluar la influencia de los diversos atributos de la presa en el comportamiento alimentario del depredador, así como la importancia de identificar a las presas a nivel especie, o morfoespecie debido a la gran diversidad interespecifica que pueden presentar algunos géneros de hormigas.

INTRODUCCIÓN GENERAL

El estudio de la ecología trófica de una especie permite entender tanto aspectos fisiológicos como comportamentales de la especie, así como su relación con otros organismos de la comunidad, contribuyendo al conocimiento de la estructura y funcionamiento de las redes tróficas. La descripción de estas redes es esencial para entender el funcionamiento ecosistémico, lo que permite predecir los impactos en la biodiversidad frente a perturbaciones tales como pérdida de hábitat o invasiones de especies exóticas (Ings *et al.* 2009). Para entender los mecanismos que determinan la estructura de las redes tróficas, es necesario el estudio a escala de interacciones entre individuos en base al tipo de alimentación que poseen (Ings *et al.* 2009).

Los anfibios cumplen un rol fundamental en el flujo de nutrientes entre ecosistemas acuáticos y terrestres, ya sea como presa o como depredadores (Duellman & Trueb, 1994; Wells, 2010; Cortés-Gómez *et al.* 2015). Como depredadores cumplen el rol de regular las poblaciones de otros organismos, especialmente artrópodos (Cortés-Gómez *et al.* 2015). Partiendo de la clasificación de Jaksic (2001) de los depredadores como especialistas o generalistas, existe ambigüedad respecto a la posición de los anfibios dentro de estas categorías, según Toft (1985) se encuentran dentro del espectro especialista-generalista. Estos hábitos de alimentación se encuentran estrechamente asociados a las estrategias de captura y al tipo de presa. Por lo general, un anfibio con tendencia a una dieta especialista tiende a ser un buscador activo (“active foraging”), puede ir a la búsqueda de una presa que le rendirá energéticamente o bien, que le aportará precursores químicos para la defensa; el tipo de presa en muchos casos es poco activa o se encuentra en agregados, suele ser pequeña y muchas veces posee defensas químicas (ej. hormigas, termitas) (Toft, 1980; Huey & Pianka, 1981; Toft, 1981; Lima & Moreira, 1993). Por otro lado, un generalista tiende a ser un depredador sedentario (“sit-and-wait”), no emplea energía ni tiempo en la búsqueda y/o selección, sino que consume una amplia gama de presas, que generalmente son activas ya que el patrón de actividad de la presa propicia el comportamiento sedentario por parte del depredador (Toft 1981; Lima & Moreira, 1993).

Las hormigas, además de ser el grupo más diverso de artrópodos sociales (Del Toro *et al.* 2012), constituyen un gran porcentaje de la biomasa terrestre (Hölldobler & Wilson, 1990). Cumplen una gran variedad de funciones ecológicas, que van desde el movimiento de nutrientes en el suelo hasta el establecimiento de interacciones tanto con plantas (dispersión de semillas, polinización) como mutualismos con otros insectos, como es el caso de los Áfidos (orden: Hemiptera) o incluso con vertebrados (i.e. anfibios y aves) (Hölldobler & Wilson 1990; Ness *et al.* 2010). En cuanto a su rol en la ecología trófica, son predadores, también herbívoros, granívoros y hasta carroñeros (Hölldobler & Wilson 1990). A su vez, son presa de una importante variedad de depredadores especialistas (i.e. mamíferos, reptiles y anfibios) (Pough, 1983; McNab, 1984; Gasnier *et al.* 1994; Mebs *et al.* 2010). La mayoría de las especies tienen la particularidad de organizarse en colonias (Hölldobler & Wilson 1990; Lach *et al.* 2010), y poseen varias estrategias de defensa tanto individuales como grupales (Dornhaus & Powell, 2010); proveen a los anuros de diversos nutrientes, y en algunos casos alcaloides para la defensa (Daly *et al.* 1996; Vences *et al.* 1998; Saporito *et al.* 2004; Clark *et al.* 2005; Mebs *et al.* 2010).

La especialización en hormigas (mirmecofagia) se ha encontrado en varios linajes de anfibios, por ejemplo, *Elachistocleis ovalis* (Solé *et al.* 2002, Berazategui *et al.* 2007), *Melanophryniscus devincenzii* (Bortolini *et al.* 2013), *Melanophryniscus stelzneri* (Hantak *et al.* 2013), *Rhinella* gr. *granulosa* (da Rosa *et al.* 2006), o *Phyllodytes luteolus* (Solé & Loebmann, 2017). En algunas de estas especies la mirmecofagia podría estar asociada al secuestro de alcaloides para la defensa, pero poco se sabe de esta especialización en anfibios juveniles. Generalmente la dieta de los individuos juveniles difiere de la de los adultos, esto puede deberse tanto a sus limitaciones morfológicas como a sus requerimientos energéticos (Pough, 1983), así como a la diferencia en sus ritmos de actividad y estrategias de captura (Duellman & Trueb, 1994; Lima & Moreira, 1993).

La mirmecofagia en juveniles puede explicarse por limitaciones morfológicas relacionadas con el tamaño del individuo, Hirai (2002) teoriza que la selección de hormigas por parte de pequeños anfibios está dada por limitaciones en el aparato bucal. Si bien existen algunas excepciones (Lima & Moreira, 1993; Pueta & Perotti, 2013), por lo general pequeños individuos eligen presas pequeñas con menor valor energético, pero lo compensan consumiendo una mayor cantidad de presas (Hodgkison & Hero, 2003). De hecho, varios estudios de dieta de anfibios encontraron una relación positiva entre el tamaño de la presa y el tamaño del individuo (Lajmanovich, 1996; Giaretta *et al.* 1998; Hirai, 2002; Hodgkison & Hero, 2003; Maneyro *et al.* 2004; da Rosa *et al.* 2011; Bortolini *et al.* 2013). Puede ocurrir también que el factor condicionante no sea únicamente el tamaño del individuo, sino que con la ontogenia varíe tanto el hábito de forrajeo del individuo (Lima & Moreira, 1993) como su requerimiento energético (Duellman & Trueb, 1994).

Rhinella arenarum (Hensel, 1867) pertenece a la familia Bufonidae, es una especie de gran tamaño, puede vivir tanto en zonas costeras como en ambientes de pradera, así como en ambientes antropizados. Es una especie común de Sudamérica, se puede encontrar en Bolivia, en el área costera del sur de Brasil, al sur de la Provincia de Chubut en Argentina, al sur y sureste de Uruguay, y posiblemente se encuentre en Paraguay (Frost, 2020). No se encuentra amenazada y está catalogada por la UICN como preocupación menor (Kwet *et al.* 2004; Carreira y Maneyro 2015). En Uruguay se reproduce explosivamente entre agosto y marzo (Maneyro y Carreira, 2012). Se alimenta principalmente de artrópodos (Maneyro y Carreira, 2012), siendo las hormigas una parte muy importante de la dieta en adultos, por lo que se categoriza en un nivel intermedio dentro del espectro especialista-generalista (Quiroga *et al.* 2009; Cossovich *et al.* 2011). Con respecto a los juveniles, el conocimiento sobre su dieta es escaso. En un estudio de una población en Argentina, Quiroga *et al.* (2009) encontraron que tanto adultos como juveniles incluían a las hormigas como ítem fundamental en la dieta, argumentando que esta especie podría aprovechar la disponibilidad de estas presas en el ambiente.

Odontophrynus americanus (Duméril and Bibron, 1841) pertenece a la familia Odontophrynidae, es un anuro de tamaño mediano, de cabeza ancha y hocico redondeado, presenta hábitos fosoriales y cuenta con adaptaciones morfológicas para cavar como lo son las patas cortas, robustas y con tubérculo metatarsal externo. Habita praderas, bañados y zonas cercanas a la urbanización. En Uruguay exhiben una reproducción explosiva y se reproducen todo el año, menos en los meses más fríos (Maneyro y Carreira, 2012). Su distribución es amplia y se extiende desde Brasil hasta Bolivia, el sur de Paraguay, Argentina,

y en Uruguay ocupa todo el territorio (Maneyro y Carreira, 2012; Frost, 2020). No presenta amenazas, está catalogada por la UICN como preocupación menor (Aquino *et al.* 2010; Carreira y Maneyro 2015). La alimentación es variada, la oferta del ambiente tiene gran influencia en el tipo de ítem que predomina; por lo general las hormigas no forman parte importante de la dieta de los adultos (Achaval-Coppes, 2011; Cossovich *et al.* 2011; Maneyro y Carreira, 2012). En los juveniles, las hormigas no constituyen el ítem principal, pero su presencia es mayor que en la dieta de los adultos, la cual varía según la estación (Achaval-Coppes, 2011).

Los estudios de Quiroga *et al.* (2009) y Achaval-Coppes (2011) indican que tanto juveniles de *R. arenarum* como de *O. americanus* consumen hormigas, mostrando el primero un mayor grado de especialización. Cabe destacar que estos estudios no incluyen la disponibilidad de presas en el ambiente, información que ayudaría a confirmar si la especie presentó algún tipo de selectividad. Consecuentemente, la disponibilidad de presas puede influir en la estrategia de alimentación y la composición de la dieta, de la misma manera que lo pueden hacer factores externos como lo son las variaciones en el ambiente (estacionalidad, perturbaciones) y el riesgo de depredación, o bien factores propios del individuo tales como la fisiología, morfología o la eficiencia de captura (Huey & Pianka, 1981; Sih, 1993; Duellman & Trueb, 1994). También el tipo de presa juega un rol importante en la ecología trófica de la especie.

Se destaca la doble importancia de estudios de ecología de anfibios juveniles: en primer lugar por ser los anfibios uno de los grupos de vertebrados más amenazados y vulnerables a nivel mundial con poblaciones en declive (Young *et al.* 2001; Stuart *et al.* 2004; Foden *et al.* 2013), y segundo lugar, por encontrarse en una etapa frágil de su ciclo de vida. Como adaptación a la vida terrestre, los juveniles se dedican a dispersarse y a crecer para llegar a tamaño adulto (Werner, 1986; Wilbur, 1980), por lo que son especialmente vulnerables a ser depredados tanto por invertebrados como por varios grupos de vertebrados, incluso otros anfibios (Wells, 2010).

Hay pocos estudios realizados exclusivamente sobre ecología trófica de anfibios juveniles; se destacan los estudios de Pueta & Perotti (2013) con *Chacophrys pierottii*; Lajmanovich (1996) con *Leptodactylus ocellatus*; Flowers & Graves (1995) sobre selectividad y cambios dietarios de bufónidos; y Bull & Hayes (2009) con *Anaxyrus boreas*. Sin embargo, queda mucho por explorar, sobre todo la relación de los juveniles con un grupo particular como son las hormigas.

OBJETIVOS

La presente tesina tiene como objetivo general estudiar la incidencia de las hormigas en la composición de la dieta de juveniles de dos especies de anfibios anuros con diferente grado de especialización: *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*.

Para ello se estructura la tesina en dos capítulos: el primero con un estudio general de dieta para un grupo de individuos de estas dos especies, y respecto a su consumo de hormigas. El segundo capítulo aborda la interacción directa entre formícidos y otro grupo de individuos de estas especies a través de un enfoque experimental. Ambos capítulos se complementan ya que se obtiene diferente información para entender la ecología trófica de la especie: por un

lado, el estudio de dieta describe lo que sucedió en la naturaleza en un momento dado, pero la asociación de patrones en la dieta puede estar sujeta a varias interpretaciones, ya que depende de la escala temporal y espacial de la muestra (Underwood *et al.* 2004); por otro lado, el experimental permite observar los procesos ocurrientes en el momento de la interacción del depredador con la presa, en condiciones controladas de laboratorio y llevándolo a la escala de individuos.

Con esta base se establecen los siguientes objetivos específicos:

(Capítulo 1). Estudiar la composición de la dieta de juveniles de *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*, con especial foco en el consumo de hormigas.

(Capítulo 2). Evaluar la relación depredador - presa con ejemplares juveniles de dos especies de anfibios (*Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*) y tres especies de hormigas (*Linepithema humile*, *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.*).

CAPÍTULO 1 – DIETA

INTRODUCCIÓN

Los estudios de dieta de una especie permiten obtener una aproximación a su ecología trófica, de esta forma se puede conocer uno de los aspectos centrales de su historia de vida. A su vez, si los estudios incluyen la disponibilidad de presas en el ambiente se complementa la información, ya que ayuda a interpretar la composición de la dieta (Hirai & Matsui 1999, Maneyro & da Rosa 2004). En cuanto a la interpretación de la dieta de los anfibios, la importancia de los diversos factores que inciden en su composición resulta de difícil determinación, ya que se encuentran relacionados de una forma compleja (Parmelee, 1999). La relación es aún más compleja cuando se trata de la dieta de anfibios juveniles, que no necesariamente coincide con los adultos de la misma especie (Hirai, 2002; Maneyro *et al.* 2004; Bull & Hayes, 2009; da Rosa *et al.* 2011). En este sentido, los factores fisiológicos-comportamentales propios de los juveniles, tales como las necesidades energéticas relacionadas con el hábito de forrajeo y momento de actividad en el día (Pough, 1983), así como el rendimiento energético de la presa que consuman (Hirai & Matsui, 1999; da Rosa *et al.* 2011), juegan un rol importante, ya que es una etapa de rápido crecimiento (Pough, 1983; Donnelly, 1991) y dispersión (Lajmanovich, 1996). A esto se le adicionan las limitaciones del tamaño y ancho mandibular, la capacidad de visualización y captura de la presa (Donnelly, 1991; Simon & Toft, 1991). También influyen los factores ecológicos, que incluyen las fluctuaciones tanto espaciales como temporales de la presa, las interacciones con el entorno y la competencia (Peltzer *et al.* 2010; da Rosa *et al.* 2011), así como la exposición a la depredación y los mecanismos de defensa de la presa.

Existen publicaciones de dieta realizadas con las dos especies de anuros de estudio, Quiroga *et al.* (2009) con juveniles y adultos de *Rhinella arenarum* en Argentina, y en Uruguay se destaca el trabajo de Achaval-Coppes (2011) con juveniles y adultos de *Odontophrynus americanus*. Estos estudios indican que los juveniles poseen hábitos de forrajeo diferentes dentro del gradiente especialista-generalista, siendo *O. americanus* generalista y *R. arenarum* intermedio. Ambas especies integran a la presa de estudio (hormigas) en su dieta, pero *R. arenarum* lo hace en mayor proporción. De esta forma, se establecen los siguientes objetivos:

Objetivo general. Estudiar la composición de la dieta de juveniles de *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus* con especial foco en el consumo de hormigas

Objetivos específicos:

- Describir la dieta de las dos especies de anfibios, y en particular la importancia de las hormigas en las mismas
- Evaluar la relación entre variables morfométricas del depredador (ancho mandibular y tamaño) y variables de la presa (volumen, tamaño, riqueza)
- Comparar la dieta de los anfibios con la disponibilidad ambiental de presas, y en particular de hormigas
- Discutir el hábito de forrajeo (especialista-generalista) de cada especie de anfibio

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudió el contenido del tracto digestivo completo (Schoener, 1989), de anfibios juveniles provenientes de muestreos de trampas de caída (pitfall) y especímenes depositados en la colección científica de la Facultad de Ciencias (ZVCB), Montevideo, Uruguay. A su vez, a través de las mismas trampas pitfall se estudió la disponibilidad ambiental de potenciales presas para comparar con la dieta de los anfibios capturados en dichas trampas.

Muestreo

Las trampas de caída fueron colocadas en noviembre de 2017 en la zona costera del departamento de Canelones, Uruguay, en los mismos sitios de emergencia de juveniles de las especies de interés (ver *Capítulo 2*). Se muestrearon dos localidades, Shangrilá (34°52'S, 56° 0'W) y El Pinar (34°48'S, 55°54'W). Ambas zonas se caracterizan por ser ambientes con dunas arenosas y se encuentran muy próximas a la urbanización. Se obtuvieron variables climáticas de la estación meteorológica más cercana (Carrasco). Durante el mes de muestreo la temperatura media fue de 18,3 °C y las precipitaciones medias fueron de 31,9 l/m² (Instituto Nacional de Estadística, 2018). En cada zona se colocaron diez trampas separadas por una distancia de diez metros entre sí. Las trampas consistieron en recipientes de plástico de 250 ml de capacidad y 7,5 cm de diámetro enterradas a ras del suelo y rellenas de agua con jabón. Se retiraron luego de tres días de colocadas, se filtró el contenido y se conservó en alcohol 70% para su posterior identificación. Los anfibios colectados fueron depositados en la colección científica de la Facultad de Ciencias (ZVCB).

Para el estudio de dieta se examinaron en total 25 ejemplares juveniles de cada especie. El número de individuos capturados en las trampas de caída (4 de *O. americanus* y 3 de *R. arenarum*) se completó con individuos depositados en la colección científica de la Facultad de Ciencias (21 y 22, respectivamente). Para confirmar que los individuos muestreados fueran juveniles se recurrió al examen gonadal. Con el objetivo de calcular la amplitud trófica de cada especie, los individuos de colecciones fueron tomados al azar incluyendo la mayor variedad posible de ambientes y estacionalidades (ver Tabla I.1. del Apéndice I).

Laboratorio

Se midió el largo hocico-cloaca (LHC) y el ancho mandibular de cada anfibio (con una precisión de 0.1 mm) usando la regla asociada al lente de una lupa estereoscópica. El tracto digestivo del anfibio se removió completo mediante disección y el contenido extraído se mantuvo en alcohol 70%. Posteriormente, se analizó el contenido de cada tracto digestivo en el laboratorio con ayuda de dicha lupa, con el objetivo de determinar taxonómicamente dichos contenidos y medir mediante la regla de la lupa las dimensiones de cada ítem encontrado (largo y ancho máximo, con una precisión de 0.01 mm), para posterior estimación del volumen. Los individuos sin contenido estomacal se excluyeron de los análisis.

La identificación taxonómica de invertebrados se realizó a nivel de Orden tanto para el estudio de los contenidos estomacales como de las pitfall, a excepción de Diplopoda y Chilopoda

(que fue a nivel de Clase). Por poseer morfología similar, todas las larvas se consideraron dentro de un mismo ítem taxonómico. Al constituir el objeto principal de estudio, las hormigas (Familia: Formicidae) se tomaron como un ítem separado de otros insectos del Orden Hymenoptera. Cuando el estado de preservación de las hormigas lo permitió, se identificaron a nivel de género para el análisis y, cuando fue posible, a nivel de especie a título informativo (Figura II.1 del Apéndice II).

En el análisis de las trampas de caída se incluyeron únicamente los ítems con un rango de tamaño similar al de los ítems encontrados en los estómagos de los anfibios estudiados (hasta 29.7 mm de largo y hasta 5.8 mm de ancho), a fin de incluir únicamente las presas potenciales de estos anfibios. En todos los casos se excluyeron de los análisis las partes de presa no identificadas.

Análisis de datos

Con el objetivo de evaluar la representatividad de cada ítem taxonómico en la dieta de *O. americanus* y *R. arenarum*, se determinaron varios parámetros. Por un lado, se calculó la abundancia de cada ítem para cada una de las dos especies de anfibios; en los casos donde se identificaron partes definidas de presa (ej.: cabeza, tórax, abdomen) dentro de una unidad taxonómica se contabilizó la abundancia de la parte con mayor número, asumiendo que se ingirió un individuo entero, y que el resto se separó o bien fue digerido. Se calculó a su vez, la frecuencia de ocurrencia (%FO) y se estimó el volumen total de presas por ítem y por especie de anfibio. Para esto se calculó el volumen de cada presa usando la fórmula del elipsoide ($V = 4/3 * \pi * (\text{largo} / 2) * (\text{ancho} / 2)^2$). En el caso de las hormigas fraccionadas en partes (cabeza, mesosoma, gáster), que por encontrarse en gran cantidad por estómago no fue posible reconstruirlas, para estimar el volumen real de cada una se definió un volumen único para cada unidad utilizando un valor promedio de todas las hormigas encontradas enteras, similar a realizado por Alvarez-Blanco *et al.* (2017); y para calcular el número de unidades presentes en cada estómago se contabilizó la abundancia de la parte con mayor número (cabeza, mesosoma o gáster). Se calculó a su vez para cada ítem la abundancia relativa (%Ab) y el porcentaje volumétrico (%V). Finalmente, se calculó el índice de importancia relativa (Pinkas *et al.* 1971) de cada ítem para cada especie de anfibio, que considera tres parámetros mencionados anteriormente: frecuencia de ocurrencia, abundancia relativa y volumen ($IRI = \%FO * (\%Ab + \%V)$). Con respecto a las hormigas en particular, se estudió tanto la proporción de volumen y de abundancia (%V y %Ab, respectivamente), como la frecuencia de ocurrencia (%FO) del ítem Formicidae con respecto al resto de los ítems taxonómicos encontrados. En el estudio de los géneros de hormiga se estimó la riqueza, la abundancia, el volumen y sus proporciones (%Ab y %V); así como el %FO y el IRI.

Para comparar las dietas entre las dos especies de anfibio se calculó la amplitud de nicho trófico de cada especie usando el índice de Shannon-Weaver estandarizado ($J = H / \log(s)$, donde $H = \sum [p_i * \log(p_i)]$, p_i es la proporción del ítem en la muestra y s es el número de ítems; Weaver & Shannon, 1949). A su vez se realizó una curva de rarefacción con las dos especies para comparar la riqueza esperada. Para describir el solapamiento de nicho se calculó el índice de Pianka (1973), mientras que para testar la similitud entre la composición de ambas dietas se realizó un análisis de comunidades, mediante escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) con matriz de distancias Bray-Curtis (paquete 'vegan', Oksanen *et al.* 2017,

R Core Team, 2017). Este método multivariado posee la ventaja de representar objetivamente los datos crudos con el menor desvío posible, reflejando alguna propiedad de interés de las comunidades (Gauch & Gauch Jr., 1982). Adicionalmente, se realizó el test no paramétrico de Mann-Whitney (U) de las abundancias de presa por estómago, así como de los volúmenes total consumido y máximo de presa por estómago, a fin de evaluar diferencias de estas dimensiones entre las especies. Para la realización de las curvas y los test se utilizó el software Past (Hammer *et al.* 2001).

Para la comparación de los tamaños (LHC) y el ancho mandibular (AM) entre las dos especies de estudio se usó el test de Student (t) en el software Past (Hammer *et al.* 2001). La relación de las variables morfológicas del anfibio (LHC, AM) con las variables morfométricas y numéricas de la presa se estudió mediante Regresión Lineal Simple; se comparó la relación del AM con las siguientes variables de la presa: número de ítems en cada estómago, ancho de presa máximo, y largo de presa máximo encontrados en cada estómago; por otro lado, el LHC se comparó con el volumen de presa consumido por estómago (ambas variables transformadas logarítmicamente).

Con respecto a la disponibilidad ambiental, se realizó un análisis descriptivo de los ítems colectados en las trampas de caída de la localidad Shangrilá y se compararon con los contenidos estomacales de los anfibios de *O. americanus* y de *R. arenarum* capturados en el mismo muestreo. Si bien se identificaron los ítems de las trampas de El Pinar (ver Tablas II.1. y II.2 del Apéndice II), no se utilizó esta localización para el análisis comparativo ya que se capturó únicamente un anfibio. Para cada especie de anfibio se calculó el número de ítems taxonómicos consumidos y su abundancia, así como el índice de Shannon-Weaver estandarizado. Para evaluar la potencial preferencia de los anfibios por una presa particular se realizó el test de selectividad alfa de Manly (Manly, 1974; Chesson, 1978, 1983), el cual tiene en cuenta la disponibilidad de cada tipo de presa (Pledger *et al.* 2007). Para dicho test se utilizó el software R (paquete "*selectpref*", función "*manlyalpha*", Richardson, 2018; R Core Team, 2017). Específicamente para los géneros de hormigas, se compararon los valores de abundancia relativa (%Ab), riqueza y volumen absoluto de las hormigas disponibles en el ambiente con los de las hormigas consumidas por cada especie de anfibio. Para estimar la preferencia de los anfibios por un género en particular, se calculó para cada género el porcentaje de hormigas consumido de las disponibles en el ambiente.

RESULTADOS

Dieta

De los 25 estómagos analizados para cada especie de anfibio, cuatro estaban vacíos en *Odontophrynus americanus* y uno en *Rhinella arenarum*. Se identificaron en total 117 invertebrados en *O. americanus* y 628 en *R. arenarum*, ocupando un volumen de 2745 mm³ y 392 mm³, respectivamente. Se identificaron 15 ítems en *O. americanus* y 11 en *R. arenarum* (Tabla 1).

En *O. americanus*, los ítems Isopoda, Coleoptera, y Larvas obtuvieron mayor índice de importancia relativa (Tabla 1), correspondiendo con la mayor abundancia relativa (Figura 1); en cuanto a porcentaje de frecuencia de ocurrencia el orden de ítems fue: Coleoptera, Isopoda y Formicidae, mientras que en volumen Isopoda mostró mayor proporción (Tabla 1). En *R. arenarum*, el ítem Formicidae mostró mayor importancia relativa, seguido de Coleoptera y Acari, correspondiéndose con la mayor frecuencia de ocurrencia (Tabla 1). De los tres ítems, Formicidae y Acari presentaron mayor abundancia relativa (Figura 1), y Coleoptera y Formicidae mayor proporción de volumen (Tabla 1).

Tabla 1. Ítems consumidos por *Odontophrynus americanus* (O) y *Rhinella arenarum* (R). n = Número de individuos; %FO = frecuencia de ocurrencia; %V = porcentaje de volumen relativo; IRI = índice de importancia relativa.

Item	n		%V		%FO		IRI	
	O	R	O	R	O	R	O	R
Acari	6	147	0.04	2.44	23.81	41.67	122.98	1076.82
Araneae	6	8	1.22	0.70	28.57	12.50	181.27	24.64
Blattaria	2	-	0.00	-	4.76	0.00	8.16	-
Chilopoda	1	-	0.19	-	4.76	0.00	4.96	-
Coleoptera	28	72	18.83	55.73	57.14	58.33	2443.27	3919.64
Collembola	2	32	0.07	0.46	4.76	20.83	8.49	115.72
Diplopoda	-	1	-	0.00	-	4.17	-	0.66
Diptera	4	22	0.40	1.42	19.05	12.50	72.78	61.49
Formicidae	8	317	7.19	29.40	33.33	79.17	467.48	6323.85
Hemiptera	6	4	0.67	0.09	23.81	12.50	138.11	9.03
Hymenoptera (no formicidae)	2	-	0.05	-	4.76	0.00	8.38	-
Isopoda	30	-	44.44	-	38.10	0.00	2669.69	-
Isoptera	3	-	2.70	-	4.76	0.00	25.07	-
Larvas	17	14	19.81	1.44	19.05	16.67	654.16	61.12
Orthoptera	2	10	4.40	8.32	9.52	16.67	58.15	165.15
Thysanoptera	-	1	-	0.02	-	4.17	-	0.75

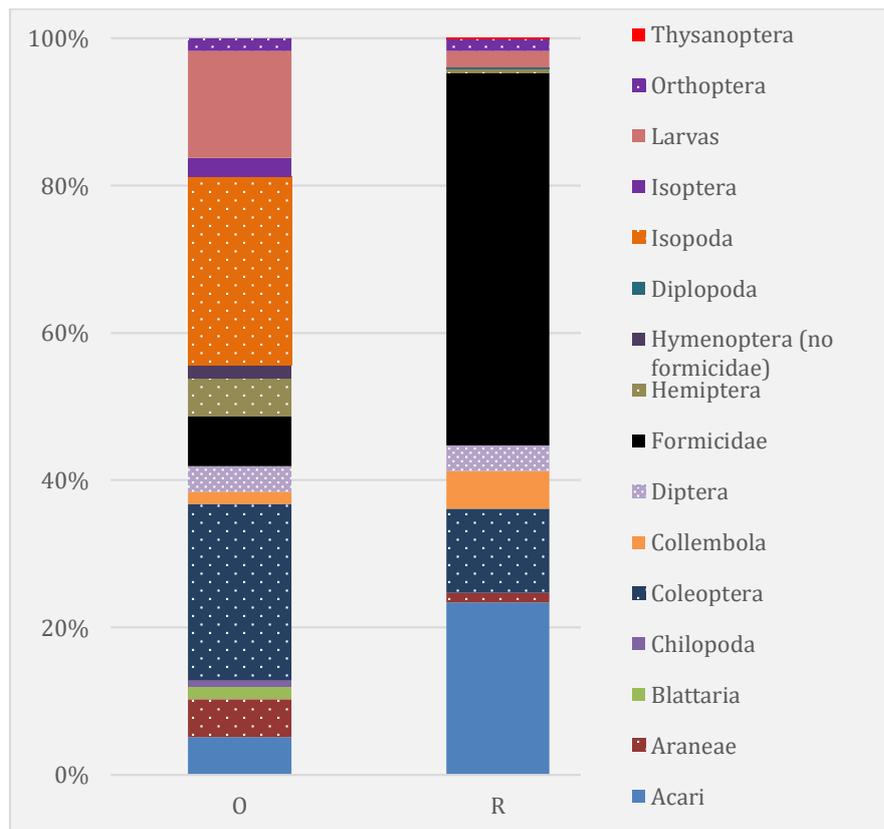


Figura 1. Porcentajes de abundancia relativa (%Ab) de los ítems taxonómicos en el contenido estomacal de *O. americanus* (O) y *R. arenarum* (R).

La amplitud trófica fue mayor para *O. americanus* que para *R. arenarum* ($J=0.79$, $J=0.46$, respectivamente). A su vez, las curvas de rarefacción predicen una dieta más diversa para *O. americanus* que para *R. arenarum* (Figura 2). El solapamiento de nicho trófico entre ambas especies es bajo, de acuerdo al índice de Pianka, cuyo valor se encuentra por debajo del valor medio (0.35). En concordancia, el análisis de similitud de dieta mostró diferencias significativas entre la composición de la dieta de ambos anfibios ($F = 9.76$, $p < 0.001$; Figura 3).

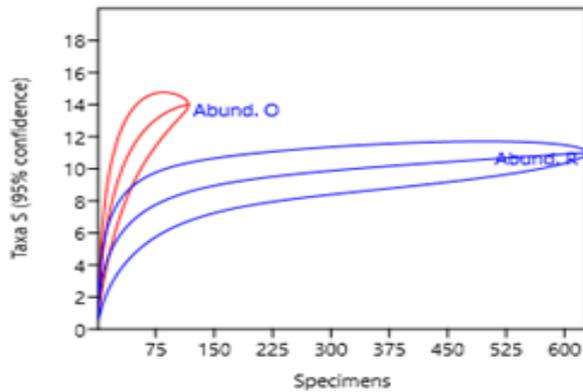


Figura 2. Curva de rarefacción de la riqueza de la dieta (Taxa S) para *O. americanus* (Abund.O) y *R. arenarum* (Abund.R)

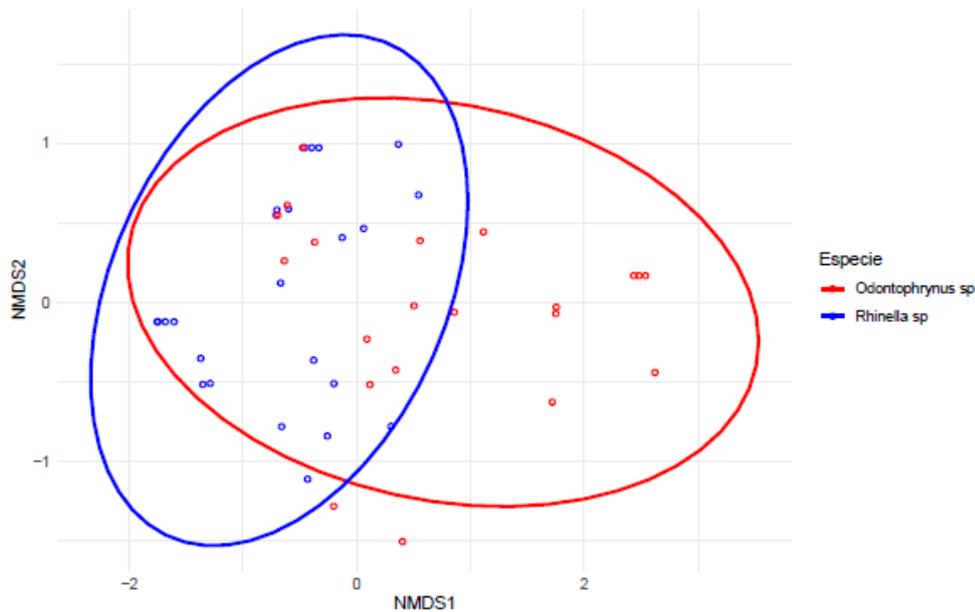


Figura 3. Representación espacial del análisis de comunidades de la dieta de *O. americanus* y *R. arenarum*. Cada círculo pequeño representa un estómago y la cercanía entre ellos indica la similitud de la dieta.

Con respecto a los formícidos, en *Rhinella arenarum* presentaron mayor porcentaje tanto de frecuencia de ocurrencia, abundancia relativa y volumen relativo que en *Odontophrynus americanus*, siendo en *R. arenarum* la presa más abundante y frecuente, y la segunda más volumétrica (Tabla 2).

Tabla 2. Formicidae. Porcentajes de frecuencia de ocurrencia (%FO), abundancia relativa (%Ab) y volumen relativo (%V) de formicidos, con sus respectivas posiciones (1º, 2º, 3º y 4º) con respecto al resto de los ítems encontrados en *Odontophrynus americanus* (O) y *Rhinella arenarum* (R.).

	%FO (posición)	%Ab (posición)	%V (posición)
O	33.3 (3º)	6.8 (4º)	7.2 (4º)
R	79.2 (1º)	50.5 (1º)	29.4 (2º)

De las 325 hormigas presentes en los estómagos de ambas especies de anfibio, se lograron identificar 94, pertenecientes a siete géneros. En cuatro estómagos de *O. americanus* se identificaron cinco hormigas, cada una perteneciente a un género diferente (Tabla 3, Figura 4). En *R. arenarum* se registraron en diez estómagos 89 hormigas pertenecientes a siete géneros (Tabla 3). Para *O. americanus* el género *Acromyrmex* presentó mayor proporción de volumen, seguido de *Trachymyrmex* y *Solenopsis* (Tabla 3). Por otro lado, para *R. arenarum* los géneros con mayor importancia relativa fueron: *Solenopsis*, *Linepithema* y *Acromyrmex*, siendo los primeros dos los que presentaron mayor abundancia relativa (Figura 4) y frecuencia de ocurrencia; también *Solenopsis* fue el género con mayor porcentaje de volumen, seguido de *Acromyrmex*, *Trachymyrmex* y *Linepithema* (Tabla 3).

Tabla 3. Formicidae. Subfamilias y géneros consumidos por *O. americanus* (O) y *R. arenarum* (R). n= Número de individuos; FO = frecuencia de ocurrencia; V = volumen (mm³); %V = porcentaje de volumen relativo; IRI = índice de importancia relativa.

Subfamilia	Género	n		FO		V		%V		IRI	
		O	R	O	R	O	R	O	R	O	R
Myrmicinae	<i>Solenopsis</i>	1	46	1	5	1.47	67.43	0.75	50.61	518.68	5114.80
	<i>Wasmannia</i>	1	5	1	2	0.13	0.66	0.07	0.50	501.69	122.33
	<i>Acromyrmex</i>	1	4	1	2	188.01	28.48	95.85	21.38	2896.22	517.45
	<i>Trachymyrmex</i>	1	3	1	1	5.61	16.84	2.86	12.64	571.56	160.13
	<i>Pheidole</i>	1	2	1	1	0.93	1.86	0.47	1.40	511.85	36.43
Dolichoderinae	<i>Linepithema</i>	-	25	-	5	-	16.82	-	12.62	-	2035.68
Formicinae	<i>Brachymyrmex</i>	-	4	-	1	-	1.13	-	0.85	-	53.46

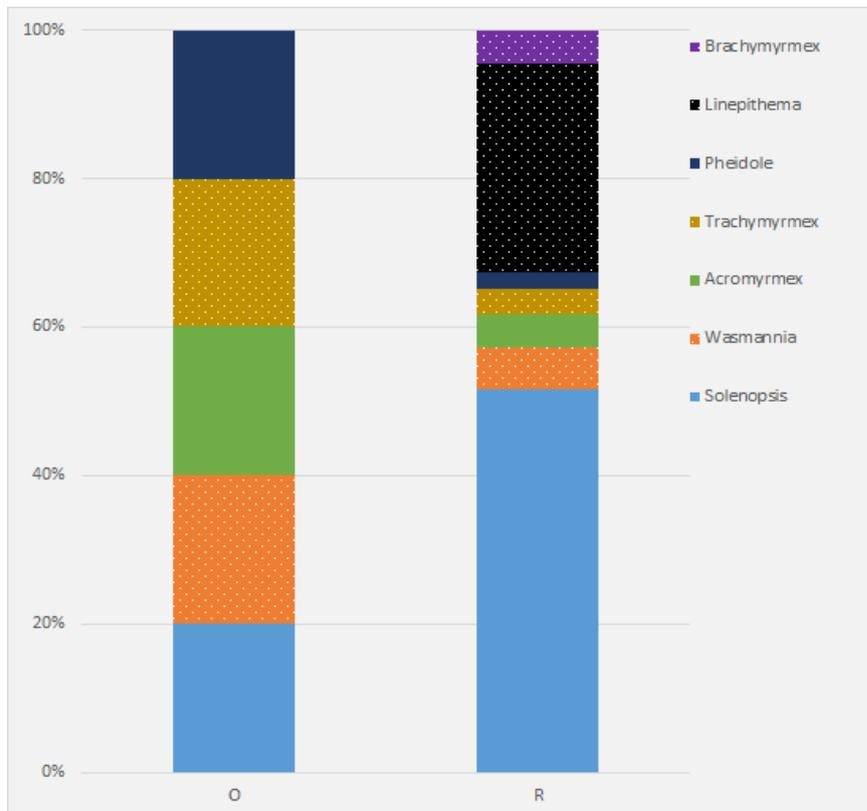


Figura 4. Porcentajes de abundancia relativa (%Ab) de los géneros de hormiga en el contenido estomacal de *O. americanus* (O) y *R. arenarum* (R).

Relación entre variables

El LHC y el AM de los juveniles de *Odontophrynus americanus* es significativamente mayor que el de *Rhinella arenarum* (Tabla 4). Los individuos de *O. americanus* consumieron un volumen de presas por estómago significativamente mayor que los de *R. arenarum* y también consumieron presas más grandes (Tabla 4). Por otro lado, la diferencia entre la cantidad de presas consumidas por estómago entre ambas especies de anfibio no es significativa (Tabla 4). En ninguna de las dos especies hubo asociación lineal significativa entre el ancho mandibular con ninguna de las variables de las presas: riqueza, ancho, largo y largo máximo. En cambio, la relación entre LHC y el volumen de presas en cada estómago resultó significativa para *O. americanus* ($R^2 = 0.19$, $p = 0.0469$) pero no para *R. arenarum* ($R^2 = 0.08$, $p = 0.182$).

Tabla 4. Resultados de los test de Student (t) y Mann-Whitney (U) comparativos de las variables (LHC = largo hocico cloaca; AM = ancho mandibular) entre *O. americanus* (O) y *R. arenarum* (R), con respectiva media (+SE), mediana y probabilidad (p).

Variable	O		R		Test				
	Media	SE	Mediana	Media	SE	Mediana	t	U	p
LHC (mm)	23.30	0.60	-	17.90	0.50	-	7.35	-	< 0.0001
AM (mm)	11.34	0.40	-	6.01	0.20	-	11.61	-	< 0.0001
Volumen Presas (mm ³)	-	-	96.69	-	-	15.21	-	82	0.0001
Tamaño Presa (mm ³)	-	-	23.23	-	-	1.55	-	60	0.0003
Abundancia Presa	-	-	5	-	-	7	-	175.5	0.0823

Disponibilidad ambiental y selectividad

Se capturaron 345 presas potenciales, pertenecientes a 15 ítems, en las trampas de la localidad de Shangrilá. En estas trampas también fueron atrapados tres ejemplares de cada especie de anfibio, uno de ellos, perteneciente a *Odontophrynus americanus*, carecía de presas en el tracto digestivo. Se identificaron 12 presas en los dos estómagos de *O. americanus* y 140 en los tres estómagos de *Rhinella arenarum*. Si bien la riqueza de ítems taxonómicos fue la misma en cada especie de anfibio (7), aunque con una ligera diferencia en su composición, la proporción de abundancia y volumen de cada uno de ellos fue diferente, resultando mayor amplitud de nicho trófico en *O. americanus* que en *R. arenarum* ($J=0.92$ y $J=0.54$, respectivamente).

En relación a la preferencia de presa respecto a la disponibilidad ambiental, el índice de selectividad alfa de Manley indica que para *O. americanus* el ítem de preferencia fue Larva, seguido de Acarí y Hemiptera (1; 0.41; 0.45; respectivamente), mientras que para *R. arenarum* estos fueron Acarí en primer lugar, seguido de Larva y Collembola tercero (1; 0.48; 0.08; respectivamente). Las hormigas (Formicidae) se posicionaron en el 7º y último lugar en *O. americanus*, y en 5º lugar en *R. arenarum* (Tabla 5).

Tabla 5. Ítems taxonómicos disponibles (Amb = ambiente) y consumidos por *O. americanus* (O) y *R. arenarum* (R). "Ranking" elección= resultados del índice alfa de Manley (en negrita los puntajes mayores a 0.1). Los resultados se expresan de 0 a 1 siendo cercano a 0 evasión de presa y cercano a 1 selección de presa.

Item	n			"Ranking" elección	
	Amb	O	R	O	R
Formicidae	122	1	12	0.029	0.036
Collembola	92	0	19	0	0.080
Coleoptera	66	4	5	0.217	0.027
Diptera	41	1	0	0.086	0
Araneae	38	1	1	0.093	0.009
Hemiptera	21	2	3	0.348	0.053
Acarí	18	2	97	0.409	1
Orthoptera	17	0	0	0	0
Hymenoptera	10	0	0	0	0
Larva	4	1	3	1	0.480
Diplopoda	2	0	0	0	0
Blattaria	1	0	0	0	0
Odonata	1	0	0	0	0
Opiliones	1	0	0	0	0
Pseudoscorpiones	1	0	0	0	0

De todos los ítems identificados en las trampas de Shangrilá, un 28% fueron hormigas. Se identificaron siete géneros, de los cuales *Solenopsis* y *Pheidole* mostraron mayor abundancia relativa ($Ab=33\%$ y $Ab=26\%$, respectivamente). Se encontró sólo una hormiga (reina, Figura II.1 del Apéndice II) en los dos estómagos de *Odontophrynus americanus*, y 11 hormigas (obreras) en total en los tres estómagos de *Rhinella arenarum* (Tabla 6). La única hormiga encontrada en *O. americanus*, volumétricamente superó al total del volumen de hormigas de *R. arenarum* (Tabla 6). Respecto a la estimación de selección de los géneros de hormiga, *O.*

americanus consumió el 25% de las hormigas *Acromyrmex* disponibles en el ambiente, mientras que *R. arenarum* consumió el 31.58% de *Linepithema*, y el 21.74% de *Wasmannia*.

Tabla 6. Formicidae. Géneros disponibles (Amb = ambiente) y consumidos por juveniles de *O. americanus* (O) y *R. arenarum* (R). N = número de individuos; vol = volumen (mm³).

Subfamilia	Género	n			vol		
		Amb	O	R	Amb	O	R
Myrmicinae	<i>Solenopsis</i>	40	-	-	69.97	-	-
	<i>Pheidole</i>	31	-	-	42.77	-	-
	<i>Wasmannia</i>	23	-	5	3.06	-	0.66
	<i>Acromyrmex</i>	4	1	-	26.33	188.01	-
Dolichoderinae	<i>Linepithema</i>	19	-	6	12.53	-	4.04
	<i>Dorymyrmex</i>	1	-	-	1.03	-	-
Formicinae	<i>Camponotus</i>	3	-	-	31.90	-	-

DISCUSIÓN

Los juveniles de *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus* consumen una gran variedad de artrópodos. En el caso de *O. americanus* la unidad taxonómica más representativa fue Isopoda, seguido de Coleoptera, y las larvas también formaron parte importante de la dieta. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Machado *et al.* (2019) con poblaciones de *O. americanus* en la mata atlántica de Brasil, y parcialmente con lo encontrado por Achaval-Coppes (2011) en poblaciones juveniles del departamento de Tacuarembó, Uruguay. En el estudio de Achaval-Coppes (2011) predominaron los caracoles, coleópteros y larvas, pero no los isópodos; esta discrepancia podría deberse a diferencias en la disponibilidad de estas presas entre el ambiente de su estudio (ribereño, con suelos húmedos, MGAP, 2019) y el de este trabajo (costero-urbano y de pradera, MGAP, 2019) (Ver Tabla I.1. del Apéndice I). Por su parte, Cossovich *et al.* (2011) en un estudio en Córdoba, Argentina, encontraron únicamente a Isopoda como ítem fundamental en la dieta de adultos en un ambiente de tipo pastizal. En este sentido, la oferta de presas de los diferentes tipos de ambiente puede cumplir un rol importante en la composición de la dieta de *O. americanus* (Peltzer *et al.* 2010; Machado *et al.* 2019). Por otra parte, en la dieta de *Rhinella arenarum* Formicidae fue la presa predominante, Coleoptera resultó ser un ítem importante en cuanto a volumen y frecuencia de ocurrencia, y los ácaros también tuvieron una gran presencia numérica. Quiroga *et al.* (2009) en un estudio en San Juan, Argentina, también encontraron en juveniles de esta especie a las hormigas como ítem fundamental en la dieta, sin embargo, al resto de las presas (Coleoptera, Acari, entre otros) los considera como ítems "raros". En el caso de adultos de *R. arenarum*, varios autores consideran a Formicidae como presa fundamental en la dieta, pero a su vez presenta ítems importantes o accesorios, como Coleoptera (Quiroga *et al.* 2009; Cossovich *et al.* 2011), a excepción de de Oliveira *et al.* (2017) donde Coleoptera fue la presa predominante.

La presencia de mayor riqueza de unidades taxonómicas en *O. americanus*, así como una mayor amplitud trófica, y una curva de rarefacción más diversa, indica que los juveniles de esta especie poseen una dieta más generalista dentro del gradiente especialista-generalista que los juveniles de *R. arenarum* (Figura 1, Figura 2). Incluso en individuos colectados en el mismo sitio, donde la oferta ambiental es similar, *O. americanus* presentó mayor amplitud

trófica que *R. arenarum*, lo cual se ve reflejado también en el índice de selectividad alfa de Manly, donde *O. americanus* presenta una mayor cantidad de ítems con índices altos que *R. arenarum* (Tabla 5). En su estudio, Achaval-Coppes (2011) también considera generalistas a los juveniles de *O. americanus*, aunque los encontró más selectivos y activos en estaciones frías en comparación a los adultos. A excepción de Cossovich *et al.* (2011), los adultos de esta especie también son considerados generalistas por otros autores (Isacch & Barg, 2002; Peltzer *et al.* 2010); consideraciones similares suceden con otra especie del género (*O. carvalhoi*, Brito *et al.* 2012).

Rhinella arenarum, a diferencia de *O. americanus*, presentó en su dieta menor número de ítems taxonómicos, pero algunos de ellos con un gran número de presas y con altos índices de importancia relativa (Formicidae, Acari, Tabla 1, Figura 1). Adicionalmente, juveniles de esta especie colectados en el mismo sitio consumieron mayor número de hormigas y ácaros que los de *O. americanus*, y obtuvieron un índice de selectividad (Manley) superior, siendo Acari la presa más seleccionada (Tabla 5). Estos resultados indican que *R. arenarum* podría tener mayor preferencia por estas presas que *O. americanus*. Si se tienen en cuenta estos resultados, y además el índice de diversidad intermedio ($J= 0.46$), se podría inferir que los juveniles de *R. arenarum* tienen cierto grado de especialización por las hormigas y ácaros, como es sugerido por Quiroga *et al.* (2009) con adultos y juveniles de esta especie. Adultos del género *Rhinella* también fueron considerados por varios autores tendientes a la especialización (*R. fernandezae*, Peltzer *et al.* 2010 y; *R. arenarum* Cossovich *et al.* 2011), o bien, especialistas en hormigas (*R. arenarum* y *R. dorbignyi*, Isacch & Barg, 2002; *R. gr. granulosa*, da Rosa *et al.* 2006; *R. fernandezae*, Cossovich *et al.* 2011), y en coleópteros (*R. arenarum*, de Oliveira *et al.* 2017). La especialización en hormigas y ácaros puede provenir de factores evolutivos, ya sea asociados al secuestro de alcaloides para la defensa (Caldwell, 1996; Vences *et al.* 1998), o bien por coevolución con otras especies (Toft, 1980). Sin embargo, algunas especies de *Rhinella* producen sus propias toxinas (Lyttle *et al.* 1996), y hay especies mirmecófagas (Microhylidae) que no parecen ser capaces de secuestrar alcaloides (Lopes *et al.* 2017). En este caso pueden estar actuando factores morfológicos del anfibio que limiten el consumo a presas pequeñas como las hormigas (Simon & Toft 1991; Hirai, 2002; Isacch & Barg, 2002; Duré *et al.* 2009; Lopes *et al.* 2017); también fisiológicos-comportamentales relacionados con los requerimientos energéticos y actividad metabólica (Pough, 1983); o bien ecológicos, de acuerdo a la disponibilidad de presa (Donnelly, 1991; Simon & Toft 1991).

El índice de solapamiento de nicho de Pianka y el análisis de similitud dietaria indican que los juveniles de estas dos especies difieren en la composición de la dieta. Esto coincide con lo encontrado en adultos de estas dos especies por Isacch & Barg (2002) y Cossovich *et al.* (2011), incluso con *O. americanus* y otras especies del género *Rhinella* (Isacch & Barg, 2002; Cossovich *et al.* 2011). Esta disparidad entre nichos tróficos puede deberse a diferencias en los momentos de actividad y forrajeo de los individuos. Se ha teorizado que los adultos de *O. americanus* presentan hábitos nocturnos (Achaval-Coppes, 2011; Brito *et al.* 2012), y se ha observado actividad principalmente nocturna de los juveniles en cautiverio (obs. pers.). Juveniles de *R. arenarum* en cambio, son activos durante el día (Pough, 1983), lo cual también se ha observado tanto en condiciones de cautiverio como en libertad en los sitios de emergencia (obs. pers.). Adicionalmente, las diferencias en la dieta pueden deberse a que poseen hábitos alimentarios diferentes dentro del gradiente especialista-generalista. Otra explicación posible es que incida el alejamiento filogenético de las familias Bufonidae y

Odontophrynidae (Montero y Autino, 2018), ya que se ha encontrado entre especies del mismo género o emparentadas un fuerte solapamiento de nicho (Isacch & Barg, 2002; Sabagh & Carvalho-e-Silva, 2008; Cossovich *et al.* 2011); específicamente en bufónidos, Quiroga *et al.* (2009) sugieren que la dieta de la familia se encuentra filogenéticamente conservada. También podría suceder que ocurra una combinación de factores tanto ecológicos como filogenéticos (Cossovich *et al.* 2011).

En este trabajo, la mayoría de los individuos fueron colectados en sitios y épocas diferentes, lo que amplía la disponibilidad ambiental de presas; esto limita la incidencia del componente ecológico de estos resultados. El componente filogenético también se ve reducido, porque se trata de individuos juveniles donde, por lo general, las dietas difieren de las de los adultos debido principalmente a características de tipo morfológicas-comportamentales, y en menor medida debido a las características propias de cada especie (Duellman & Trueb, 1994; Hirai & Matsui, 1999; Hodgkison & Hero, 2003; da Rosa *et al.* 2006; Achaval-Coppes, 2011). Con esta información, se podría hipotetizar que estas diferencias en la composición de la dieta se deben principalmente a los comportamientos de actividad diaria y hábitos alimentarios de los juveniles de estas especies.

Entre los juveniles muestreados de *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus* también difiere el volumen consumido por estómago, pero no la cantidad de presas. El mayor volumen consumido por *O. americanus* puede explicarse por la relación positiva entre tamaño del individuo con el volumen consumido, y porque consume presas de mayor tamaño. Esto último es similar a lo encontrado por Isacch & Barg (2002) en la comparación de adultos de estas dos especies. Por otro lado, el consumo de parte de *R. arenarum* de presas de menor tamaño, y la ausencia de relación con el volumen de presa consumido y el tamaño del anfibio, sugiere que mantienen la preferencia por presas pequeñas (hormigas, ácaros) independientemente del tamaño del anfibio. En cuanto a la relación del ancho mandibular con la riqueza, ancho, largo, y largo máximo de presa, ésta no pudo ser explicada por una relación lineal en ninguna de las dos especies. Puede ser que no exista tal asociación (Pueta & Perotti, 2013), o bien que el ancho mandibular en este estudio no fue lo suficientemente variable como para adjudicar una relación, ya que varios de los estudios que encontraron dicha relación incluyen datos de juveniles y adultos donde se amplía el rango (Hirai & Matsui, 1999; Parmelee, 1999; Maneyro *et al.* 2004), o solamente juveniles, pero de dos tamaños bien diferenciados (Lajmanovich, 1996). De todas formas, si bien algunos individuos ingirieron presas más largas que su ancho mandibular, ninguno ingirió una presa más ancha (Ver Tabla I.2. del Apéndice I), indicando que puede existir una restricción física en el consumo de presas (Hirai, 2002; Hodgkison & Hero, 2003).

La relación de *R. arenarum* con las hormigas se hace notoria al presentar en su dieta mayor diversidad, y frecuencia de ocurrencia de géneros y subfamilias que *O. americanus*. Todas las hormigas consumidas por *O. americanus* pertenecen a la subfamilia Myrmicinae, mientras que *R. arenarum* ingirió hormigas de tres subfamilias (Myrmicinae, Dolichoderinae y Formicinae), aunque mayor número y diversidad de géneros de Myrmicinae. Estos resultados podrían estar indicando una predilección de los juveniles de estas especies por Myrmicinae; la subfamilia preferida por los anfibios mirmecófagos: *Melanophryniscus devincenzii* (Bortolini *et al.* 2013), *Elachistocleis bicolor* (Solé *et al.* 2002; Berazategui *et al.* 2007) y *Chiasmocleis leucosticta* (Lopes *et al.* 2017), que a su vez también está presente en otras especies del género *Rhinella* (Sabagh & Carvalho-e-Silva, 2008). Si bien se ha documentado que las

hormigas mirmicinas secretan ciertos alcaloides (Daly *et al.* 2000; Clark *et al.* 2005), ninguna de las especies de este estudio presenta antecedentes que denoten el secuestro de alcaloides de la dieta, por lo que el mayor consumo de hormigas de esta subfamilia podría deberse a la diversidad y variedad de ambientes que habita (Fernández, 2003).

Respecto a los géneros de hormiga, para *R. arenarum* los géneros más representativos fueron *Solenopsis*, *Linepithema* y *Acromyrmex*, los primeros dos por su aporte numérico y de frecuencia de ocurrencia, y el tercero por su aporte volumétrico. *Solenopsis* fue el segundo género más consumido por las especies mirmecófagas *Elachistocleis bicolor* (Solé *et al.* 2002; Berazategui *et al.* 2007) y *Chiasmocleis leucosticta* (Lopes *et al.* 2017), y fue encontrada junto con *Acromyrmex* en la dieta de especies del género *Rhinella* (Sabagh & Carvalho-e-Silva, 2008). Pareciera que *R. arenarum* prefiere a *Solenopsis*, pero los resultados de la disponibilidad ambiental de Shangrilá sugieren lo contrario: tanto *Solenopsis* como *Pheidole* fueron los géneros con mayor abundancia en el ambiente (Tabla 6), sin embargo, ninguna de las especies de anfibio los consumió. En el caso de *Solenopsis*, puede suceder que la oferta ambiental de hormigas en Shangrilá sea muy diversa y al tener los anfibios otras opciones, no la eligen. Puede ocurrir también, que debido a la gran diversidad y variabilidad interespecífica del género (Fernández, 2003), *R. arenarum* consuma ciertas especies con atributos específicos que no se están teniendo en cuenta en este trabajo, como lo son la textura de presa. McElroy & Donoso (2019) encontraron en individuos de *Rhinella alata* mayor preferencia por algunas especies dentro del mismo género que por otras, generalmente de mayor tamaño, donde la textura de la presa juega un rol importante en el éxito de captura.

Además de *Solenopsis*, también *Pheidole* y *Camponotus* fueron géneros de hormigas evadidos en Shangrilá, y a su vez, ambos tuvieron baja (o nula en el caso de *Camponotus*) presencia en la dieta total. Tal vez suceda que ciertas especies de hormigas pertenecientes a estos géneros poseen mecanismos de defensa anti-depredador con los que los anfibios no pueden lidiar (Solé & Loebmann, 2017). *Camponotus* puede ser evadida por sus fuertes mandíbulas y secreciones de ácido fórmico características de la subfamilia Formicinae (Solé *et al.* 2002; Solé & Loebmann, 2017) y tanto *Solenopsis* como *Pheidole* son géneros conocidos por poseer especies invasoras a nivel mundial muy agresivas (GISD, Lowe *et al.* 2000). Si bien los potenciales mecanismos de defensa de las hormigas no parecieron ser un impedimento para adultos de *R. alata* (McElroy & Donoso, 2019), en este trabajo se trata de juveniles, que pueden ser más inexpertos y menos resistentes ante estos mecanismos. De hecho, en el *Capítulo 2* se sugiere la posible influencia del tipo de hormiga y sus mecanismos de defensa en su consumo por parte de juveniles de *O. americanus* y *R. arenarum*.

La única hormiga consumida por *Odontophrynus americanus* de las trampas de caída fue una reina del género *Acromyrmex*, si consideramos la amplia disponibilidad en el ambiente del resto de los géneros, y además la poca cantidad de hormigas *Acromyrmex* disponibles (n = 4) pareciera que *O. americanus* prefiere este género, aunque es probable que se trate de una ingesta ocasional por ser de gran tamaño. También existe la posibilidad de que haya más disponibilidad de estas hormigas en el ambiente, pero las trampas no las hayan capturado; Costa *et al.* (2006) han reportado gran presencia del género *Acromyrmex* en un ambiente costero, pero de forma desigual en las distintas trampas debido a que se mueven por caminos, por lo que en este caso las trampas de caída pudieron no haberlos interceptado. De las hormigas disponibles en el ambiente, *Rhinella arenarum* consumió mayor cantidad de *Linepithema* que de *Wasmannia*, esto coincide con lo encontrado en la dieta general (Tabla

3), donde *Linepithema* fue el segundo género con mayor abundancia relativa mientras que *Wasmannia* fue el tercero y a su vez más depredadores lo consumieron, sugiriendo una preferencia por parte de *R. arenarum* frente a hormigas del género *Linepithema*.

Igualmente, son pocas las hormigas consumidas por ambas especies en relación a la disponibilidad ambiental, ya que presentaron valores bajos del índice de Manly, siendo Acari el ítem más seleccionado por *R. arenarum*, mientras que para *O. americanus* fue Larvas en primer lugar y Acari en segundo lugar. Puede suceder que, al ser los *R. arenarum* capturados en las trampas levemente más pequeños que los individuos de colecciones (Media \pm SE (n): 15 ± 1.5 mm (3) y 18.3 ± 0.44 mm (22), respectivamente), esta diferencia sea suficiente para que consuman mayor cantidad de ácaros y hormigas pequeñas como *Wasmannia* y *Linepithema*. De hecho, Simon & Toft (1991) sugieren que los ácaros son consumidos por individuos más pequeños como un equivalente a las hormigas, ya sea por ser más fáciles de capturar (Donnelly, 1991) o bien por ser más detectables (Simon & Toft, 1991). También puede suceder que cambie la composición de la dieta con el ambiente, pero se mantenga la especialidad por ciertos grupos, como sucede con *Rhinella fernandezae* (Peltzer *et al.* 2010). Otra posibilidad es que no coincidan los momentos de actividad de cada especie de anfibio con los de las especies de presa, pudiendo existir fluctuaciones estacionales de la disponibilidad de las presas (Lima & Moreira, 1993) o incluso diarias (Donnelly, 1991). Habría que considerar a su vez el uso del microhábitat del depredador (Pough, 1983) y que la presa se pueda distribuir en parches (Bull & Hayes, 2009), especialmente en el caso de las hormigas que además de encontrarse en agregados, algunas pueden utilizar caminos de forma reiterada (Hölldobler & Wilson, 1990; Costa *et al.* 2006). Estas consideraciones llevan al cuestionamiento del método de muestreo de la disponibilidad ambiental en este trabajo, ya que el “muestreo” que hace el anfibio juvenil puede diferir con el de las trampas de caída, el cual puede estar sesgado por mayor o menor representación de ciertos ítems. Esto se ve representado en los resultados de disponibilidad ambiental (Tabla 5) donde *R. arenarum* consumió un mayor número de ácaros que los obtenidos en las trampas de caída. Más estudios harían falta con un muestreo distribuido en el tiempo que tenga en cuenta no solo las fluctuaciones estacionales, sino el momento de actividad diario del depredador y la presa (Donnelly, 1991), además de alguna técnica adicional a las trampas de caída que complemente el muestro de presas potenciales.

Los juveniles de las especies de estudio parecen tener hábitos de forrajeo diferentes. Tomando los resultados de dieta general, se puede concluir que *Odontophrynus americanus* posee una dieta generalista, con cierta inclinación por presas de mayor volumen, en relación a su tamaño. Su consumo de hormigas y ácaros puede deberse a su comportamiento oportunista, asociado a una estrategia de captura del tipo “sit and wait”. *Rhinella arenarum* por otra parte, podría considerarse intermedio dentro del espectro especialista-generalista, siendo principalmente hormigas y secundariamente ácaros las presas de preferencia. Dentro de las hormigas, destaca la diversidad de presas pertenecientes a la subfamilia Myrmicinae, y la gran presencia de los géneros *Solenopsis* (Myrmicinae) y *Linepithema* (Dolichoderinae). Es probable que la búsqueda de estas presas sea principalmente activa, ya que se encuentran en agregados.

Si bien el estudio de disponibilidad ambiental no ofrece resultados concluyentes debido a la poca cantidad de estómagos muestreados, consiste en un primer acercamiento sobre la selectividad de presas de juveniles de dos especies que comparten un ambiente en relación

a la disponibilidad de presas. En comparación con los resultados de dieta general, parece que *O. americanus* es capaz de ajustar la composición de la dieta en función del ambiente, manteniendo el hábito generalista. *R. arenarum* también mostró variación en la composición de la dieta, pero igualmente su nicho trófico resultó estrecho y parece mantener la preferencia por ciertos grupos, ácaros en primer lugar y, en segundo lugar, hormigas de los géneros más pequeños. Esto lleva al cuestionamiento de si esta preferencia se encuentra asociada a la relación tamaño depredador-presa, a la composición tanto de las especies de hormiga como del resto de los ítems del ambiente, o bien es una característica del hábito alimentario de los juveniles de *R. arenarum*. Se destaca nuevamente la importancia de los estudios de este tipo, que evalúen estos aspectos de la ecología trófica de juveniles en una misma localidad, que incluyan a su vez la comparación entre varias localidades.

CAPÍTULO 2 – APETENCIA

INTRODUCCIÓN

Los experimentos de preferencia son un instrumento útil para profundizar en la interacción depredador-presa, donde se puede observar los posibles procesos comportamentales causantes de los patrones de forrajeo (Underwood *et al.* 2004). Hay muchos factores que pueden incidir en el consumo de una presa, que a su vez dependen tanto del depredador, como del tipo de presa. Los anfibios como depredadores, al enfrentarse con una potencial presa pueden experimentar una serie de procesos. En primer lugar, ocurre la detección de la presa (Lima & Dill, 1990), lo cual puede desencadenar el comportamiento de captura. Una vez detectada la presa, el anfibio puede decidir alimentarse o ignorarla (Lima & Dill, 1990; Ewert & Schwippert, 2006); si decide alimentarse, procede a intentar la captura, la cual puede o no resultar exitosa. Una vez ingerida la presa, el depredador puede continuar alimentándose de ese tipo de presa o no (Suboski, 1992). Las hormigas como presa poseen características morfológicas y comportamentales que pueden influir en cada uno de estos procesos.

Los anfibios detectan a sus presas de forma mayormente visual, y en menor medida olfativa, gustativa y somatosensorial (Duellman & Trueb, 1994; Stebbins & Cohen, 1997; Ewert & Schwippert, 2006; Long *et al.* 2015). De esta forma, en la detectabilidad de las hormigas por anfibios adultos, el color es un factor influyente en experimentos de preferencia de presa (Alvarez Blanco *et al.*, 2017). Estos estudios mencionan la influencia del tamaño de la hormiga, coincidiendo con Suarez *et al.* (2000) en experimentos similares con lagartijas. Por otra parte, McElroy & Donoso (2019) proponen que ciertos anfibios mirmecófagos seleccionan a las especies de hormigas por tamaño, debido a su facilidad de visualización y manipulación. En los anfibios, además del tamaño, la velocidad de la presa y los patrones de movimiento también inciden en gran medida en la detectabilidad (Duellman & Trueb, 1994; Ewert & Schwippert, 2006; Zlotnik *et al.* 2018).

En la decisión del anfibio de alimentarse se plantean diversos escenarios. Por un lado, existe la posibilidad de que ignore a la hormiga, ya sea porque reconoce su bajo valor nutritivo, o bien que es potencialmente nociva, como sucede con *Elachistocleis bicolor* que mostró comportamientos defensivos con hormigas de la subfamilia Formicinae (Solé *et al.* 2002). Adicionalmente, los aspectos comportamentales de las hormigas (movimientos acelerados, contacto con el individuo, ataques) pueden propiciar una reacción del depredador que incide en su comportamiento. Si las percibe como amenaza puede desencadenar una respuesta de alarma (Ewert & Schwippert, 2006), que inhibe el comportamiento de captura y puede decidir no acercarse, o huir (Rissing, 1981; Ewert & Schwippert, 2006). Las hormigas presentan diferentes estrategias de defensa, el comportamiento de los anfibios hacia cada una de ellas resultaría diferente ya que deben poder lidiar con estos mecanismos (Solé & Loebmann, 2017). Por otro lado, puede que decida capturar a la hormiga, por preferencia hacia una especie en particular o por ciertas características de la presa. Esto fue sugerido por Pekár (2009) con arañas mirmecófagas, donde el depredador distingue a cierto tipo de hormigas. Luego de ingerida la presa, pueden influir en la decisión de seguir alimentándose con ese tipo

de presa la palatabilidad o toxicidad de la hormiga, ya que la variación de la composición química entre las especies puede condicionar su palatabilidad (Suarez *et al.* 2000). En concordancia, Suboski (1992) propone que frente a un encuentro con una presa nueva del que resulte un estímulo negativo asociado a dolores, o mala palatabilidad de la presa, el animal puede dejar de alimentarse.

En anfibios ha sido muy discutido si la relación con diferentes tipos de presa se debe a un comportamiento de captura innato con raíces evolutivas, a comportamientos adquiridos por experiencia previa, o bien, a una combinación de ambos (Suboski, 1992; Ewert & Schwippert, 2006). Sabiendo que los anfibios juveniles de las especies *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus* integran en diferentes proporciones hormigas a su dieta (Capítulo 1; Quiroga *et al.* 2009; Achaval-Coppes, 2011), se establecen los siguientes objetivos:

Objetivo general. Evaluar la relación depredador - presa con ejemplares juveniles de dos especies de anfibios (*Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*) y tres especies de hormigas (*Linepithema humile*, *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.*).

Objetivos específicos:

- Evaluar la preferencia de los anfibios por los tres tipos de hormiga presentadas
- Estudiar la relación entre los ataques de las hormigas y la ingesta posterior de los anfibios

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron experimentos de preferencia de presa para evaluar el consumo de hormigas por parte de los juveniles naïf, es decir que no tuvieron contacto previo con hormigas (estudio de comportamiento innato), y luego de su primer contacto con hormigas (estudio con experiencia previa).

Hormigas de estudio

Las hormigas *Linepithema humile*, *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.* se utilizaron en los experimentos de preferencia de presa. Estas hormigas pertenecen a tres géneros que solapan sus rangos de distribución con las especies de anfibios de estudio y a su vez son consumidas por diversas especies de anfibios (Capítulo 1; Solé *et al.* 2002; Berazategui *et al.* 2007; Ito *et al.* 2009; Alvarez-Blanco *et al.* 2020). *Linepithema humile* pertenece a la subfamilia Dolichoderinae, caracterizada por poseer un gran desarrollo de la comunicación y defensa química pero que carece de aguijón funcional (Pavan & Ronchetti, 1955; Billen, 1986; Fernández, 2003), esta especie es monomórfica y considerada una de las hormigas más invasora a nivel mundial (Lach *et al.* 2010; Lowe *et al.* 2000). En Uruguay además de *L. humile* hay otra especie descrita del género: *L. micans* (AntWeb, 2020).

Tanto los géneros *Pheidole* como *Solenopsis* pertenecen a la mega-diversa subfamilia Myrmicinae, ambos géneros contienen especies que son consideradas invasoras a nivel mundial (Lowe *et al.* 2000). El género *Pheidole* es denominado “hiper-diverso” por ser el más

diverso de las hormigas, y presenta una gran variedad de especies que difieren tanto en su morfología (Wilson, 2003; Pie & Traniello, 2007) como en sus comportamientos de defensa y forrajeo (Feener Jr, 1987; Wilson, 2003), aunque generalmente predomina la defensa mecánica y grupal (Lach *et al.* 2010). Presentan obreras dimórficas, siendo los soldados o “major” la casta que presenta más variación, especialmente en la estructura y forma de la cabeza (Wilson, 2003). Esta gran diversidad de caracteres ha llevado a que se clasifique a las hormigas de este género en 19 grupos (Wilson, 2003). En Uruguay, hay cinco especies descritas del género *Pheidole* pertenecientes a tres diferentes grupos (AntWeb, 2020). Por otro lado, el género *Solenopsis* presenta especies con obreras monomórficas y también con obreras polimórficas (Fernández, 2003). Las especies polimórficas son de mayor tamaño, poseen un comportamiento agresivo y un veneno muy potente (Pitts *et al.* 2018), se las conoce como “fire ants” y comprenden hormigas invasoras problemáticas como *Solenopsis invicta* y *S. richteri* (Lach *et al.* 2010; Pitts *et al.* 2018; GISD). En Uruguay, está descrita esta última especie además de otras tres (*S. metanotalis*, *S. quinquecuspis* y *S. emiliae*), siendo *S. quinquecuspis* también del grupo “fire ants” (AntWeb, 2020).

Las hormigas *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.* no se identificaron a nivel de especie por tratarse de géneros muy diversos (Wilson, 2003; Lach *et al.* 2010), cuyo conocimiento taxonómico se encuentra incompleto o bien está en revisión (Lach *et al.* 2010). La especie *Linepithema humile* en cambio, se logró identificar con ayuda de un experto.

Colecta de individuos y mantenimiento en el laboratorio

Los anfibios fueron colectados en estado larvario en la zona costera del departamento de Canelones, Uruguay, en octubre de 2017. Los ejemplares de *Rhinella arenarum* se colectaron en la localidad de Shangrilá (34°52'S, 56° 0'W) y los de *Odontophrynus americanus* en El Pinar (34°48'S, 55°54'W). Las larvas se criaron en el laboratorio, donde fueron alimentadas *ad libitum* con lechuga hervida y ración triturada (alimento vegetal para conejos). Una vez completada la metamorfosis, los anfibios fueron individualizados y mantenidos en terrarios con un sustrato arenoso. Los juveniles fueron alimentados *ad libitum* con termitas *Nasutitermes sp.* obreras. Una vez finalizados los experimentos los juveniles fueron depositados en la colección científica de la Facultad de Ciencias (ZVCB).

Se colectaron aproximadamente 500 hormigas de cada una de las tres especies directamente de los hormigueros usando un aspirador bucal. La hormiga *Linepithema humile* se colectó en el Parque Rodó, Montevideo, Uruguay (34°92' S, 56°17'W). *Solenopsis sp.* (polimórfica) y *Pheidole sp.* fueron colectadas en el predio de la Facultad de Ciencias Malvin Norte, Montevideo, Uruguay (34°88'S, 56°12'W), Las hormigas colectadas se colocaron en recipientes de 5L de capacidad, con una base de yeso y algodón humedecido para evitar desecación, y se mantuvieron en el laboratorio para la realización de los experimentos, con agua y comida *ad libitum*.

Diseño de experimentos

Se realizaron los experimentos de preferencia de presa (apetencia) en el laboratorio. Para ello se trató de eliminar las variables que pudieran influir en el comportamiento de forrajeo de

los anfibios tales como disponibilidad de presa, variaciones ambientales, competencia con otros individuos, riesgo de depredación, o bien la búsqueda del alimento, para reducir la escala de estudio a nivel de la interacción interespecífica, depredador-presa, en el consumo de las diferentes especies de hormigas (ver introducción general).

Los experimentos se llevaron a cabo con 10 individuos juveniles de cada especie (*Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*). Los experimentos se realizaron para cada especie de anfibio con la misma modalidad, la cual consistió en la realización de tres test (o pruebas) con cada individuo, uno por cada tratamiento de hormiga LH, F y S (*Linepithema humile*, *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.*, respectivamente), distribuidos en tres días no consecutivos (día 1, día 2 y día 3). El orden de los tratamientos fue aleatorio. En suma, 10 individuos realizaron los tres test, uno por día, resultando un total de 30 test. Durante cada prueba se le ofreció a cada juvenil 10 hormigas de una de las tres especies, en el caso de *Solenopsis sp.* y *Pheidole sp.* (polimórficas) se le ofrecieron ocho hormigas obreras y dos hormigas soldado, de mayor tamaño; se anotó el tiempo en que el individuo ingirió las presas hasta los 30 minutos, las presas capturadas y luego expulsadas no fueron consideradas como ingeridas.

La realización de los experimentos se adecuó al momento del día óptimo para cada una de las dos especies de anfibios según su comportamiento y actividad habitual. Los experimentos con *O. americanus* se realizaron al anochecer, en una habitación a oscuras, y se usó el mismo terrario donde residía el animal, para que pudiera enterrarse. Antes de comenzar el experimento, si el individuo estaba enterrado se desenterraba para que pudiera ver a las hormigas, si en algún momento durante el experimento se enterraban se consideraba un comportamiento natural del anfibio. Con *R. arenarum* los experimentos se realizaron durante el día. Antes del experimento se pasaron los sapos a un recipiente de iguales dimensiones sin arena para mejor visualización de las hormigas, el cual se ubicó dentro de una caja marrón de cartón para mayor tranquilidad del individuo, y se esperaron cinco minutos de aclimatación. Todos los individuos ayunaron el día antes del test, e inmediatamente de finalizada la prueba experimental se alimentaron normalmente.

Se llevaron a cabo pruebas piloto, con individuos no utilizados para el experimento, en las que se observó ataque por parte de las hormigas hacia los anfibios. A partir de estas observaciones inesperadas, se decidió incorporar al experimento la evaluación de dichos ataques en relación al consumo de hormigas. De esta forma, se anotó si hubo o no agresión y, en su caso, los ataques se clasificaron en dos niveles, leve y grave, dependiendo del tipo de hormiga y de la naturaleza de su ataque, ya fuera físico (mordedura) y/o químico (inyección o depósito de veneno). Cuando un anfibio sufría un ataque grave, el test se detenía inmediatamente para evitar daños mayores. Se clasificaron los ataques para cada hormiga de la siguiente manera:

Pheidole: Ataque físico.

Nivel 1 (ataque leve): Cuando el anfibio es atacado por al menos una hormiga.

Nivel 2 (ataque grave, detención del test): Cuando es atacado por tres o más hormigas (debido a que se observó que la mordedura de estas hormigas era muy fuerte, el juvenil no se las podía quitar por sí mismo). Si el individuo es atacado por una hormiga soldado se contabiliza como dos hormigas, ya que al ser más grandes sus mandíbulas se asumió que el daño podría ser mayor.

Solenopsis: Ataque físico y químico (inyección de veneno).

Nivel 1 (ataque leve): Cuando el anfibio es atacado por al menos una hormiga, independientemente de la naturaleza del ataque.

Nivel 2 (ataque grave, detención del test): Cuando es atacado por tres o más hormigas en ataque sólo físico, o bien por dos o más hormigas cuando el ataque incluye la posibilidad de inyección de veneno, lo cual se puede apreciar cuando la hormiga curva el gáster hacia el anfibio. Si el individuo es atacado por una hormiga soldado se contabiliza como dos hormigas, ya que al ser más grandes se asumió que el daño podría ser mayor.

Linepithema humile: Ataque físico

En las pruebas piloto no se reportaron ataques físicos. A pesar de que esta especie también utiliza defensas químicas con juveniles de anfibios (Alvarez-Blanco *et al.* 2020), dichos ataques no se tuvieron en cuenta por su difícil apreciación visual, ya que no inyecta veneno con aguijón sino que lo deposita al desplazarse (obs. pers.). Por este motivo se siguió la clasificación como *Pheidole*:

Nivel 1 (ataque leve): Cuando el individuo es atacado físicamente por al menos una hormiga.

Nivel 2 (ataque grave, detención del test): Cuando es atacado por tres o más hormigas.

Los experimentos fueron aprobados por la Comisión de Ética en el Uso de Animales (CEUA) de la Facultad de Ciencias. Protocolo número 391 titulado “*Técnica para el estudio de preferencia alimentaria en anfibios mirmecófagos*”, responsable Dr. Raúl Maneyro. Los ejemplares de anfibios fueron colectados con el tutor, quien tiene Permiso de Colecta expedido por la autoridad correspondiente.

Análisis de datos

Los sapos no llegaron a comer el número mínimo necesario de hormigas para realizar un análisis estadístico robusto y, debido al acotado número de individuos disponible, no se pudo repetir el experimento. Por tanto, se realizó un análisis descriptivo de los resultados.

Para estimar la preferencia de los anfibios por los distintos tipos de hormiga y descartar una posible influencia de ataques previos en la posterior ingesta del individuo, se tuvieron en cuenta únicamente los resultados del primer test (*día 1*) de cada individuo. Debido a la presentación al azar del orden de los tratamientos de hormiga, los individuos no realizaron el test con los diferentes tratamientos de forma equitativa (*R. arenarum*: 3 LH, 3 F, 4 S; *O. americanus*: 2 LH, 4 F, 4 S). De esta manera, para estimar la preferencia de presa, se procedió a calcular el porcentaje de los individuos que ingirieron hormigas de cada uno de los tratamientos de hormiga (LH, F y S), con respecto al total de los individuos que realizaron cada tratamiento (porcentaje de ingesta).

Para analizar la relación entre los ataques y la ingesta posterior de hormigas se tuvieron en cuenta todos los test. Para cada especie de anfibio se compararon los porcentajes de ingesta de los individuos que fueron atacados al menos una vez en test previos, con los porcentajes de ingesta de los no atacados previamente. Al haber realizado cada anfibio 3 test se procedió de la siguiente manera: de los individuos atacados en su primer test (*día 1*), se calculó el porcentaje que ingirió hormigas en el test siguiente (ITS = Ingesta en Test Siguiente), que corresponde a la ingesta del *día 2*, lo mismo con la ITS de los no atacados en su primer test;

de los individuos atacados en el segundo test (*día 2*) más los individuos atacados previamente (*día 1*), se calculó la ITS que corresponde a la ingesta del *día 3*, lo mismo con la ITS de los no atacados en ese test ni previamente (Figura 1).

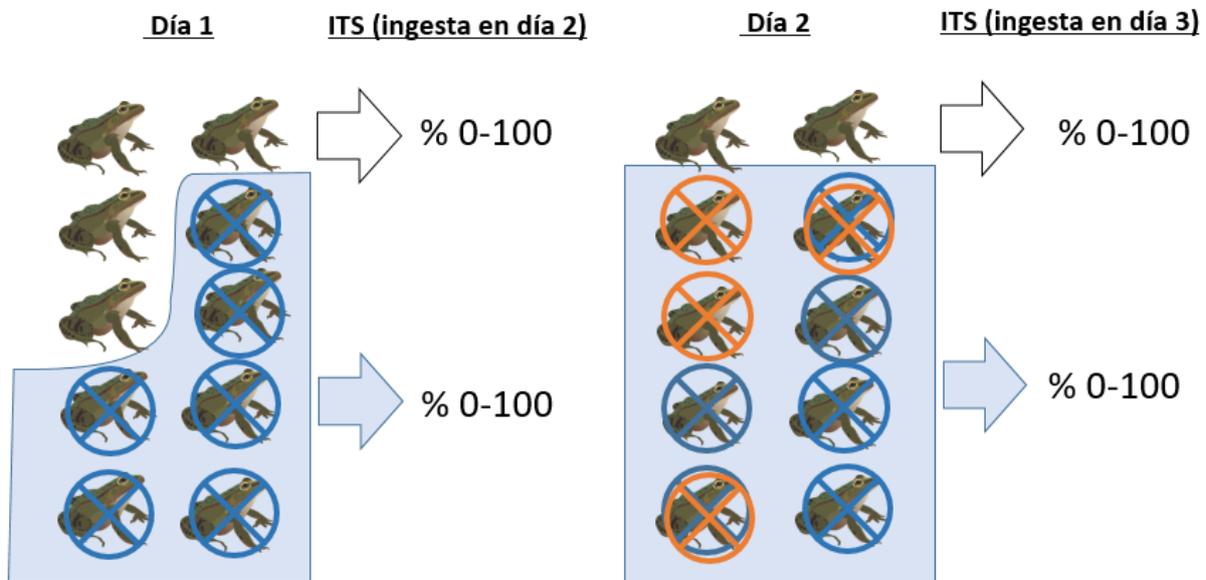


Figura 1. Representación esquemática del análisis relacionando los ataques de las hormigas hacia los anfibios con la ingesta posterior de hormigas (ITS = Ingesta en Test Siguiente). Día 1: no atacados (sin seleccionar), atacados (cruz azul). Día 2: nunca atacados (sin seleccionar), atacados acumulados del día 1 y día 2 (cruz azul y cruz naranja, respectivamente).

RESULTADOS

Preferencia de presa

El 60% de individuos naif de *Rhinella arenarum* consumieron hormigas en el *día 1*, sumando un total de 18. De todos los individuos testados, tres realizaron el test con *Linepithema humile*, también tres lo hicieron con *Pheidole sp.* y cuatro con *Solenopsis sp.*. El porcentaje de ingesta (anfibios que consumieron hormigas de los que realizaron cada tratamiento) fue mayor para *Pheidole sp.* y *Linepithema humile* que para *Solenopsis sp.* (66.7%; 66,7% y 50%, respectivamente). Teniendo en cuenta que consumieron hormigas dos individuos por cada tratamiento de hormiga, ingirieron mayor número de hormigas de *Pheidole sp.* (10), seguido de *L. humile* (6) y, por último, *Solenopsis sp.* (2) (Figura 2).

En el primer test el 40% de anfibios *Odontophrynus americanus* consumieron un total de 13 hormigas. De todos los testados, dos individuos hicieron el test con *Linepithema humile*, cuatro realizaron el test con *Pheidole sp.* y cuatro con *Solenopsis sp.*. El 75% de los anfibios a los que se les presentaron hormigas *Pheidole sp.* comieron al menos una; en el caso de *L. humile* el porcentaje de ingesta fue menor (50%) y el de *Solenopsis sp.* fue de 0%. Respecto al número de hormigas ingeridas, la ingesta de *L. humile* no es comparable con el resto ya que se le presentaron a menos individuos, en cambio se pueden comparar *Pheidole sp.* y

Solenopsis sp. (4 individuos para cada tratamiento) resultando una mayor ingesta de *Pheidole sp.* (12) frente a *Solenopsis sp.* que no fue consumida por ningún individuo (Figura 1).

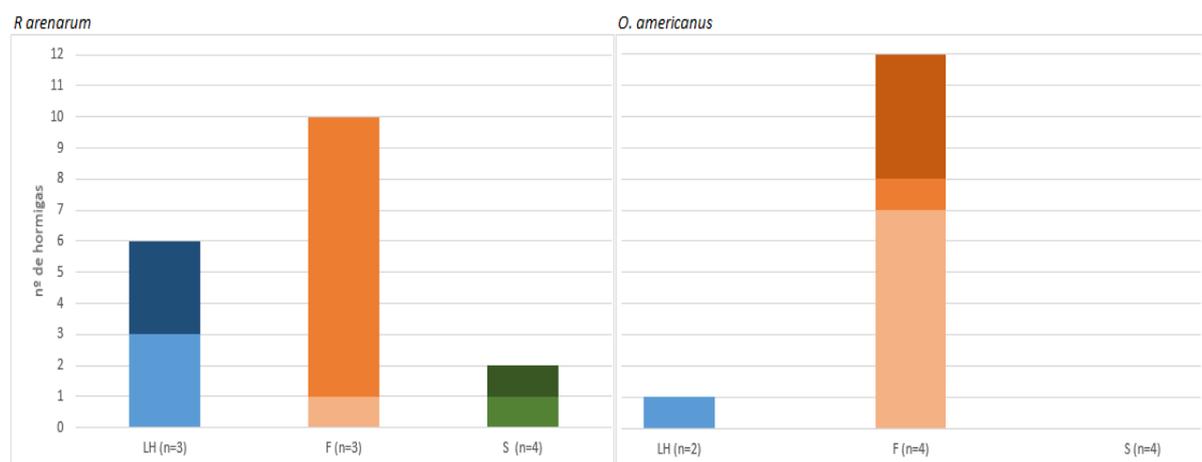


Figura 2. Número de hormigas ingeridas de *Linepithema humile* (LH), *Pheidole* (F) y *Solenopsis* (S) por los anfibios en el día 1. Se representa el número de anfibios que realizó cada tratamiento (n) y el número de anfibios que consumió hormigas de cada tratamiento (cada tonalidad de color representa un anfibio diferente). Para *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*.

Ataques

En el primer día, siete individuos *Rhinella arenarum* fueron atacados, de ellos el 57% comió hormigas en ese test, pero ninguno comió en su test siguiente (ITS = 0%), mientras que de los tres no atacados el 33.3% ingirió hormigas en su test siguiente (Tabla 1), por lo que su ingesta en el test siguiente (ITS) es mayor que la de los individuos atacados. En el segundo día la ITS de los individuos atacados y atacados previamente fue de 11.1%, el único individuo no atacado previamente no comió (ITS = 0%) (Tabla 1), en este caso, la ITS de los atacados es mayor que de los individuos no atacados. Igualmente, al considerar únicamente los individuos que ingirieron hormigas (ITS>0%), la ITS de los no atacados es mayor que la ITS de los atacados (33% y 11%, respectivamente) (Tabla 1); a su vez, se destaca que, inicialmente en el día 1 más de la mitad de los individuos testados comieron hormigas, y que de todos los atacados en ese día ninguno comió hormigas en sus dos test siguientes (Tabla 2).

Por otra parte, cuatro individuos *Odontophrynus americanus* fueron atacados el día 1, de ellos el 75% comió hormigas en ese test, y 25% comió hormigas en su siguiente test; mientras que de los seis no atacados, el 50% comió hormigas en su siguiente test (Tabla 1), por lo que su ITS es mayor que el de los individuos atacados. De los siete con ataques acumulados en el día 1 y 2 el 14.3% comió hormigas en su siguiente test (día 3), mientras que de los tres no atacados el 33.3% comió hormigas (Tabla 1); siendo también su ITS mayor que de los individuos atacados. El único individuo que no fue atacado en ningún test fue el que comió más hormigas en total (12) (Tabla 2).

Tabla 1. Número de anfibios (n anf) atacados y no atacados en cada día de test "1" y "2", y su ingesta en el test siguiente "ITS" expresada en porcentaje. Para *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*.

		<i>R. arenarum</i>		<i>O. americanus</i>	
		n anf	ITS	n anf	ITS
<i>Día 1</i>	Atacados	7	0%	4	25%
	No atacados	3	33.3%	6	50%
<i>Día 2</i>	Atacados prev.	9	11.1%	7	14.3%
	No atacados	1	0%	3	33.3%

Tabla 2. Ataques recibidos y número de hormigas ingeridas (n hor.) por cada individuo "ID anfibio" en cada día de test "1" "2" y "3". Clasificación de ataques: "-" no atacado; "X" atacado leve; "XX" atacado grave (se detuvo el test) y "(-)" no atacado en ese test, pero atacado en test anteriores. Para *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*.

ID anfibio	<i>Día 1</i>		<i>Día 2</i>		<i>Día 3</i>	
	n hor.	Ataques	n hor.	Ataques	n hor.	Ataques
<i>R. arenarum</i>						
R65	3	-	1	XX	4	XX
R66	3	-	0	-	0	XX
R68	0	-	0	XX	0	(-)
R70	9	X	0	(-)	0	XX
R67	1	X	0	(-)	0	XX
R78	1	X	0	(-)	0	XX
R75	1	XX	0	XX	0	(-)
R60	0	XX	0	XX	0	(-)
R71	0	XX	0	(-)	0	XX
R77	0	XX	0	(-)	0	XX
<i>O. americanus</i>						
O14	1	-	0	-	0	X
O6	0	-	9	-	3	-
O3	0	-	1	-	0	X
O13	0	-	1	X	1	(-)
O9	0	-	0	X	0	(-)
O4	0	-	0	X	0	X
O5	7	X	0	X	0	(-)
O11	4	X	0	(-)	0	(-)
O10	1	X	1	(-)	0	(-)
O12	0	X	0	X	0	(-)

Todos los individuos de *R. arenarum* fueron atacados de forma grave al menos una vez (Tabla 2), hubo ataques en el 60% de los test por parte de *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.*, pero no de

L. humile. *Pheidole* sp. atacó en todas las pruebas que realizó (33.3%), donde la mayoría de los ataques fueron graves (26.7% de los test), *Solenopsis* sp. atacó en un 26.7% de las pruebas, donde también la mayoría de los ataques fueron graves (23.3%) (Tabla 3). En el caso de *O. americanus*, 9 de 10 individuos fueron atacados al menos una vez (tabla 2), hubo ataques leves en el 40% de los test, 30% por parte de *Pheidole* y por *Solenopsis* un 10%. No se reportaron ataques graves (Tabla 3).

Tabla 3. Pruebas donde hubo ataques en presencia de *Linepithema humile* (LH); *Pheidole* sp. (F) y *Solenopsis* sp. (S) expresado en porcentaje. Para *Rhinella arenarum* (R) y *Odontophrynus americanus* (O).

	LH		F		S		Total	
	R	O	R	O	R	O	R	O
No atacados	33.3	33.3	-	3.3	6.7	23.3	40.0	60.0
Atacados leve	-	-	6.7	30.0	3.3	10.0	10.0	40.0
Atacados grave	-	-	26.7	-	23.3	-	50.0	-

DISCUSIÓN

Preferencia de presa

En el estudio de la ingesta, en el que se tomaron los resultados del primer test, un mayor número de individuos *Rhinella arenarum* que de *Odontophrynus americanus* consumieron hormigas (60% y 40% respectivamente), lo cual puede deberse a que tanto los juveniles como los adultos de *R. arenarum* tienen mayor grado de especialización por las hormigas (Capítulo 1; Isacch & Barg, 2002; Quiroga *et al.* 2009). En cuanto a la preferencia, para *R. arenarum*, el mismo porcentaje de individuos consumieron hormigas *Pheidole* sp. y *Linepithema humile*, pero se consumió mayor número de *Pheidole* sp., por lo que se considera más preferida; por otro lado, la menos preferida fue *Solenopsis* sp. La tendencia es similar con *O. americanus*, *Pheidole* sp. fue la hormiga más preferida, seguido de *Linepithema humile* y, por último, *Solenopsis* sp. que no fue consumida por ningún individuo.

Los resultados de *Rhinella arenarum* y la hormiga *Linepithema humile* de este capítulo, siguen con la tendencia de lo encontrado en el estudio de dieta (Capítulo 1); dicho estudio fue realizado con individuos de colecciones, donde se desconoce la disponibilidad ambiental de presas, y con individuos colectados en trampas de caída, donde se pudo evaluar la disponibilidad ambiental. En el Cap. 1, el género *Linepithema* fue el segundo más consumido por *R. arenarum*, incluso fue la hormiga más seleccionada de las disponibles en el ambiente; si bien en ese capítulo no se identificó a nivel de especie, consultas con especialistas expresaron la posibilidad de que alguna fuera *L. humile* (ver punto II.1 del Apéndice II). Por el contrario, el mayor consumo de hormigas *Pheidole* sp., y el bajo de *Solenopsis* sp. por *R. arenarum* y *O. americanus* en este capítulo, no son consistentes con los resultados mostrados en el estudio de dieta (Cap. 1), donde el género *Solenopsis* fue uno de los más consumidos y *Pheidole* uno de los menos consumidos en la dieta de *R. arenarum*. Adicionalmente, en el estudio de la disponibilidad ambiental de presas, ninguna de las dos especies de anfibio consumió *Solenopsis* o *Pheidole* a pesar de la amplia disponibilidad. Si bien estos últimos resultados fueron tomados con precaución, ya que fue una muestra de estómagos relativamente baja, dió lugar al planteo de diversos escenarios. En dicho capítulo se hipotetizó

una posible mayor oferta ambiental de distintas hormigas en ese lugar (respecto a los sitios de colecciones), de forma que teniendo la posibilidad de elección los anfibios prefirieran otras hormigas; también se sugirieron motivos de diferencias espaciales y temporales en el encuentro del depredador con la presa.

En este capítulo la oferta ambiental para los anuros de estudio queda reducida a una especie de hormiga, y el encuentro con la presa está asegurado, esto refuerza la suposición (mencionada en *Cap. 1*) de que el consumo de estas hormigas por los anfibios pueda estar relacionado con las características especie-específicas de las presas, que la diferencian de otras especies del mismo género. Si bien existe la posibilidad de que los anfibios presenten una preferencia innata por una especie derivada de una historia co-evolutiva, la determinación de esta hipótesis es compleja, ya que no hay hasta el momento estudios que demuestren que los anuros son capaces de discernir entre diferentes especies, pero puede que distingan ciertos caracteres generalizados de las mismas (Ewert & Schwippert, 2006; McElroy & Donoso, 2019). Adicionalmente, cabe considerar que los juveniles de este capítulo fueron criados en cautiverio desde larvas y desde su metamorfosis se alimentaron exclusivamente de termitas, por lo que eran naif respecto a las hormigas ya que no habían tenido contacto previo con alguna. Se ha propuesto que la familiaridad con un tipo de presa influye en el comportamiento alimentario de los anfibios (Luthardt-Laimer, 1983; Dicke *et al.* 2011). De hecho, hay anuros que pueden disminuir su eficiencia de captura con una presa que no les es familiar (Dicke *et al.* 2011). En este sentido, en la primera interacción de estos juveniles con las hormigas, puede que las diferencias en su consumo tengan que ver con la capacidad innata de individuos con poca experiencia de detectar y capturar una presa diferente a la que estaban habituados (termitas), condicionado a su vez por las características especie-específicas de las hormigas; las cuales influyen tanto en su detectabilidad como en el comportamiento del anfibio durante la interacción e incluyen tanto aspectos morfológicos (color, forma, tamaño, textura) como comportamentales (patrones de movimiento, agregación, escondite, ataques).

Las tres hormigas de estudio difieren en sus características, tanto morfológicas como comportamentales, estas diferencias pueden explicar el mayor consumo de hormigas *Pheidole sp.*, intermedio de *Linepithema humile*, y escaso de *Solenopsis sp.* por los anfibios. Si bien en el diseño experimental no fue incluida la evaluación de los procesos de captura de los anfibios (detección, decisión de captura, éxito de captura, seguir alimentándose), se pueden hipotetizar las influencias de las características de dichas hormigas en estos procesos. Especialmente en la detección de la hormiga, su color, tamaño y movimiento juegan un rol importante (Duellman & Trueb, 1994; Suarez *et al.* 2000; Ewert & Schwippert, 2006; Alvarez-Blanco *et al.* 2017; McElroy & Donoso, 2019; Zlotnik *et al.* 2018), podría suponerse que a mayor contraste de la hormiga con el sustrato mayor es su detección. Sin embargo, en este caso, a pesar de que el color de *Solenopsis sp.* (negro) era más oscuro que el de *Pheidole sp.* (marrón rojizo) y *L. humile* (marrón oscuro/caramelo), ofreciendo un mayor contraste tanto con la arena (*O. americanus*) como con la caja de cartón (*R. arenarum*), fue la hormiga menos preferida para ambas especies de anfibio. Respecto al tamaño de la hormiga, en el caso de *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.* donde siendo de tamaño similar los anfibios prefirieron a *Pheidole sp.*, es difícil determinar su influencia, no solamente a nivel de detectabilidad, sino también a nivel de preferencia en función del potencial valor nutritivo relacionado al tamaño (Simon & Toft, 1991). Por otra parte, *L. humile* es de tamaño levemente menor que *Solenopsis sp.* y *Pheidole sp.* y a su vez es de movimientos más ágiles. El menor

tamaño puede hacer a esta hormiga menos detectable, en cambio su agilidad puede favorecer su detectabilidad, pero al mismo tiempo puede dificultar su captura por un anfibio naif. Este balance entre detectabilidad y dificultad de captura pudo haber propiciado la ingesta intermedia de esta especie por los anfibios de estudio. Suarez *et al.* (2000) sugieren que el tamaño y los patrones de movimiento de *L. humile* influyen negativamente en su detectabilidad por reptiles, sin embargo, Alvarez-Blanco *et al.* (2017) proponen que el tamaño y además el color de esta hormiga cumplen roles más importantes en anfibios. Cabe aclarar que estos estudios se realizaron dentro del rango invasor de esta hormiga, donde otros factores pueden intervenir.

Las hormigas *Solenopsis sp.* de este capítulo presentan particularidades, además de su color, tamaño y patrón de movimiento, que pudieron propiciar su bajo consumo por parte de las dos especies de anfibio. Al ser polimórficas integran la categoría de “fire ants”, por lo que son hormigas muy agresivas y con un veneno muy potente (Blum *et al.* 1958; Pitts *et al.* 2018). De las “fire ants” presentes en Uruguay (*Solenopsis quinquecuspis*, y *S. richteri*) hay una gran probabilidad que las usadas aquí sean *S. richteri* debido a su color negro (obs. pers.), una hormiga muy agresiva, invasora en otras partes del mundo (Lach *et al.* 2010; Pitts *et al.* 2018; GISD). En este sentido, el comportamiento agresivo de esta hormiga, evidenciado por los ataques hacia los juveniles en los experimentos, pudo haber inhibido el comportamiento de captura del anfibio (Rissing, 1981; Ewert & Schwippert, 2006). Al tratarse de individuos naif, incluso antes de ser atacados, es posible que los anfibios puedan distinguir una presa potencialmente peligrosa, ya sea visualmente, o químicamente como sugiere Long *et al.* (2015) con la hormiga invasora *S. invicta*. Por otra parte, se registraron casos de experimentos de apetencia donde se consumen hormigas del grupo “fire ants”. El anfibio mirmecofago *E. bicolor* acepta a la hormiga *S. saevissima* (Solé *et al.* 2002), aunque los aspectos comportamentales de la hormiga quedan fuera de contexto, ya que se les presentó sólo una presa sujeta con fórceps. También ciertas lagartijas aumentan el consumo de la hormiga invasora *S. invicta* cuanto mayor era su exposición a la misma (Herr *et al.* 2016).

Otro aspecto a considerar es la posibilidad de que las pistas químicas de las hormigas influyan tanto en su detección y reconocimiento como en su palatabilidad. Existe evidencia de reconocimiento químico de predadores y presas por parte de anfibios (Dole *et al.* 1981; Duellman & Trueb, 1994; Stebbins & Cohen, 1997; Li *et al.* 2011; Long *et al.* 2015), Stebbins & Cohen, (1997) destacan especialmente que este reconocimiento adquiere mayor relevancia bajo condiciones de baja luminosidad. Esto puede ser importante en el caso de *O. americanus* en el que se realizaron los experimentos en la oscuridad por presentar hábitos nocturnos. Las hormigas del género *Pheidole* si bien presentan aguijón reducido, pueden liberar químicos para reclutamiento (Wilson, 2003), que los anfibios pueden reconocer, o bien puede que les agrade su composición más que a las otras dos especies de hormiga. *Linepithema humile* posee en su veneno una gran diversidad de compuestos, entre ellos destaca la iridomirmicina (Pavan, 1948; Cavill & Houghton, 1974), que resulta tóxica para ciertas especies de anuros de su rango invasor (Alvarez-Blanco *et al.* 2020) y también nativo (obs. pers.), por lo que es probable que les genere a los anfibios inconformidad intermedia. Por otro lado, el potente veneno de *Solenopsis* puede resultarles a los anfibios especialmente desagradable, incluso tóxico, y esto puede influir además en la decisión de seguir alimentándose (Suboski, 1992; Suarez *et al.* 2000) y hasta pueden expulsar el alimento (Suboski, 1992). El hecho de que los individuos que consumieron hormigas *Solenopsis sp.* hayan ingerido sólo una apoya esta

suposición; de hecho, se documentó que un individuo *R. arenarum* expulsó una durante un test luego de capturarla.

Respecto al éxito de captura del anfibio, puede que influyan la escultura o pilosidad de la hormiga, McElroy & Donoso (2019) proponen que la presencia de estos atributos en la presa favorece la adhesión a la lengua del anfibio. Las hormigas del género *Pheidole* y *Solenopsis* presentes en Uruguay poseen pilosidad de densidad variable, *L. humile* en cambio, presenta pilosidad escasa; las hormigas *Pheidole* también presentan espinas propodeales, las cuales están ausentes en *Solenopsis* y *L. humile*. Puede que la especie *Pheidole* sp. de este capítulo sea más pilosa que *Solenopsis* sp., y aun teniendo pilosidad similar, la presencia de espinas en *Pheidole* sp. le puede aportar estructuras que favorezcan el éxito de captura de los anfibios. Por otro lado, la defensa antidepredador de la hormiga puede influir negativamente en el éxito de captura, como es la agresividad o la evasión; algunas presas pueden aumentar su ritmo de actividad como respuesta evasiva a un depredador (Lima & Dill, 1990). Muchas hormigas muestran este comportamiento al ser molestados sus nidos (obs. pers.), esta agilidad frente a un anfibio naif puede dificultarle la captura, como es sugerido en el caso de *L. humile* en esta sección.

La comparación entre *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus* respecto del consumo de las diferentes hormigas resulta compleja, debido a que en el primer test se les presentó cada tratamiento de hormiga (LH; F; S) a un número desigual de anfibios de cada especie (e.g. dos individuos de *R. arenarum* realizaron el test con *L. humile*, mientras de *O. americanus* lo hicieron tres). Igualmente se destacan algunos resultados. *Rhinella arenarum* consumió las tres especies de hormiga presentadas, *O. americanus* en cambio, consumió dos (LH y F). Esta diferencia puede deberse a que tanto adultos como juveniles de *R. arenarum* son más especialistas en hormigas (Capítulo 1; Isacch & Barg, 2002; Quiroga *et al.* 2009), las encuentren como una presa más atractiva, y pueden poseer una mayor tolerancia innata al veneno de presas tóxicas como *Solenopsis* sp., o realizar un mejor manejo de su agresividad. Se ha documentado que muchos depredadores especialistas desarrollan tolerancia al veneno de las hormigas para poder consumirlas (Schmidt *et al.* 1989; Santos *et al.* 2016; Tarvin *et al.* 2016) o presentan adaptaciones para evitar ser heridos (Pekár, 2004; Sherbrooke & Schwenk, 2008; Solé & Loebmann, 2017). Por otra parte, *O. americanus* destaca por presentar mayor porcentaje de ingesta de hormigas *Pheidole* sp. que de *L. humile*. Puede ser que prefiera a *Pheidole* sp. por ser de tamaño mayor, ya que se encontró en esta especie una tendencia al consumo de hormigas grandes (Capítulo 1). Adicionalmente, *O. americanus* en su ambiente natural no consume hormigas del género *Linepithema* aun habiendo disponibles en el ambiente (Cap. 1), sugiriendo una baja preferencia por esta hormiga.

Ataques

Para inferir una posible relación entre los ataques de las hormigas y su influencia en la posterior ingesta de los anfibios, en primer lugar, cabe discutir el alcance de la capacidad de aprendizaje de los anfibios, particularmente el aprendizaje por experiencias negativas con el alimento. Muchos estudios apoyan la capacidad de los anfibios de cierto nivel de aprendizaje y retención de información, tanto del punto de vista ecológico-comportamental (Dole *et al.* 1981; Woody & Mathis, 1998; Murray *et al.* 2004; Daneri *et al.* 2007; Epp & Gabor, 2008;

Dicke *et al.* 2011), como neurológico (Finkenstädt, 1989; Ewert & Schwippert, 2006; Laberge *et al.* 2006), aunque no comprende todos los tipos de aprendizaje, sobre todo los relacionados a emociones complejas (Laberge *et al.* 2006; Muzio *et al.* 2011). Respecto a experiencias negativas con el alimento que pueden generar un comportamiento aversivo, se encuentra ampliamente aceptado en reptiles (Desfilis & Font, 2002; Paradis & Cabanac, 2004; Ward-Fear *et al.* 2017), pero en anfibios ha sido controversial. Brower *et al.* (1960) encontraron en anfibios relación entre el consumo de una presa peligrosa y su posterior aversión hacia esa presa, de la misma forma que Brzoska & Schneider (1978), Mikulka *et al.* (1981) y To & Laberge (2014) lo hicieron con presas vinculadas a químicos nocivos; contrariamente, Paradis & Cabanac (2004) encontraron dicha relación en reptiles, pero no en anfibios. En este último caso cabe destacar que realizaron los experimentos en las mismas condiciones para ambos grupos, lo cual puede sesgar los resultados, ya que los mecanismos subyacentes de aprendizaje pueden variar entre diferentes grupos (Papini, 2002).

Con *Rhinella arenarum* resulta difícil determinar la existencia de una relación entre los ataques y la baja ingesta de hormigas en los test siguientes (ITS), debido a la ambigüedad de los resultados. Por un lado, cabe considerar que en el segundo test la mayor ITS de los atacados corresponde a un único individuo (de nueve) que ingirió hormigas en su siguiente test, contra el único individuo que no fue atacado anteriormente que no comió en el test siguiente (Tabla 2). Por otro lado, al considerar los anfibios que sí ingirieron hormigas, un mayor porcentaje de individuos las consumió en sus test siguientes del grupo de los no atacados (Tabla 1). Por último, la mayoría de los atacados en el primer test inicialmente consumieron hormigas, pero ninguno de ellos ingirió hormigas en sus dos test siguientes (Tabla 2), lo cual puede indicar que inicialmente son capaces de consumir hormigas, pero luego de ser atacados, no lo hacen. En el caso de *Odontophrynus americanus* la relación es más clara, los individuos que fueron atacados disminuyeron su ingesta de hormigas en los sucesivos test, a su vez, tanto en el primer test como en el segundo, la ingesta posterior de hormigas de los no atacados fue superior a la de los individuos atacados.

En balance, la tendencia indica que los ataques de las hormigas pueden afectar negativamente su ingesta posterior por parte de las dos especies de anfibios juveniles, aunque en mayor medida en *O. americanus*. En experimentos con abejas y anfibios, los anfibios que fueron picados aprendieron a rechazarlas, incluso rechazaban presas imitadoras de estas abejas (Brower & Brower, 1962). De forma similar, en este capítulo los anfibios disminuyeron el consumo de hormigas diferentes a la especie que causó los ataques, lo que induce la suposición de que una mala experiencia con una especie de hormiga puede llevar al rechazo de las hormigas en general. Se descarta la posibilidad que no tuvieran hambre, ya que luego de los test fueron alimentados e ingirieron termitas normalmente. Igualmente, se parte de un número de individuos muy bajo para realizar afirmaciones certeras, donde pueden influir las variaciones individuales de los anfibios, tanto a nivel de preferencia por un tipo de presa (Rissing, 1981; da Rosa *et al.* 2011), como de velocidad aprendizaje frente a experiencias negativas (Dicke *et al.* 2011; To & Laberge, 2014). Alguno de estos elementos pudo haber influido en el caso de los individuos que fueron atacados e ingirieron hormigas en su test siguiente (Tabla 2). Otra alternativa para estos individuos, y en particular para los que no tuvieron una mala primera experiencia con las hormigas en su primer test (Tabla 2), es que pudieron encontrarse más preparados en sus siguientes interacciones con las hormigas a pesar de los ataques. Cabe considerar, a su vez, que esta fue la primera interacción de los juveniles con las hormigas, estaban habituados a una experiencia estable con las termitas

por lo que experiencias negativas con una presa que no les es familiar pudo haber favorecido la aversión a las hormigas por parte de los anfibios. Similar interpretación sugiere Dicke *et al.* (2011), donde comparan en anfibios el efecto de un estímulo negativo en la captura de una presa familiar y una no familiar, encontrando una mayor baja en la captura cuando se trataba de una presa no familiar. De todas formas, harían falta más estudios que evalúen la reacción de los juveniles frente a la misma especie de hormiga y su consumo, mediante sucesivas repeticiones, como los realizados por Robbins *et al.* (2013) y Herr *et al.* (2016).

Respecto a los ataques de las hormigas hacia los juveniles, dos circunstancias pudieron haberlos propiciado; en primer lugar, la imposibilidad de escape de las hormigas debido a las condiciones de encierro, ya que muchos insectos optan por el ataque cuando no pueden escapar (Schmidt, 2009). En segundo lugar, la cantidad de hormigas presentadas (10) pudo haber fortalecido el ataque grupal, ya que al ser insectos sociales pueden comunicarse y coordinar los ataques (Hölldobler & Wilson, 2009; Schmidt, 2009). En experimentos de preferencia de presa, con hormigas y lagartos Rissing, (1981) sugiere que evitaban depredar hormigas agresivas, especialmente porque atacaban en grupo. La presencia de los soldados “mayor” en el caso de *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.* pudo potenciar la agresividad de los ataques, ya que una de las funciones de esta casta es la defensa (Hölldobler & Wilson, 2009). Los soldados del género *Pheidole* están especialmente adaptados para la defensa, tanto desde el punto de vista comportamental como morfológico, por lo que poseen además mandíbulas muy potentes (Feener, 1987); esto se ve reflejado en los resultados del experimento, ya que fue la hormiga con más ataques reportados. Adicionalmente, también puede influir el comportamiento del anfibio en la agresividad de la hormiga. Los individuos de *R. arenarum* mostraron un comportamiento con movimientos acelerados (obs. pers), lo que puede explicar la mayor cantidad de ataques hacia esta especie, porque puede que la perciban más amenazante. Por otro lado, los individuos de *O. americanus* se mostraron menos agitados (obs. pers), y muchos se enterraron parcialmente durante el experimento. Tal vez ese comportamiento resulte menos amenazante para las hormigas, ya que fue la especie menos atacada y no recibió ataques graves.

Conclusiones

Si bien no se descarta una posible influencia de las condiciones de cautividad y el estrés por manipulación, y a pesar de los pocos datos para hacer inferencias robustas, los resultados indican que bajo las condiciones controladas de este experimento, hay una tendencia de los juveniles de *Rhinella arenarum* a consumir mayor número y diversidad de hormigas que *Odontophrynus americanus*, en concordancia con su mayor especialización en hormigas (Capítulo 1). Adicionalmente, ambas especies de anfibio mostraron una preferencia innata por *Pheidole sp.*, intermedia por *L. humile*, y muy baja (o nula en el caso de *O. americanus*) por *Solenopsis sp.* A su vez, los ataques de las hormigas inciden negativamente en el posterior consumo de las mismas, independientemente de la especie que se les presente. Si bien *Pheidole sp.* fue la hormiga más agresiva, también fue la más consumida, esto indica que el ataque mecánico puede influir en menor medida que un ataque químico en la preferencia del anfibio. El potente veneno de *Solenopsis sp.* puede implicar mayor riesgo de letalidad para los juveniles, o bien puede traer consecuencias a largo plazo, hasta el punto de que es posible que la reconozcan innatamente como peligrosa, ya que fue la menos

preferida por los juveniles naif de ambas especies. Se descarta la opción de una preferencia por tamaño entre *Pheidole sp.* y *Solenopsis sp.* ya que son ambas especies de tamaño similar, aunque puede que los anfibios posean un umbral de tamaño donde reconozcan una presa nutritiva, pero esto se vea inhibido por la potencial toxicidad o mala palatabilidad de *Solenopsis sp.*. Por otra parte, en el caso de *Linepithema humile*, el tamaño, así como la agilidad pueden cumplir un rol más importante en el consumo intermedio de esta especie, afectando en distinta medida su detectabilidad y dificultad de captura; también puede que su sabor sea poco agradable, por poseer cierto grado de toxicidad. Este capítulo pone de manifiesto la necesidad de estudios que evalúen la respuesta del anfibio en los distintos procesos de captura (detección, elección de captura, éxito de captura), y la influencia de las características morfológicas y comportamentales de las hormigas en cada uno de estos procesos;

Los juveniles de *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus* pueden reconocer de forma innata a las hormigas como presa, y parecen diferenciar los distintos tipos de hormiga ya que no las consumen por igual. De todas formas, persiste la duda si el anfibio es capaz de reconocer aspectos generalizados (morfológicos, químicos, o comportamentales) de la especie que inciden en su comportamiento depredador y preferencia alimentaria, o bien que evolutivamente pueda reconocer a la especie, por compartir una historia co-evolutiva. Igualmente, este comportamiento innato puede verse modificado por la experiencia. Es importante distinguir entre estos componentes al momento de diseñar próximas investigaciones, así como la identificación de las presas a nivel de especie, o morfoespecie; se podría, por ejemplo, realizar estudios de preferencia donde se le presenten a los anfibios hormigas de distintos géneros al mismo tiempo, o distintas especies pertenecientes al mismo género, o bien distintas especies que presenten morfología similar. Adicionalmente, se destaca la relevancia del estudio del comportamiento de aprendizaje en anfibios juveniles.

DISCUSIÓN GENERAL

En ambos capítulos se pudieron evaluar diversos aspectos de la ecología trófica de ejemplares juveniles de *Rhinella arenarum* y *Odontophrynus americanus*. En el *Capítulo 1* se describió la dieta en general de individuos capturados en la naturaleza, con especial enfoque en el objeto de estudio: las hormigas, las cuales fueron identificadas hasta nivel de género. En el *Capítulo 2*, mediante experimentos de apetencia con individuos criados en cautiverio desde larvas, se focalizó el estudio en tres especies de hormigas pertenecientes a diferentes géneros como presa potencial, donde se observó lo que sucede en la primera interacción de los juveniles naif con las hormigas, y en sus siguientes interacciones. En la dieta de los juveniles de *O. americanus*, Isopoda fue la unidad taxonómica más representativa, seguido de Coleoptera y Larvas. *Rhinella arenarum*, consumió principalmente hormigas y secundariamente ácaros. Se encontraron diferencias en la composición de la dieta entre ambas especies y en la diversidad de presas, *O. americanus* presentó una dieta más diversa, generalista, también resultaron de mayor tamaño, y consumieron un volumen y largo de presas superior. Hubo asociación positiva entre el tamaño y el volumen de presa consumido únicamente en *O. americanus*. Por otro lado, *Rhinella arenarum* resultó en una posición intermedia dentro del espectro especialista-generalista. De las presas disponibles en el ambiente, *O. americanus* prefirió larvas, mientras que *R. arenarum* prefirió ácaros.

En relación a la incidencia de las hormigas en la composición de la dieta de los juveniles, tanto experimentalmente como en la naturaleza, ambas especies las consumen, pero en diferente proporción. *Rhinella arenarum* consumió mayor número y diversidad resultando más especialista, mientras que *O. americanus* las consumió de forma oportunista. En los experimentos de apetencia los juveniles naif fueron atacados por *Solenopsis sp.* y *Pheidole sp.*, propiciando aversión por las hormigas en los test posteriores. Las especies no consumen los diferentes géneros de hormigas en igual proporción, incluso con la misma oferta ambiental o presentándoles en el laboratorio las mismas especies. *Rhinella arenarum*, tanto en la naturaleza como de forma experimental presentó un consumo intermedio del género *Linepithema*; en cuanto a los géneros *Pheidole* y *Solenopsis*, cuando se ofertaron experimentalmente prefirió al primero y evadió al segundo, mientras que en su dieta prefirió a *Solenopsis* y su consumo de *Pheidole* fue escaso. En el caso de *O. americanus*, en el estudio de apetencia prefirió a *Pheidole* en primer lugar, en segundo lugar a *Linepithema* y evitó a *Solenopsis*; mientras que en su dieta, no presentó a la hormiga *Linepithema*, y consumió una sola hormiga del género *Pheidole* y una sola *Solenopsis*, lo cual evidencia su comportamiento oportunista.

Las diferencias en el consumo de los distintos géneros de hormiga entre el estudio de dieta y el experimental pueden tener diversas explicaciones, debido a las distintas aproximaciones metodológicas. Por un lado, los individuos de dieta fueron capturados de la naturaleza, donde actúan los factores ambientales y las fluctuaciones espaciales y temporales de la presa, especialmente los momentos de actividad diaria de los anfibios pueden diferir con el de las distintas especies de hormigas incluso dentro de un mismo género; estos factores pueden influir en el encuentro con la presa. Por otro lado, se ha documentado que los anfibios poseen la capacidad de modificar y hasta mejorar el comportamiento de captura mediante la experiencia (Brzoska & Schneider, 1978; Ewert & Schwippert, 2006; Alvarez-Blanco *et al.*

2017); en el caso de presas agresivas estudios con anfibios y reptiles indican que a mayor exposición a hormigas agresivas los depredadores aumentan el consumo (Robbins *et al.* 2013; Herr *et al.* 2016; Alvarez-Blanco *et al.* 2017). En este sentido, es posible que los juveniles naif de los experimentos no llegaran a adquirir la experiencia necesaria para el consumo de los diferentes tipos de hormigas, y tampoco para enfrentarse a sus mecanismos de defensa. En su ambiente natural en cambio, los juveniles se encuentran con una amplia variedad de presas, incluidas las hormigas, por lo que pudieron obtener experiencia y aprendizaje en capturar y manipular diversos tipos de presas. *R. arenarum*, como buscador activo (Cap. 1), puede que cuente además con otro comportamiento de aproximación, como por ejemplo que se posicione estratégicamente en un camino de hormigas de manera que evite los ataques, o bien, pueda distanciarse. En el caso de *O. americanus*, si bien posee una dieta generalista (Cap. 1), experimentalmente no consume a todos los tipos de hormiga por igual, sugiriendo cierto grado innato de preferencia, posiblemente por ciertas características generales de las hormigas, o bien puede que evite presas tóxicas como las del grupo “fire ants” (Cap. 2). Teniendo en cuenta a su vez que la experiencia con un tipo de presa cumple un rol más importante en depredadores generalistas (Desfilis & Font, 2002), puede que para *O. americanus* los efectos de experiencias negativas con hormigas (Cap. 2) sean más decisivos que para *R. arenarum*. Esta idea puede aplicarse en las condiciones naturales, donde los generalistas tienen la oportunidad de alimentarse de una amplia variedad de presas menos agresivas y más nutritivas que las hormigas.

Una explicación posible del consumo inconsistente de los géneros *Solenopsis* y *Pheidole* es que no se identificaron hasta nivel de especie, donde puede ocurrir la elección. Dichos géneros presentan una gran variedad intraespecífica que pudo influir en el comportamiento alimentario de los juveniles. Las especies de *Pheidole* descritas para Uruguay (AntWeb) pertenecen a tres diferentes grupos, que difieren tanto en pilosidad, como escultura, color, tamaño y comportamiento (Wilson, 2003; Pie & Traniello, 2007): el grupo fallax (*Pheidole bergi*, *P. industa* y *P. susannae*), de tamaño mediano poseen obreras super major, tienen pilosidad densa, y gran reticulación; el grupo aberrans (*P. cavifrons*), es de tamaño intermedio; y el grupo flavens (*P. obtusopilosa*) es de tamaño pequeño (Wilson, 2003). A su vez, se ha documentado que las especies de *Pheidole* difieren en su composición química (Ali *et al.* 2007). Estas características pueden afectar su detectabilidad, palatabilidad, y éxito de captura por parte del anfibio, así como la preferencia por uno o varios caracteres. En Uruguay, hay especies del género *Solenopsis* con obreras polimórficas (*S. richteri* y *S. quinquecupis*) y monomórficas (*S. metanotalis* y *S. emiliae*) (AntWeb, 2020). Las especies polimórficas, conocidas como “fire ants”, son muy agresivas y presentan un veneno muy potente (Blum *et al.* 1958; Pitts *et al.* 2018), por lo que posiblemente los juveniles no las prefirieron en los experimentos de apetencia. Paralelamente, es posible que las hormigas *Solenopsis* del Cap. 1 sean monomórficas, o bien puede que los juveniles se hayan adaptado a manipular hormigas agresivas en su ambiente natural. Por otra parte, en el caso del género *Linepithema*, puede que la baja diversidad y variedad inter-específica del género explique los resultados consistentes entre los capítulos. Esto queda particularmente evidenciado con la similaridad en tamaño y forma de las especies presentes en Uruguay, *L. humile* y *L. micans* (AntWeb, 2020), la diferencia entre ellas reside en detalles morfológicos muy específicos, por lo que muchas veces se confunde su identificación (Wild, 2007); apoyando esta suposición, los juveniles de *R. arenarum* en este trabajo, son capaces de consumir hormigas de las dos especies (ver punto II.1 del Apéndice II).

En cuanto a los procesos que inciden en el consumo de las distintas hormigas, teniendo en cuenta ambos capítulos, se plantea que innatamente en condiciones controladas de laboratorio los anfibios juveniles prefieren cierto tipo de hormigas. Aunque aún queda por saber si seleccionan (o evitan) una especie en particular por haber compartido una historia evolutiva (Caldwell, 1996; Abrams, 2000), o bien si prefieren (o evitan) ciertos atributos generalizados de las hormigas (McElroy & Donoso, 2019). Sin embargo, estas preferencias innatas pueden modificarse en su ambiente natural, donde los anfibios se encuentran sometidos a presiones externas, bajo la influencia de una gran variedad de factores ambientales y cambios en la disponibilidad de presas, y donde también pueden adquirir experiencia al enfrentarse con diversas presas (Desfilis & Font, 2002). Probablemente estas modificaciones sean más evidentes en el caso de depredadores generalistas, ya que en los especialistas, si bien presentan plasticidad, las fuerzas evolutivas pueden tener más peso (Caldwell, 1996; Desfilis & Font, 2002). Para responder estas suposiciones harían falta más estudios en anfibios juveniles que incluyan la fluctuación estacional de la disponibilidad de presas en los estudios de dieta; así como observaciones en la naturaleza del comportamiento tanto del depredador como de la presa en las distintas etapas de la interacción, que tengan en cuenta a su vez, el uso del espacio y la actividad diaria de forrajeo del depredador. Por otro lado, resulta importante la identificación de las presas a nivel de especie, morfoespecie, o bien por atributos de la presa que pueden ser influyentes. De esta forma, se podría comparar el consumo de varias especies o tipos de hormiga dentro de un mismo género. También resulta imperioso para los estudios propuestos, incluir juveniles especialistas en hormigas.

En el contexto actual de pérdida creciente de biodiversidad, el entendimiento de los procesos que determinan la estructura dinámica de las redes tróficas es fundamental para evaluar el grado de adaptabilidad y susceptibilidad de las especies a eventuales cambios, lo cual también contribuye al establecimiento de medidas adecuadas de conservación. Esto es especialmente importante en el caso de anfibios juveniles, ya que son muy vulnerables y sensibles a los cambios en su entorno, en particular los anfibios especialistas, por poseer un nicho trófico estrecho, pueden ser más vulnerables a los cambios en la disponibilidad de presas. Adicionalmente, identificar presas a nivel de especie puede ser de utilidad comercial, como lo es el control biológico de plagas; o bien desde el punto de vista de la conservación, en el caso de especies invasoras, el estudio en su rango nativo puede aportar a la comprensión en su rango invasor.

BIBLIOGRAFÍA

Abrams, P. A. (2000). The Evolution of Predator-Prey Interactions: Theory and Evidence. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31(1), 79–105. doi:10.1146/annurev.ecolsys.31.1.79

Achaval-Coppes, F. (2011). Análisis cualitativo y cuantitativo de la dieta de *Odontophrynus americanus* (Duméril & Bibron, 1841)(Anura: Cycloramphidae) en una población del centro-sur del departamento de Tacuarembó (Uruguay). Tesina de grado. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Ali, M. F., Jackson, B. D., & Morgan, E. D. (2007). Contents of the poison apparatus of some species of Pheidole ants. *Biochemical systematics and ecology*, 35(10), 641-651.

Alvarez-Blanco, P., Caut, S., Cerdá, X., & Angulo, E. (2017). Native predators living in invaded areas: responses of terrestrial amphibian species to an Argentine ant invasion. *Oecologia*, 185(1), 95-106.

Alvarez-Blanco, P., Cerdá, X., Hefetz, A., Boulay, R., Bertó-Moran, A., Díaz-Paniagua, C., Lenoir, A., Billen, J., Liedtke, C., Chauhan, K. R., Bhagavathy, G., Angulo, E. (2020). Effects of the Argentine ant venom on terrestrial amphibians. *Conservation Biology*.

AntWeb. Disponible en: <https://www.antweb.org>. Acceso 19 Febrero 2020

Aquino, L., Kwet, A., Reichle, S., Silvano, D., Scott, N., Lavilla, E. & di Tada, I. (2010). *Odontophrynus americanus* (errata version published in 2016). The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T57186A86441009. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T57186A11583471.en>. Acceso 5 de julio de 2018

Berazategui, M., Camargo, A. & Maneyro, R. (2007). Environmental and seasonal variation in the diet of *Elachistocleis bicolor* (Guérin-Méneville 1838) (Anura: Microhylidae) from Northern Uruguay. *Zoological Science*, 24: 225-231.

Billen, J. (1986). Morphology and ultrastructure of the abdominal glands in Dolichoderine ants (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, 33(3), 278-295.

Blum, M. S., Walker, J. R., Callahan, P. S., & Novak, A. F. (1958). Chemical, insecticidal, and antibiotic properties of fire ant venom. *Science*, 128(3319), 306-307.

Bortolini, S. V., Maneyro, R., Coppes, F. A., & Zanella, N. (2013). Diet of *Melanophryniscus devincenzii* (Anura: Bufonidae) from Parque Municipal de Sertão, Rio Grande do Sul, Brazil. *The Herpetological Journal*, 23(2), 115-119.

Brito, L., Aguiar, F., & Cascon, P. (2012). Diet composition and activity patterns of *Odontophrynus carvalhoi* Savage and Cei, 1965 (Anura, Cycloramphidae) from a humid tropical rainforest in northeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 7(1), 55-62.

Brower, L. P., Brower, J. V. Z., & Westcott, P. W. (1960). Experimental studies of mimicry. 5. The reactions of toads (*Bufo terrestris*) to bumblebees (*Bombus americanorum*) and their

robberfly mimics (*Mallophora bomboides*), with a discussion of aggressive mimicry. *The American Naturalist*, 94(878), 343-355.

Brower, J. V. Z., & Brower, L. P. (1962). Experimental studies of mimicry. 6. The reaction of toads (*Bufo terrestris*) to honeybees (*Apis mellifera*) and their dronefly mimics (*Eristalis vinetorum*). *The American Naturalist*, 96(890), 297-307.

Brzoska, J., & Schneider, H. (1978). Modification of prey-catching behavior by learning in the common toad (*Bufo b. bufo* [L], Anura, Amphibia): Changes in responses to visual objects and effects of auditory stimuli. *Behavioural Processes*, 3(2), 125-136.

Bull, E. L., & Hayes, J. L. (2009). Selection of diet by metamorphic and juvenile Western Toads (*Bufo boreas*) in northeastern Oregon. *Herpetological Conservation and Biology*, 4(1), 85-95.

Caldwell, J. P. (1996). The evolution of myrmecophagy and its correlates in poison frogs (Family Dendrobatidae). *Journal of Zoology*, 240(1), 75-101.

Carreira, S., & Maneyro, R. (2015). Lista roja de los anfibios y reptiles del Uruguay. Una evaluación del estado de conservación de la herpetofauna de Uruguay sobre la base de los criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. Dirección Nacional de Medio Ambiente, Montevideo.

Cavill, G. W. K., & Houghton, E. (1974). Volatile constituents of the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis*. *Journal of insect physiology*, 20(10), 2049-2059.

Chesson, J. (1978). Measuring preference in selective predation. *Ecology*, 59: 211–215.

Chesson, J. (1983). The estimation and analysis of preference and its relationship to foraging models. *Ecology*, 64: 1297–1304.

Clark, V. C., Raxworthy, C. J., Rakotomalala, V., Sierwald, P., & Fisher, B. L. (2005). Convergent evolution of chemical defense in poison frogs and arthropod prey between Madagascar and the Neotropics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(33), 11617-11622.

Cortés-Gomez, A. M., Ruiz-Agudelo, C. A., Valencia-Aguilar, A., & Ladle, R. J. (2015). Ecological functions of neotropical amphibians and reptiles: a review. *Universitas Scientiarum*, 20(2), 229-245.

Cossovich, S., Aun, L., & Martori, R. (2011). Análisis trófico de la herpetofauna de la localidad de Alto Alegre (Depto. Unión, Córdoba, Argentina). *Cuadernos de herpetología*, 25(1), 11-19.

Costa, F. G., Aisenberg, A., & Simó M. R. (2006). Composición y ecología de la fauna epígea de Marindia (Canelones, Uruguay) con especial énfasis en las arañas: un estudio de dos años con trampas de intercepción. En: Rodríguez-Gallego Menafrá R., Scarabino L. F., & Conde D. (eds) (2006). *Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya*. VIDA SILVESTRE URUGUAY, Montevideo. i-xiv+668pp.

da Rosa, I., Camargo, A., Canavero, A., Naya, E. D., & Maneyro, R. (2006). Ecología de un ensamble de anuros en un humedal costero del sudeste de Uruguay. En: Rodríguez-Gallego

Menafra R., Scarabino L. F., & Conde D. (eds) (2006). *Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya*. VIDA SILVESTRE URUGUAY, Montevideo. i-xiv+668pp.

da Rosa I., Canavero, A., Maneyro, R., & Camargo, A. (2011). Trophic niche variation and individual specialization in *Hypsiboas pulchellus* (Duméril and Bibron, 1841)(Anura, Hylidae) from Uruguay. *South American Journal of Herpetology*, 6(2), 98-106.

Daly, J. W., Andriamaharavo, N. R., Andriantsiferana, M., & Myers, C. W. (1996). Madagascar poison frogs (Mantella) and their skin alkaloids. *Mus Novit* 3177: 1–34

Daneri, M. F., Papini, M. R., & Muzio, R. N. (2007). Common toads (*Bufo arenarum*) learn to anticipate and avoid hypertonic saline solutions. *Journal of Comparative Psychology*, 121(4), 419–427. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.121.4.419>

de Oliveira, M., de Avila, F. R., & Tozetti, A. M. (2017). Diet of *Rhinella arenarum* (Anura, Bufonidae) in a coastal habitat in southern Brazil. *Herpetology Notes*, 10, 507-510.

Del Toro, I., Ribbons, R. R., & Pelini, S. L. (2012). The little things that run the world revisited: a review of ant-mediated ecosystem services and disservices (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 17, 133-146.

Desfilis, E., & Font, E. (2002). Efectos de la experiencia sobre el comportamiento depredador de los reptiles. *Revista Española de Herpetología*. special, 79, 94.

Dicke, U., Heidorn, A., & Roth, G. (2011). Aversive and non-reward learning in the fire-bellied toad using familiar and unfamiliar prey stimuli. *Current Zoology*, 57(6), 709-716.

Donnelly, M. A. (1991). Feeding Patterns of the Strawberry Poison Frog, *Dendrobates pumilio* (Anura: Dendrobatidae). *Copeia*, 1991(3), 723. doi:10.2307/1446399

Dornhaus, A., & Powell, S. (2010). Foraging and defence strategies. In: Lach, L., Parr, C., & Abbott, K. (eds) *Ant Ecology*. Oxford University Press, New York, pp. 210-230.

Dole, J. W., Rose, B. B., & Tachiki, K. H. (1981). Western toads (*Bufo boreas*) learn odor of prey insects. *Herpetologica*, 63-68.

Duellman, W.E. & Trueb, L. (1994). *Biology of Amphibians*. Baltimore: *The Johns Hopkins University Press*.

Duré, M. I., Kehr, A. I., & Schaefer, E. F. (2009). Niche overlap and resource partitioning among five sympatric bufonids (Anura, Bufonidae) from northeastern Argentina. *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 8(1), 27-39.

Epp, K. J., & Gabor, C. R. (2008). Innate and learned predator recognition mediated by chemical signals in *Eurycea nana*. *Ethology*, 114(6), 607-615.

Ewert JP., & Schwippert W.W. (2006). Modulation of visual perception and action by forebrain structures and their interactions in amphibians. In: Levin E.D. (eds) *Neurotransmitter Interactions and Cognitive Function. Experientia Supplementum*, vol 98. Birkhäuser Basel

Feener Jr, D. H. (1987). Response of *Pheidole morrissi* to two species of enemy ants, and a general model of defense behavior in *Pheidole* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of the Kansas Entomological society*, 569-575.

Fernández, F. (ed.). (2003). *Introducción a las Hormigas de la región Neotropical*. (XXVI + 398 p.). Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia.

Finkenstädt, T. (1989). Visual associative learning: searching for behaviorally relevant brain structures in toads. In *Visuomotor coordination* (pp. 799-832). *Springer*, Boston, MA.

Flowers, M. A., & Graves, B. M. (1995). Prey Selectivity and Size-Specific Diet Changes in *Bufo cognatus* and *B. woodhousii* during Early Postmetamorphic Ontogeny. *Journal of Herpetology*, 29(4), 608. doi:10.2307/1564745

Foden, W. B., Butchart, S. H., Stuart, S. N., Vié, J. C., Akçakaya, H. R., Angulo, A., ... & Donner, S. D. (2013). Identifying the world's most climate change vulnerable species: a systematic trait-based assessment of all birds, amphibians and corals. *PloS one*, 8(6), e65427.

Frost, D. R. (2020). Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1. Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001. Acceso: 8 de agosto de 2020

Gasnier, T. R., Magnusson, W. E., & Lima, A. P. (1994). Foraging activity and diet of four sympatric lizard species in a tropical rainforest. *Journal of Herpetology*, 187-192.

Gauch, H. G., & Gauch Jr, H. G. (1982). *Multivariate analysis in community ecology* (No. 1). *Cambridge University Press*.

Giaretta, A. A., Medeiros, H. F. D., & Facure, K. G. (1998). Food habits and ontogenetic diet shifts of the litter dwelling frog *Proceratophrys boiei* (Wied). *Revista brasileira de zoologia*, 15(2), 385-388.

GISD, Global Invasive Species Database. Available from <http://www.issg.org/database>
Acceso: 29 de marzo de 2020

Hammer, Ø., Harper, D.A.T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. <http://folk.uio.no/ohammer/past>

Hantak, M. M., Grant, T., Reinsch, S., Mcginnity, D., Loring, M., Toyooka, N., & Saporito, R. A. (2013). Dietary alkaloid sequestration in a poison frog: an experimental test of alkaloid uptake in *Melanophryniscus stelzneri* (Bufonidae). *Journal of chemical ecology*, 39(11-12), 1400-1406.

Herr, M. W., Robbins, T. R., Centi, A., Thawley, C. J., & Langkilde, T. (2016). Irresistible ants: exposure to novel toxic prey increases consumption over multiple temporal scales. *Oecologia*, 181(3), 749-756.

- Hirai, T. (2002). Ontogenetic change in the diet of the pond frog, *Rana nigromaculata*. *Ecological Research*, 17(6), 639-644.
- Hirai, T., & Matsui, M. (1999). Feeding habits of the pond frog, *Rana nigromaculata*, inhabiting rice fields in Kyoto, Japan. *Copeia*, 940-947.
- Hodgkison, S., & Hero, J. M. (2003). Seasonal, sexual and ontogenetic variations in the diet of the 'declining' frogs *Litoria nannotis*, *Litoria rheocola* and *Nyctimystes dayi*. *Wildlife Research*, 30(4), 345-354.
- Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). *The ants*. Harvard University Press.
- Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (2009). *The superorganism: the beauty, elegance, and strangeness of insect societies*. WW Norton & Company.
- Huey, R. B., & Pianka, E. R. (1981). Ecological consequences of foraging mode. *Ecology*, 62(4), 991-999
- Ings, T. C., Montoya, J. M., Bascompte, J., Blüthgen, N., Brown, L., Dormann, C. F., ... & Lauridsen, R. B. (2009). Ecological networks—beyond food webs. *Journal of Animal Ecology*, 78(1), 253-269
- Instituto Nacional de Estadística. (2018). *Anuario Estadístico Nacional*. 95ª versión. Uruguay. URL: www.ine.gub.uy
- Isacch, J. P., & Barg, M. (2002). Are bufonid toads specialized ant-feeders? A case test from the Argentinian flooding pampa. *Journal of Natural History*, 36(16), 2005-2012.
- Ito, F., Okaue, M., & Ichikawa, T. (2009). A note on prey composition of the Japanese treefrog, *Hyla japonica*, in an area invaded by Argentine ants, *Linepithema humile*, in Hiroshima Prefecture, western Japan (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecol News* 12:35–39
- Jaksic, F. M. (2001). *Ecología de Comunidades*. Santiago de Chile. Ediciones Universidad Católica de Chile. 233 pp
- Kwet A., Reichle S., Silvano D., Úbeda C., Baldo D., Di Tada I. (2004). *Rhinella arenarum*. The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T54576A11169255. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T54576A11169255.en>. Acceso 5 de julio de 2018
- Laberge, F., Mühlenbrock-Lenter, S., Grunwald, W., & Roth, G. (2006). Evolution of the Amygdala: New Insights from Studies in Amphibians. *Brain, Behavior and Evolution*, 67(4), 177–187. doi:10.1159/000091119
- Lach, L., Parr, C., & Abbott, K. (Eds.). (2010). *Ant ecology*. Oxford university press.
- Lajmanovich, R. C. (1996). Dinámica trófica de juveniles de *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptodactylidae), en una isla del Paraná, Santa Fe, Argentina. *Cuadernos de Herpetología*, 10.

- Li, Y., Ke, Z., Wang, S., Smith, G. R., & Liu, X. (2011). An exotic species is the favorite prey of a native enemy. *PLoS One*, 6(9).
- Lima, S. L., & Dill, L. M. (1990). Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian journal of zoology*, 68(4), 619-640.
- Lima, A. P., & Moreira, G. (1993). Effects of prey size and foraging mode on the ontogenetic change in feeding niche of *Colostethus stepheni* (Anura: Dendrobatidae). *Oecologia*, 95(1), 93-102.
- Long, A. K., Knapp, D. D., Mccullough, L., Smith, L. L., Conner, L. M., & Mccleery, R. A. (2015). Southern toads alter their behavior in response to red-imported fire ants. *Biological invasions*, 17(7), 2179-2186.
- Lopes, M. S., Bovendorp, R. S., Moraes, G. J. D., Percequillo, A. R., & Bertoluci, J. (2017). Diversity of ants and mites in the diet of the Brazilian frog *Chiasmocleis leucosticta* (Anura: Microhylidae). *Biota Neotropica*, 17(3).
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., De Poorter, M. (2000). 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. Invasive Species Specialist Group Auckland, New Zealand.
- Luthardt-Laimer, G. (1983). Ontogeny of preferences to visual prey stimulus parameters in salamanders. *Journal of Herpetology*, 221-227.
- Lyttle, T., Goldstein, D., & Gartz, J. (1996). Bufo Toads and Bufotenine: Fact and Fiction Surrounding an Alleged Psychedelic. *Journal of Psychoactive Drugs*, 28(3), 267–290. doi:10.1080/02791072.1996.10472488
- Machado, W. B., de Avila, F. R., de Oliveira, M., Witt, P., & Tozetti, A. M. (2019). Diet of *Odontophrynus americanus* (Duméril and Bibron, 1841) in southern Atlantic Forest of Brazil. *Herpetology Notes*, volume 12.
- Maneyro, R., & da Rosa, I. (2004). Temporal and spatial changes in the diet of *Hyla pulchella* (Anura, Hylidae) in southern Uruguay. *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 3(2), 101-103.
- Maneyro, R., Naya, D. E., Rosa, I. D., Canavero, A., & Camargo, A. (2004). Diet of the South American frog *Leptodactylus ocellatus* (Anura, Leptodactylidae) in Uruguay. *Iheringia. Série Zoologia*, 94(1), 57-61.
- Maneyro, R., y Carreira, S. (2012). *Guía de anfibios del Uruguay*. Ediciones de la Fuga. Montevideo. 207 pp
- Manly, B.F.J. (1974). A model for certain types of selection experiments. *Biometrics*, 30: 281–294.
- McElroy, M. T., & Donoso, D. A. (2019). Ant Morphology Mediates Diet Preference in a Neotropical Toad (*Rhinella alata*). *Copeia*, 107(3), 430-438.

McNab, B. K. (1984). Physiological convergence amongst ant-eating and termite-eating mammals. *Journal of Zoology*, 203(4), 485-510.

Mebs, D., Jansen, M., Köhler, G., Pogoda, W., & Kauert, G. (2010). Myrmecophagy and alkaloid sequestration in amphibians: a study on *Ameerega picta* (Dendrobatidae) and *Elachistocleis* sp.(Microhylidae) frogs. *Salamandra*, 46(1), 11-15.

MGAP. Carta de suelos. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy> Acceso 4 de diciembre de 2019.

Mikulka, P., Vaughan, P., & Hughes, J. (1981). Lithium chloride-produced prey aversion in the toad (*Bufo americanus*). *Behavioral and Neural Biology*, 33(2), 220–229. doi:10.1016/s0163-1047(81)91664-2

Montero, R. y Autino, A. G. (2018). *Sistemática y filogenia de los vertebrados, con énfasis en la fauna argentina*. Tercera edición. Versión optimizada para celular. Editorial independiente, San Miguel de Tucumán, Argentina. 1580 pp. ISBN: 978-987-42-9721-1.

Murray, D. L., Roth, J. D., & Wirsing, A. J. (2004). Predation Risk Avoidance by Terrestrial Amphibians: The Role of Prey Experience and Vulnerability to Native and Exotic Predators. *Ethology*, 110(8), 635–647. doi:10.1111/j.1439-0310.2004.01004.x

Muzio, R. N., Creydt, V. P., Iurman, M., Rinaldi, M. A., Sirani, B., & Papini, M. R. (2011). Incentive or habit learning in amphibians?. *PLoS One*, 6(11).

Ness, J.H., Mooney, K.A., Lach, L. (2010) Ants as mutualists. In: Lach, L., Parr, C., & Abbott, K. (eds) *Ant Ecology*. Oxford University Press, New York, pp. 97-114

Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn D., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2017). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.4-5. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Papini, M. R. (2002). Pattern and process in the evolution of learning. *Psychological review*, 109(1), 186.

Paradis, S., & Cabanac, M. (2004). Flavor aversion learning induced by lithium chloride in reptiles but not in amphibians. *Behavioural processes*, 67(1), 11-18.

Parmelee, J. R. (1999). Trophic ecology of a tropical anuran assemblage. Natural History Museum, University of Kansas. *Scientific Papers*, 11:1-59.

Pavan, M. (1948). Iridomyrmecin, an antibiotic substance extracted from the Argentine ant (*Iridomyrmex pruinosus humilis* Mayz.) *VIII Internat. Cong. Entomol., Stockholm*, 863-865.

Pavan, M., & Ronchetti, G. (1955). Studi sulla morfologia esterna e anatomia interna dell'operaia di *Iridomyrmex humilis* Mayr e ricerche chimiche e biologiche sulla iridomyrmecina. *Atti Soc It Sc Nat*, 94, 379-477.

- Pekár, S. (2004). Predatory behavior of two European ant-eating spiders (Araneae, Zodariidae). *The Journal of Arachnology*, 32(1), 31-41.
- Pekár, S. (2009). Capture efficiency of an ant-eating spider, *Zodariellum asiaticum* (Araneae: Zodariidae), from Kazakhstan. *The Journal of Arachnology*, 37(3), 388-391.
- Peltzer, P. M., Attademo, A. M., Lajmanovich, R. C., Junges, C. M., Beltzer, A. H., & Sanchez, L. C. (2010). Trophic dynamics of three sympatric anuran species in a soybean agroecosystem from Santa Fe Province, Argentina. *The Herpetological Journal*, 20(4), 261-269.
- Pianka, E. R. (1973). The structure of lizard communities. *Annual review of ecology and systematics*, 4(1), 53-74.
- Pie, M. R., & Traniello, J. F. A. (2007). Morphological evolution in a hyperdiverse clade: the ant genus *Pheidole*. *Journal of Zoology*, 271(1), 99-109.
- Pinkas, L., Oliphant, M.S., & Iverson, Z.L. (1971). Food habits of albacore bluefin, tuna and bonito in California waters. California Department of Fish and Game Bulletin, *La Jolla* 152, 1–350.
- Pitts, J. P., Camacho, G. P., Gotzek, D., Mchugh, J. V., & Ross, K. G. (2018). Revision of the fire ants of the *Solenopsis saevissima* species-group (Hymenoptera: Formicidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 120(2), 308-411.
- Pledger, S., Geange, S., Hoare, J., & Perez-Matus, A. (2007). Resource selection: tests and estimation using null models. *Victoria University of Wellington, Wellington*.
- Pough, F. H. (1983). Amphibians and reptiles as low-energy systems. *Behavioral energetics: the cost of survival in vertebrates*, (6), 141.
- Pueta, M., & Perotti, M. G. (2013). Feeding habits of juvenile *Chacophrys pierottii* (Ceratophryidae-Ceratophryinae) from northwestern Córdoba province, Argentina. *Herpetological Conservation and Biology*, 8(2):376–384.
- Quiroga, L. B., Sanabria, E. A., & Acosta, J. C. (2009). Size-and sex-dependent variation in diet of *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) in a wetland of San Juan, Argentina. *Journal of Herpetology*, 311-317.
- R Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Richardson, J. (2018). 'selectapref': Analysis of Field and Laboratory Foraging. R package version 0.1.1. <https://CRAN.R-project.org/package=selectapref>
- Rissing, S. W. (1981). Prey preferences in the desert horned lizard: influence of prey foraging method and aggressive behavior. *Ecology*, 62(4), 1031-1040.

- Robbins, T. R., Freidenfelds, N. A., & Langkilde, T. (2013). Native predator eats invasive toxic prey: evidence for increased incidence of consumption rather than aversion-learning. *Biological Invasions*, 15(2), 407-415.
- Sabagh, L. T., & Carvalho-e-Silva, A. M. (2008). Feeding overlap in two sympatric species of *Rhinella* (Anura: Bufonidae) of the Atlantic Rain Forest. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(2), 247-253.
- Santos, J. C., Tarvin, R. D., & O'Connell, L. A. (2016). A Review of Chemical Defense in Poison Frogs (Dendrobatidae): Ecology, Pharmacokinetics, and Autoresistance. En: Schulte B., Goodwin T., Ferkin M. (eds) *Chemical Signals in Vertebrates* 13 (pp. 305-337). Springer, Cham.
- Saporito, R. A., Garraffo, H. M., Donnelly, M. A., Edwards, A. L., Longino, J. T., & Daly, J. W. (2004). Formicine ants: an arthropod source for the pumiliotoxin alkaloids of dendrobatid poison frogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(21), 8045-8050.
- Schmidt, J. O. (2009). Defensive behavior. In *Encyclopedia of insects* (pp. 252-257). Academic Press.
- Schmidt, P. J., Sherbrooke, W. C., & Schmidt, J. O. (1989). The detoxification of ant (*Pogonomyrmex*) venom by a blood factor in horned lizards (*Phrynosoma*). *Copeia*, 603-607.
- Schoener, T. W. (1989). Should hindgut contents be included in lizards dietary compilations? *Journal of Herpetology*. 23: 455 – 458.
- Sherbrooke, W. C., & Schwenk, K. (2008). Horned lizards (*Phrynosoma*) incapacitate dangerous ant prey with mucus. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 309(8), 447-459.
- Sih, A. (1993) Effects of ecological interactions on forager diets: competition, predation risk, parasitism and prey behaviour. In "Diet Selection: An Interdisciplinary Approach to Foraging Behaviour" Ed by RN Hughes, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp 182–211
- Simon, M. P., & Toft, C. A. (1991). Diet specialization in small vertebrates: mite-eating in frogs. *Oikos*, 263-278.
- Solé, M., Ketterl, J., Di-Bernardo, M., & Kwet, A. (2002). Ants and termites are the diet of the microhylid frog *Elachistocleis ovalis* (Schneider, 1799) at an Araucaria forest in Rio Grande do Sul, Brazil. *Herpetological Bulletin*, (79), 14-17.
- Solé, M., & Loebmann, D. (2017). Disgusting or delicious? Predatory behavior of the hylid frog *Phyllodytes luteolus* on sympatric ants. *Iheringia. Série Zoologia*, 107.
- Stebbins, R. C. & Cohen, N. W. (1997). *A natural history of amphibians*. Princeton University Press
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S. L., Fischman, D. L., & Waller, R. W. (2004). Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science*, 306(5702), 1783–1786. doi:10.1126/science.1103538

- Suarez, A. V., Richmond, J. Q., & Case, T. J. (2000). Prey selection in horned lizards following the invasion of Argentine ants in southern California. *Ecological Applications*, 10(3), 711-725.
- Suboski, M. D. (1992). Releaser-induced recognition learning by amphibians and reptiles. *Animal Learning & Behavior*, 20(1), 63-82.
- Tarvin, R. D., Santos, J. C., O'Connell, L. A., Zakon, H. H., & Cannatella, D. C. (2016). Convergent substitutions in a sodium channel suggest multiple origins of toxin resistance in poison frogs. *Molecular biology and evolution*, 33(4), 1068-1080.
- To, E. S., & Laberge, F. (2014). Illness-dependent conditioned prey avoidance in an amphibian. *Behavioural processes*, 103, 291-296.
- Toft, C. A. (1980). Feeding ecology of thirteen syntopic species of anurans in a seasonal tropical environment. *Oecologia*, 45:131- 141
- Toft, C. A. (1981). Feeding ecology of panamanian litter anurans: patterns in diet and foraging mode. *Journal of Herpetology*, 15(2):139- 144
- Toft, C.A. (1985). Resource partitioning in amphibians and reptiles. *Copeia*, 1985: 1–21
- Underwood, A. J., Chapman, M. G., & Crowe, T. P. (2004). Identifying and understanding ecological preferences for habitat or prey. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 300(1), 161-187.
- Vences, M., Glaw, F., Böhme, W. (1998) Evolutionary correlates of microphagy in alkaloid-containing frogs (Amphibia: Anura). *Zool Anz* 236: 217–230
- Ward-Fear, G., Thomas, J., Webb, J. K., Pearson, D. J., & Shine, R. (2017). Eliciting conditioned taste aversion in lizards: live toxic prey are more effective than scent and taste cues alone. *Integrative zoology*, 12(2), 112-120.
- Weaver, W., & Shannon, C.E. (1949). The mathematical theory of communication. *Urbana, Illinois, University of Illinois Press*.
- Wells, K. D. (2010). *The ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press
- Werner, E. E. (1986). Amphibian Metamorphosis: Growth Rate, Predation Risk, and the Optimal Size at Transformation. *The American Naturalist*, 128(3), 319–341. doi:10.1086/284565
- Wilbur, H. M. (1980). Complex Life Cycles. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11(1), 67–93. doi:10.1146/annurev.es.11.110180.000435
- Wild, A. L. (2007). *Taxonomic revision of the ant genus Linepithema (Hymenoptera: Formicidae)* (Vol. 126). Univ of California Press.
- Wilson, E. O. (2003). La hiperdiversidad como fenómeno real: el caso de Pheidole. En: Fernández, F. (ed.). (2003). *Introducción a las Hormigas de la región Neotropical*. (XXVI +

398 p.). Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia.

Woody, D. R., & Mathis, A. (1998). Acquired Recognition of Chemical Stimuli from an Unfamiliar Predator: Associative Learning by Adult Newts, *Notophthalmus viridescens*. *Copeia*, 1998(4), 1027. doi:10.2307/1447352

Young, B. E., Lips, K. R., Reaser, J. K., Ibáñez, R., Salas, A. W., Cedeño, J. R., ... & Muñoz, A. (2001). Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America. *Conservation Biology*, 15(5), 1213-1223.

Zlotnik, S., Darnell, G. M., & Bernal, X. E. (2018). Anuran predators overcome visual illusion: dazzle coloration does not protect moving prey. *Animal cognition*, 21(5), 729-733.

APÉNDICE I: Datos de anfibios

Tabla I.1. Datos de colecta de ejemplares del *Capítulo 1*. Lista con los individuos (ID), forma de muestreo en este capítulo (Origen), localidad, tipo de ambiente y estación de colecta. Para *Odontophrynus americanus* y *Rhinella arenarum*.

ID	Origen	Localidad	Ambiente	Estación
<i>O. americanus</i>				
O1	Trampa Pitfall	el Pinar	Costero-urbano	Primavera
O2	Trampa Pitfall	Sahngriá	Costero-urbano	Primavera
O3	Trampa Pitfall	Sahngriá	Costero-urbano	Primavera
O4	Trampa Pitfall	Sahngriá	Costero-urbano	Primavera
O5	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Primavera
O6	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Primavera
O7	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Invierno
O8	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Primavera
O9	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Invierno
O10	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Invierno
O11	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Primavera
O12	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Primavera
O13	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Primavera
O14	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Primavera
O15	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Primavera
O16	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Primavera
O17	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Otoño/invierno
O18	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Otoño
O19	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Otoño
O20	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Otoño
O21	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Verano
O22	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Verano
O23	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Invierno
O24	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Invierno
O25	Colecciones	Cuchilla del Rincón	Pradera	Invierno
<i>R. arenarum</i>				
R1	Trampa Pitfall	Sahngriá	Costero-urbano	Primavera
R2	Trampa Pitfall	Sahngriá	Costero-urbano	Primavera
R3	Trampa Pitfall	Sahngriá	Costero-urbano	Primavera
R4	Colecciones	Balneario Parque del Plata	Costero-urbano	Verano
R5	Colecciones	Balneario Parque del Plata	Costero-urbano	Verano
R6	Colecciones	Balneario Parque del Plata	Costero-urbano	Verano
R7	Colecciones	Balneario Parque del Plata	Costero-urbano	Verano
R8	Colecciones	Cabo Polonio	Costero	Verano
R9	Colecciones	Cabo Polonio	Costero	Verano
R10	Colecciones	Cabo Polonio	Costero	Verano
R11	Colecciones	Cabo Polonio	Costero	Verano
R12	Colecciones	Cabo Polonio	Costero	Verano
R13	Colecciones	Cabo Polonio	Costero	Verano
R14	Colecciones	Costa Azul	Costero-urbano	Verano
R15	Colecciones	Costa Azul	Costero-urbano	Verano
R16	Colecciones	Costa Azul	Costero-urbano	Verano
R17	Colecciones	Costa Azul	Costero-urbano	Verano
R18	Colecciones	Costa Azul	Costero-urbano	Verano
R19	Colecciones	Costa Azul	Costero-urbano	Verano
R20	Colecciones	Arroyo Carrasco	Ribereño-urbano	Primavera
R21	Colecciones	Arroyo Carrasco	Ribereño-urbano	Primavera
R22	Colecciones	Arroyo Carrasco	Ribereño-urbano	Primavera
R23	Colecciones	Arroyo Carrasco	Ribereño-urbano	Primavera
R24	Colecciones	Arroyo Carrasco	Ribereño-urbano	Primavera
R25	Colecciones	Arroyo Carrasco	Ribereño-urbano	Primavera

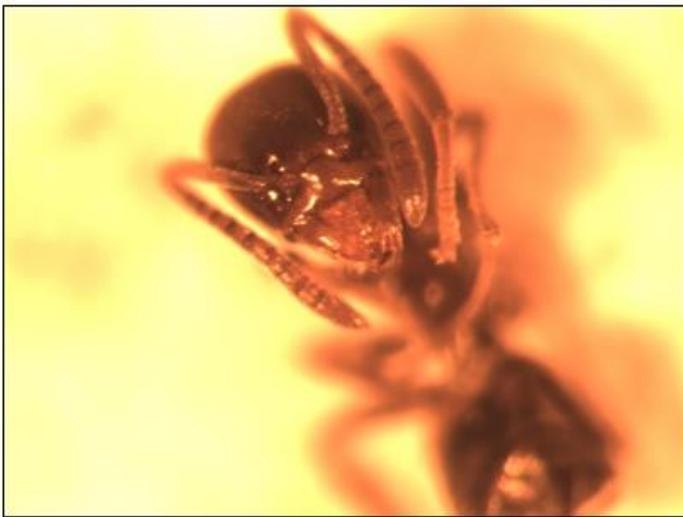
Tabla I.2. *Capítulo 1.* Ancho mandibular (A. mand.) de cada individuo (ID) y el ancho y largo máximos de presa consumida (A. máx. y L. máx., respectivamente). Para *Odontophrynus americanus* y *Rhinella arenarum*.

ID	A. mand. (mm)	A. máx. (mm)	L. máx. (mm)
<i>O. americanus</i>			
O1	6	0.85	3.6
O6	7.5	2.5	5.3
O2	7.9	1.2	6.8
O5	10.5	4.4	9
O25	10.5	1.75	10.6
O8	11	1.55	4.2
O16	11	2.8	5.8
O19	11	4.3	10
O23	11	3.1	9
O4	12	5.6	11.45
O12	12	0.95	3.05
O13	12	2.25	3.75
O20	12	3.3	7.1
O24	12	3.3	7.3
O18	12.5	5	29.5
O7	13	2.05	11
O9	13	1.85	4.5
O11	13	1.45	5.1
O14	13	4.3	9
O15	14	2.6	6.4
<i>R. arenarum</i>			
R2	3.8	0.75	3.35
R3	3.9	0.575	2.6
R1	4	1.2	2.5
R20	5.5	0.32	0.5
R10	5.7	1.17	3.6
R5	5.8	1.8	0.75
R23	5.8	0.57	0.81
R8	6	2.9	6
R6	6.1	1.47	8.5
R19	6.3	1.75	5.35
R18	6.6	2.2	5
R11	6.7	2	6.3
R12	6.7	1.4	3.35
R16	6.7	2.5	5.6
R7	7.1	0.6	2.7
R13	7.2	0.7	3.5
R15	7.2	2.5	6
R4	7.4	0.375	1.44
R9	7.4	1.7	5

APÉNDICE II: Identificación de presas

II.1) Fotos de especies de hormigas identificadas

<i>Linepithema micans</i>	
Encontrada en: Estómagos de <i>R. arenarum</i>	Capítulo: 1



Posible *Linepithema humile*

Encontrada en: Estómagos de *R. arenarum* | Capítulo: 1



Linepithema humile

Colectada en: *Parque Rodó*

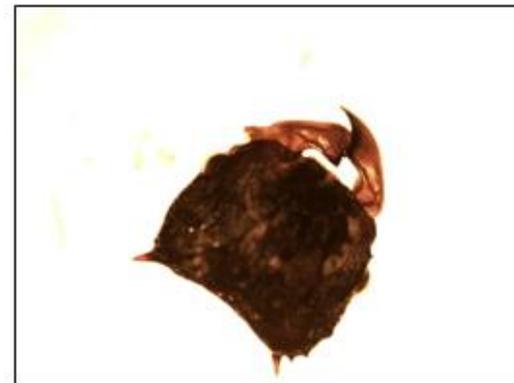
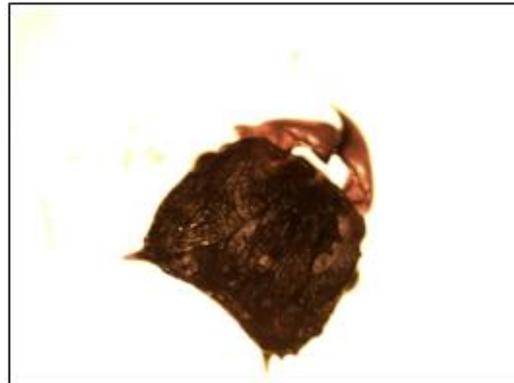
Capítulo: 2



Acromyrmex striatus (reina)

Encontrada en: Estómagos de *O. americanus*

Capítulo: 1



Acromyrmex lundii

Encontrada en: Estómagos de *R. arenarum* | Capítulo: 1



Tabla II.1. Ítems taxonómicos identificados en las trampas Pitfall de El Pinar. n= Número de individuos; V = volumen

Item	n	V (mm³)
Acari	17	4.27
Araneae	26	78.94
Coleoptera	16	640.08
Collembola	55	12.78
Diplopoda	18	117.68
Diptera	27	105.03
Formicidae	144	265.64
Hemiptera	18	31.27
Hymenoptera	8	69.43
Isopoda	40	717.72
Orthoptera	4	179.53
Pseudoscorpiones	1	0.82
Tysanoptera	1	0.11

Tabla II.2. Géneros de hormiga identificados en las trampas Pitfall de El Pinar. n= Número de individuos; V = volumen

Género	n	V (mm³)
Acromyrmex	14	119.07
Brachymyrmex	2	0.57
Camponotus	4	16.57
Dorymyrmex	11	26.27
Hypoconera	1	0.75
Linepithema	15	10.89
Pheidole	90	87.48
Solenopsis	9	3.85