

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS DO OURIÇO-DO-MAR PRETO A
PISTAS QUÍMICAS QUE INDICAM RISCO DE PREDÇÃO

Vanessa Rímoli Morishita
Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Egydio Barreto

Botucatu
2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS DO OURIÇO-DO-MAR PRETO A
PISTAS QUÍMICAS QUE INDICAM RISCO DE PREDÇÃO

Vanessa Rímoli Morishita

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Egidio Barreto

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências de Botucatu – UNESP,
como parte dos requisitos para a
obtenção do Título de Mestre em
Ciências Biológicas, na Área de
Concentração de Zoologia.

Botucatu

2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Morishita, Vanessa Rímoli.

Respostas comportamentais do ouriço-do-mar preto a pistas químicas que indicam risco de predação / Vanessa Rímoli Morishita. – Botucatu : [s.n.], 2010.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2010.

Orientador: Rodrigo Egydio Barreto

Assunto CAPES: 20400004

1. Ouriço-do-mar - Predação 2. Zoologia

CDD 591

Palavras-chave: Comportamento Anti-predatório; Comunicação Química; Invertebrados.

"I'd rather be anything but ordinary"

A.L.

*"You can't always get what you want, but if you try,
sometime you get what you need"*

M.J & K.R.



Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Reinaldo e Inês, aos meus irmãos, Júnior, Raquel e Patrícia, e também a Letícia, Kleber, Muriel, Rodrigo e Izabel, por todo o apoio, financeiro e emocional, pelos traslados a rodoviárias e aeroportos nos mais diversos horários e pelas recepções calorosas após as semanas em que me ausentei...

Ao Rodrigo, meu orientador, por mais dois anos de muita paciência, pelas inúmeras discussões, correções dos experimentos e mais algumas infinitas horas tentando me explicar A estatística...

Ao CEBIMar, pelo suporte técnico e logístico; em especial, aos meninos: Elso, Joseph e Zé, pelas horas de mergulho, conversas e almoços compartilhados. A Simone, por sua incrível agilidade em resolver toda a burocracia envolvendo meu projeto. Também agradeço a Maristela, Silvinha, Glauce e D. Fátima pelas risadas garantidas!!! E não poderia me esquecer do Carl e as meninas do Beco, pelos jantares e festinhas mais que bem-vindos...

A todos aqueles que me deram abrigo em Botucatu: Tati, D. Edina, Juliana, Claudia, Baba, Dolly e Bianca; em São Sebastião: D. Fátima, Mogli, Lud, Nervo e Mutuca...

Aos novos amigos de Mestrado: Grazi e cia. Ltda. pelas conversas e dicas; Paty (quase doutora), por me acalmar segundos antes da minha qualificação; Thiago, que assim como eu é um forasteiro em Botucatu...

Ao pessoal da pós-graduação do IBB: Herivaldo e Lu pelas inúmeras ligações e tira-dúvidas...

Ao Johnny Nojo, pelos desenhos...

E agradeço principalmente aqueles que não acreditaram no meu sucesso, que de alguma forma tentaram me desanimar e fazer com que eu desistisse de tudo: C.C., A.F., W.U. e tantos outros... Aqui está o meu MUITO OBRIGADA, pois a cada palavra de depreciação, eu juntava mais força para continuar, crescer e melhorar!!!



Sumário

Resumo	01
Abstract	02
1. Introdução	03
2. Materiais e métodos	
2.a. Animais e condições de estoque	07
2.b.1. Delineamento experimental: Odor do predador	07
2.b.2. Delineamento experimental: Extrato das presas	08
2.b.3. Delineamento experimental: Aspectos gerais	09
2.c. Observação comportamental	09
2.d. Análise estatística	10
3. Resultados	
3.a. Odor do predador	12
3.b. Extrato das presas	14
4. Discussão	
4.a. Odor do predador	17
4.b. Extrato das presas	18
4.c. Comentários gerais	20
5. Referências bibliográficas	22

Resumo

Ouriços-do-mar são capazes de avaliar o ambiente externo a partir de pistas químicas, por meio de quimiorreceptores presentes em seus espinhos, pés ambulacrários e pedicelárias. Neste estudo, utilizamos pistas químicas que indicam potencialmente o risco de predação de maneira diretas (odor de predador) ou indiretas (odor de coespecífico injuriado fisicamente) para avaliar os padrões de resposta de *Echinometra lucunter*. Num primeiro experimento, avaliamos a respostas dos ouriços expostos ao odor de estrela-do-mar equinívora *Oreaster reticulatus* em 1) jejum, alimentada com 2) *E. lucunter*, 3) *Lytechinus variegatus* ou 4) *Perna perna*; estrela-do-mar não equinívora *Echinaster brasiliensis* alimentada com 5) *P. perna* ou expostos a 6) água do mar sintética não condicionada (veículo). Num segundo experimento, os ouriços foram expostos ao extrato de 1) *E. lucunter*, 2) *L. variegatus*, 3) *P. perna* e 4) veículo. Esses estudos mostraram que *E. lucunter* é capaz de identificar, distinguir e reagir a diferentes extratos de animais, coespecíficos ou não. A dieta do predador modula a intensidade de resposta do *E. lucunter*, sendo mais pronunciadas as respostas frente ao odor de estrela que se alimentou de presas coespecíficas. Para o extrato, identificamos as respostas aos extratos de equinóides, sendo a mais forte para os de *E. lucunter*. Visto que muitos vertebrados respondem a estímulos similares qualitativamente, especulamos que esse comportamento anti-predatório possa ter evoluído a partir dos Echinodermata, grupo basal dos deuterostômios.

Palavras-chave: comportamento anti-predatório, comunicação química, invertebrados.

Abstract

Sea urchins are able to evaluate chemical information from the environment by using chemosensory receptors in their spines, tube feet and pedicellariae. In this study, we used chemical cues that potentially indicate directly (predator odor) or indirectly (injured conspecific) predation risk to assess antipredator behavior in the black sea urchin *Echinometra lucunter*. In a first experiment, the urchins were exposed to echinivorous starfish *Oreaster reticulatus* 1) starved, fed on 2) *E. lucunter*, 3) *Lytechinus variegatus* or 4) *Perna perna*; non-echinivorous starfish 5) *Echinaster brasiliensis* fed on *P. perna* or exposed to 6) the vehicle, synthetic salt-water (control). In a second experiment, the urchins were exposed to extract of crushed 1) *E. lucunter*, 2) *L. variegatus*, 3) *P. perna* and 4) the vehicle (control). This study shows that *E. lucunter* are able to identify, distinguish and react to different animals extracts, conspecifics or not. Predator diet modulates *E. lucunter* intensity of behavioral responses. The response to echinivorous starfish odor fed on conspecifics is more pronounced. For the extract, urchins responded only to echinoids ones, and the response to extract of *E. lucunter* was the strongest. Speculatively, since vertebrates respond to qualitative similar stimuli, this kind of antipredator behavior might have evolved from the Echinodermata, a basal group of deuterostomes.

Key-words: antipredator behavior, chemical communication, invertebrates.

1. Introdução

Diversos grupos de animais aquáticos utilizam pistas químicas para encontrar alimentos, para fins reprodutivos ou para o reconhecimento de predadores (Chivers & Smith 1998; Jacobsen & Stabell, 2004), uma vez que o ambiente aquático é propício a dissolução e dispersão de substâncias químicas. A percepção desses fatores químicos é utilizada principalmente em ambientes com águas turvas, durante a noite ou ainda por indivíduos de espécies com visão pouco desenvolvida (Wisenden, 2000; Yloden *et al*, 2007).

No contexto presa-predador, essas pistas químicas podem indicar que há um predador forrageando em uma área, em dado momento, de maneira direta ou indireta: pela presença do predador no ambiente (Wisenden, 2000), ou por presas que, quando ameaçadas (Jordão & Volpato, 2000) ou injuriadas (Mathis *et al*, 1995), liberam substâncias que irão alertar outras presas em potencial. Detectar tais substâncias rapidamente é de extrema importância para a sobrevivência do animal. Isso porque permite ao animal presa se antecipar ao ataque do predador, desencadeando uma série de respostas anti-predatórias (Chivers & Smith, 1998; Kats & Dill, 1998), por exemplo, evitar o encontro com o predador, mesmo que este esteja afastado da presa em potencial (Mirza & Chivers, 2003). No presente estudo, abordaremos pistas diretas (odor de predador) e indiretas (odor de coespecífico injuriado fisicamente).

A detecção direta depende do reconhecimento de odor específico do predador (Magurran, 1989; Lima & Dill, 1990; Kiesecker *et al*, 1996). As respostas ao odor do predador são moduladas pela diluição do estímulo químico e pela dieta do predador (Chivers *et al*, 1996). Alguns autores sugerem que quanto mais concentrado o estímulo, mais intensa será a resposta da presa ao predador (Hawkins *et al*, 2007). Por outro lado, em algumas situações é possível inferir a existência de um limiar, ou seja, a resposta é desencadeada se a pista química for detectada acima de certo nível, seguindo um padrão “tudo ou nada” (Brown *et al*, 2001; Mirza & Chivers 2003; Marcus & Brown 2003b; Barreto & Hoffmann, 2007a). Além disso, conforme descrito por Hagen *et al* (2002), quando o predador se alimenta de coespecífico(s) da presa, a

resposta é mais intensa do que a exibida frente ao estímulo do predador alimentado com algum animal heteroespecífico.

Indiretamente, durante o ataque e captura de uma presa por um predador, alguns fatores químicos são liberados na água, devido ao trauma físico de algum órgão do animal atacado (Chivers & Smith 1998; Kats & Dill, 1998; Wisenden & Millard, 2001). Por exemplo, em peixes existem várias evidências que apontam a importância do trauma físico da epiderme da presa para sinalizar e alarmar coespecíficos (Pfeiffer, 1977; Chivers & Smith 1998; Wisenden, 2000; Giaquinto & Volpato, 2001). Isso também acontece com invertebrados (Kicklighter *et al*, 2005; Griffiths & Richardson, 2006; Moir & Weissburg, 2009), embora pouco se saiba sobre quais partes do animal originam esses fatores químicos. Quando outros indivíduos detectam a presença dessas substâncias na água, esses imediatamente deflagram resposta anti-predatória, ou seja, a reação de alarme (Chivers & Smith, 1998).

A percepção química como passo inicial do comportamento antipredatório tem sido estudada principalmente nos grupos dos animais vertebrados, como mamíferos (Boyles & Storm, 2007), peixes (Jordão & Volpato, 2000; Brown *et al*, 2004; Barreto & Hoffmann, 2007 a, b, c; Speedie & Gerlai, 2008), anfíbios (Chivers, 1999; Peacor, 2006) e répteis (Dial & Schwenk, 1988; Martin, 2001). Em menor número, alguns estudos foram realizados com invertebrados, como em caranguejos (Palmer, 1990), gastrópodes (Trussel & Nicklin, 2002; Jacobsen & Stabell, 2004) e em alguns equinodermos (Rosemberg & Selander, 2000; Campbell *et al*, 2001, Hagen *et al*, 2002). Entretanto, pouco se sabe sobre esse tipo de resposta nesses animais e mais estudos, então, são necessários para esclarecer como esses organismos lidam com seus predadores. Baseado nisso, nosso interesse incide especialmente nos equinodermos que, por serem um táxon basal dos deuterostômios e possuírem certas analogias quanto seus quimiorreceptores em relação aos vertebrados (Raible *et al*, 2006), forneceria evidências da evolução do comportamento anti-predatório nesses animais.

Nos ouriços-do-mar, a percepção química é a principal modalidade sensorial utilizada para a localização de alimentos (Hay *et al*, 1986) e de

predadores (Mann *et al*, 1984). Os ouriços possuem receptores químicos nos pés ambulacrários, espinhos e pedicelárias que provavelmente permitem detectar essas informações químicas (Campbell *et al*, 2001; Raible *et al*, 2006). Atribui-se a capacidade de perceber facilmente as informações químicas da água o fato desses animais terem movimentação lenta, o que auxiliaria ainda na diferenciação qualitativa de odores e na concentração do estímulo químico, conforme hipótese sugerida por Pisut (2004). É provável, portanto, que os ouriços tenham a capacidade de distinguir entre pistas diretas, indiretas, bem como variações dessas e, assim, apresentarem respostas distintas quando inseridas em um desses contextos.

Os ouriços-do-mar são consumidores primários e, devido a esta posição trófica, devem ter sofrido intensa pressão seletiva de predadores. De fato, os ouriços-do-mar são predados por vários animais, como peixes (Mann *et al*, 1984; Sala & Zabala, 1996; McClanahan, 2000), lagostas (Tegner & Levin, 1985; Scheibiling & Hamm, 1991; Andrew & MacDiarmid, 2001; Pederson & Johnson, 2006), estrelas-do-mar (Duggins, 1983; Freeman, 2005; Clemente *et al*, 2007), caranguejos (Mann, 1982; Hagen *et al*, 2002), gastrópodes (Levitan & Genovese, 1989; McClanahan, 1999; Sanford, 2002) e, em menor número, por lontras (Estes & Palmisano, 1974; Duggins, 1983) e aves marinhas (Schneider, 1985; Wotton, 1995). Dessa forma, visto que a quimiorrecepção é o principal sentido nesses animais, sugerimos a hipótese de que tais animais usam tanto o odor de predador quanto odor de coespecíficos injuriados para se defenderem. Além disso, tais predadores de ouriços-do-mar são na verdade generalistas, alimentando-se de outras presas também. Alguns ouriços evoluíram co-habitando o mesmo ambiente que outros animais presas sob a pressão dos mesmos predadores. Assim, sugerimos também a hipótese de que pistas de presas heteroespecíficas podem ser importantes indicadores de risco de predação para os ouriços.

O ouriço-do-mar *Echinometra lucunter* é predado por estrelas-do-mar, como a *Oreaster reticulatus* (Guzman & Guevara, 2002), que por sua vez é generalista e consome também o ouriço *Lytechinus variegatus* (Martin *et al*, 2001) e o mexilhão *Perna perna*. Essas presas da estrela co-habitam o mesmo

ambiente. Esses sistemas presas-predador são, portanto, adequados para o presente estudo. O objetivo deste estudo foi avaliar se as respostas comportamentais do ouriço *Echinometra lucunter* submetido ao odor de predador são moduladas pelo tipo de presa ingerida previamente pelo predador. Num segundo momento, avaliamos as respostas dos ouriços submetidos a atos simulados de predação, através da exposição dos mesmos ao extrato de coespecíficos e outras presas simpátricas a esses animais.

Experimentos para avaliar as respostas anti-predatórias dos ouriços-domar contra potenciais predadores compreende diversos comportamentos. Podemos listar, por exemplo, fuga (Campbell *et al*, 2001); redução do movimento e adesão substancial ao substrato (Hagen *et al*, 2002); agregação dos animais (Hagen & Mann, 1994; Campbell *et al*, 2001) e procura de locais, utilizando-as como refúgio (Neill, 1988). Em ouriços jovens, de menor tamanho, é possível observar também o comportamento de se cobrir com conchas (Dayton *et al*, 1977) e algas coralinas (Dummont *et al*, 2007). Operacionalmente, avaliaremos alguns desses padrões comportamentais como potenciais respostas a estímulos químicos que indicam risco de predação para a espécie *E. lucunter*.

2. Materiais e métodos

2.a. Animais e condições de estoque

Espécimes de ouriços-do-mar preto *Echinometra lucunter* (Linnaeus, 1758), ouriço-do-mar verde *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1816), mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758), estrelas do mar *Oreaster reticulatus* (Linnaeus, 1758) e *Echinaster brasiliensis* (Müller & Troschel, 1842) foram coletados em São Sebastião - SP, por meio de mergulho autônomo. Os ouriços e os mexilhões foram mantidos por uma hora em água do mar corrente, para eliminar possíveis substâncias químicas presentes em suas carapaças. Enquanto espécimes de *L. variegatus* e *Perna perna* foram colocados em tanques com água do mar corrente para uso posterior; os de *E. lucunter* permaneceram em aquários de vidro (50x20x50cm) com capacidade de 25L e suprimento contínuo de água do mar (cinco ouriços por caixa) por um período de 24h para aclimação. Cada indivíduo de *E. lucunter* recebeu marcações numeradas em seus espinhos, permitindo a identificação de cada ouriço, que foi utilizado somente uma vez durante todo o experimento. As estrelas-do-mar foram mantidas isoladas individualmente por 7 dias em tanques de 30L com água do mar corrente, para que qualquer resquício de alimento fosse eliminado. Os animais foram mantidos sob fotoperíodo de 12h de claro e de escuro.

2.b.1. Delineamento experimental: odor de predador

Nossa estratégia experimental foi avaliar se o *Echinometra lucunter* é capaz de responder a pistas químicas de animais predadores e não predadores. Para tal, utilizamos odor de estrelas-do-mar equinívora *Oreaster reticulatus* alimentadas com ouriço coespecífico (*E. lucunter*), heteroespecífico (*Lytechinus variegatus*), com mexilhões (*Perna perna*) ou em jejum (1 estrela por tratamento). Testamos ainda o odor de estrelas-do-mar não equinívoras (27 estrelas) *Echinaster brasiliensis*, alimentadas com mexilhões (*P. perna*), controlando qualquer resposta inespecífica dos *E. lucunter* ou simplesmente

adicionamos água do mar não condicionada, controlando, assim, os procedimentos laboratoriais.

O estímulo do predador foi preparado através da imersão de uma estrela-do-mar em um aquário com água do mar corrente. Cada estrela recebeu o equivalente a 5% de seu peso em alimento, de acordo com cada tratamento (Tabela 1). O alimento foi mantido no aquário das estrelas por 24h. Ao término deste período, as estrelas foram retiradas do tanque, lavadas em água do mar corrente e colocadas em novos aquários com água do mar sintética, evitando-se a presença de qualquer odor vindo do suprimento de água do mar do ambiente. Como houve diferença de tamanho entre as estrelas, estabelecemos a razão de 300g de massa corpórea para cada 2L de água, para evitar possíveis diferenças na 'concentração' dos odores (Tabela 1). As estrelas foram mantidas em água do mar sintética por 24h, sob aeração constante e sem sistema de filtragem ou renovação de água, para que as substâncias químicas liberadas pelas estrelas não fossem eliminadas. Após este período, a água do aquário foi filtrada com lã de vidro (Chivers & Smith, 1994), distribuída em alíquotas de 500ml e congelada para uso posterior (Hagen *et al*, 2002).

Tabela 1. Produção dos odores experimentais

Estrela do mar	Peso total da estrela (g)	5% peso da estrela (g) em alimento	Água artificial (L)
<i>O. reticulatus</i>	1245	62,25	<i>E. lucunter</i> 8,30
<i>O. reticulatus</i>	1285	64,25	<i>L. variegatus</i> 8,57
<i>O. reticulatus</i>	1750	87,5	<i>P. perna</i> 11,67
<i>O. reticulatus</i>	2150	107,5	água do mar 14,33
<i>E. brasiliensis</i>	755	37,75	<i>P. perna</i> 5,03
Controle	0	0	água do mar 5,00

As estrelas foram alimentadas com gônadas de ouriços e com mexilhões sem conchas.

2.b.2. Delineamento experimental: extrato das presas

Para avaliar se o *Echinometra lucunter* responde a pistas químicas de animais fisicamente injuriados por um potencial ataque de predador, utilizamos extrato de ouriço coespecífico *E. lucunter*, heteroespecífico *Lytechinus*

variegatus, de mexilhões *Perna perna* e água do mar sintética não condicionada (controlando, assim, os procedimentos laboratoriais).

O extrato dos animais foi preparado utilizando 100g de massa corpórea total do animal macerado diluído em 500ml de água marinha sintética. Dessa solução, 80ml foram diluídos em 5L de água marinha sintética, separados em alíquotas de 500ml e congeladas para uso posterior (Hagen *et al*, 2002).

2.b.3. Delineamento experimental: aspectos gerais

Os ouriços foram mantidos em grupos de cinco animais por aquário com água do mar corrente. Para que o odor não fosse eliminado do aquário antes do tempo total de observação, o sistema de água corrente era desligado e os aquários eram mantidos com aeração constante com 1h de antecedência do início dos experimentos. As alíquotas de estímulos (odores ou extratos) foram então descongeladas e colocadas nos aquários dos ouriços. O comportamento dos ouriços foi observado durante 5 minutos antes e 15 minutos após a adição de algum estímulo químico nos tanques. Nossa unidade amostral foi um grupo de 5 ouriços, dez réplicas foram realizadas em cada tratamento.

2.c. Observação comportamental

Utilizamos uma classificação binária para quantificação do estiramento dos pés ambulacrários e movimento dos espinhos, ou seja, atribuímos valor 1 quando o comportamento ocorria e zero em sua ausência:

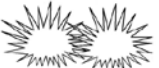
1) *Estiramento dos pés ambulacrários*: os pés ambulacrários podem estar retraídos (0) ou estirados (1).

2) *Movimento dos espinhos*: o animal pode não apresentar (0) ou apresentar (1) movimentação dos espinhos.

No caso da agregação dos ouriços, considerada apenas quando os espinhos de dois ou mais animais intercalavam-se, a quantificação foi realizada da seguinte forma (Tabela 2):

3) *Agregação*: animais separados (0), em dupla (2), em trio (3), quatro (4) ou cinco (5) animais.

Tabela 2. Quantificação do comportamento de agregação do ouriço *E. lucunter*.

Agrupamento de ouriços	Valor individual	Valor total por aquário
	0	0
	2+2	4
	2+2, 2+2	8
	3+3+3	9
	2+2, 3+3+3	12
	4+4+4+4	16
	5+5+5+5+5	25

Além desses comportamentos, foi quantificada a dispersão, que representa o nível de deslocamento no espaço em relação ao baricentro de cada animal. Para tal, o fundo do aquário foi dividido em quadrantes de 10 cm e a posição no espaço foi estimada pela presença da maior porção do ouriço em um dado quadrante. Esses dados foram dispostos em eixo X-Y. A posição média de cada ouriço no eixo X e no eixo Y são as coordenadas do baricentro médio (calculada a cada 10 min). Esse procedimento foi adaptado do trabalho anterior de Jordão & Volpato (2000).

2.d. Análise estatística

Os dados analisados foram as médias de cada grupo de 5 ouriços para cada parâmetro. Os valores pós-estímulo foram subdivididos em períodos de 5min, para que o valor pré-estímulo (5 min) fosse subtraído dos mesmos, permitindo que cada indivíduo atuasse como seu próprio controle; e utilizamos esse tempo total corrigido em nossas análises.

Para comparar os valores entre os tratamentos, utilizamos o teste de Kruskal-Wallis e, quando necessário, esses testes foram complementados pelo

teste de Newman-Keuls. Diferenças estatísticas foram consideradas quando $p < 0,05$.

3. Resultados

3.a. Odor do predador

O teste de Kruskal-wallis revelou diferenças estatísticas entre os diferentes odores para o estiramento dos pés ambulacrários ($p=0,0012$). O perfil de estiramento dos pés ambulacrários (Figura 1) em *E. lucunter* não apresentou diferenças entre os odores de *O. reticulatus* alimentada com *E. lucunter*, *L. variegatus* e *P. perna*, mas diferiu dos odores em jejum, de *Echinaster* e do controle.

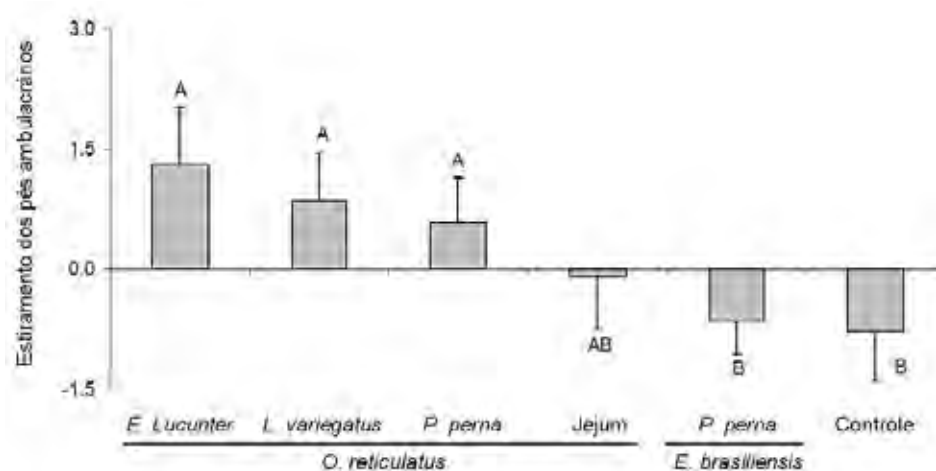


Figura 1. Perfil de estiramento dos pés ambulacrários (média $\pm$ d.p.) de *Echinometra lucunter* para cada tratamento. Médias que não compartilham a mesma letra são estatisticamente diferentes (Kruskal-Wallis, $p<0,05$; $n=10$).

A movimentação dos espinhos (Figura 2) não diferiu entre os odores de *Oreaster reticulatus* em jejum ou alimentada com *E. lucunter*, mas diferiu entre estes e os demais odores de *Oreaster*, *Echinaster* e do controle (Kruskal-Wallis, $p=0,0136$).

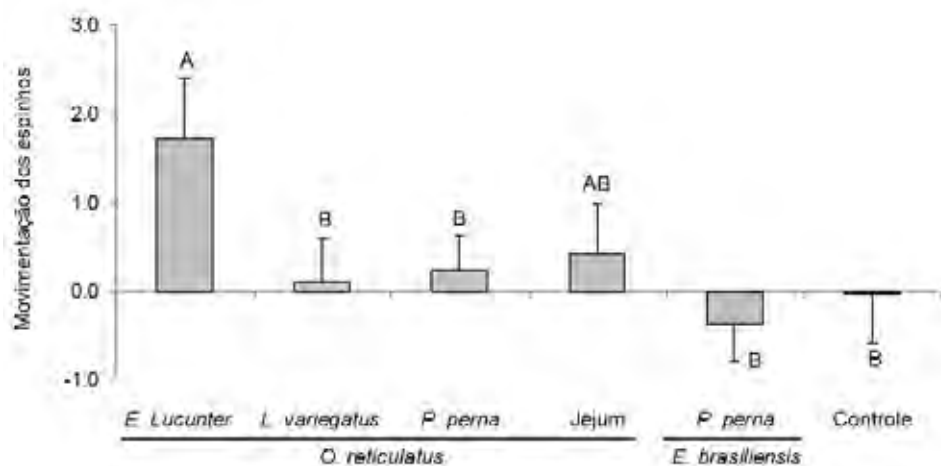


Figura 2. Movimentação dos espinhos (média $\pm$ d.p.) de *Echinometra lucunter* para cada tratamento. Médias que não compartilham a mesma letra são estatisticamente diferentes (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$; $n = 10$).

Não houve diferença estatística na agregação (Figura 3) ou na dispersão (Figura 4) dos ouriços entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$).

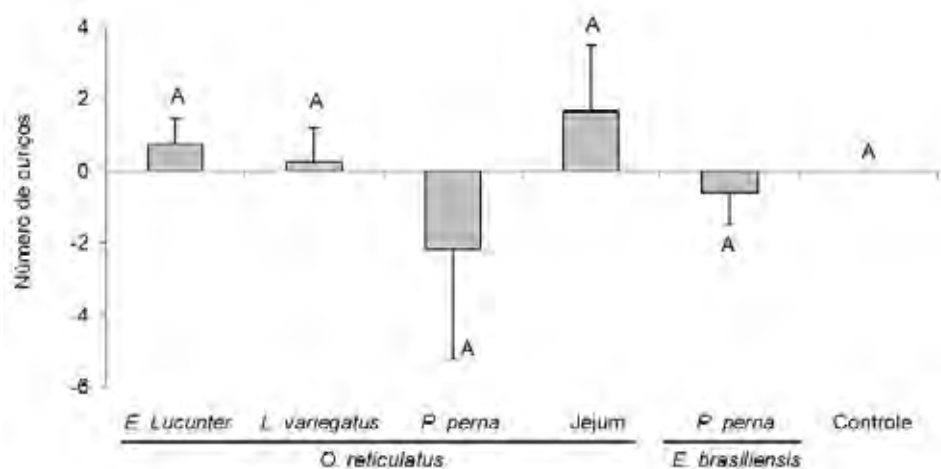


Figura 3. Agregação (média do número de ouriços $\pm$ d.p.) de *Echinometra lucunter* para cada tratamento. Médias que não compartilham a mesma letra são estatisticamente diferentes (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$; $n = 10$).

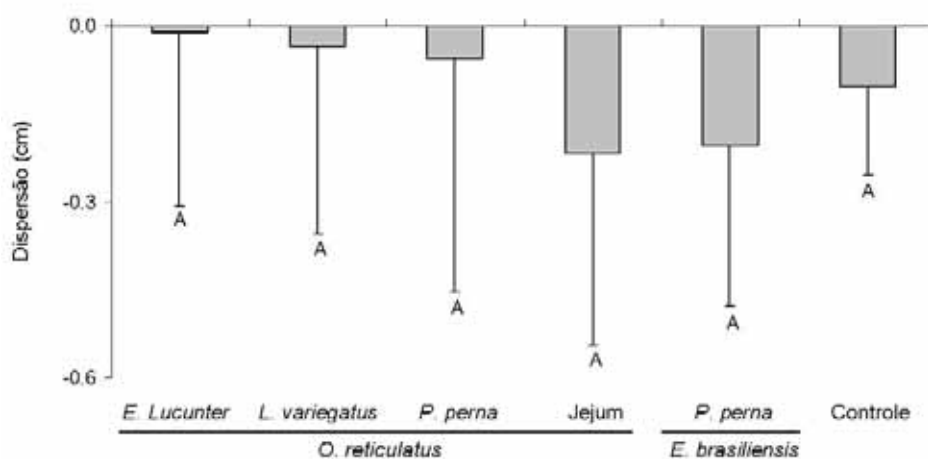


Figura 4. Dispersão (média $\pm$ d.p.) de *Echinometra lucunter* para cada tratamento. Médias que não compartilham a mesma letra são estatisticamente diferentes (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$; $n = 10$).

3.b. Extrato das presas

O estiramento dos pés ambulacrários de *Echinometra lucunter* (Figura 5) não apresentou diferença entre os extratos de *E. lucunter* e *Lytechinus variegatus*. Porém, o perfil de estiramento de *E. lucunter* foi maior quando comparado ao extrato de mexilhão e ao controle (Kruskal-Wallis, $p = 0,0187$).

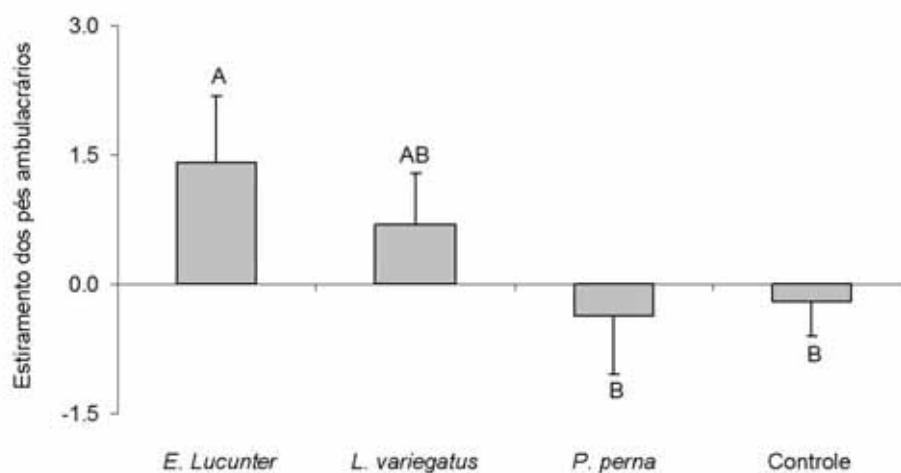


Figura 5. Perfil de estiramento dos pés ambulacrários (média $\pm$ d.p.) de *Echinometra lucunter* para cada tratamento. Médias que não compartilham a mesma letra são estatisticamente diferentes (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$; $n = 10$).

A movimentação de espinhos dos ouriços do mar (Figura 6) foi significativamente menor para o controle, quando comparado aos extratos de *E. lucunter*, *L. variegatus* e mexilhão (Kruskal-Wallis, $p=0,0004$).

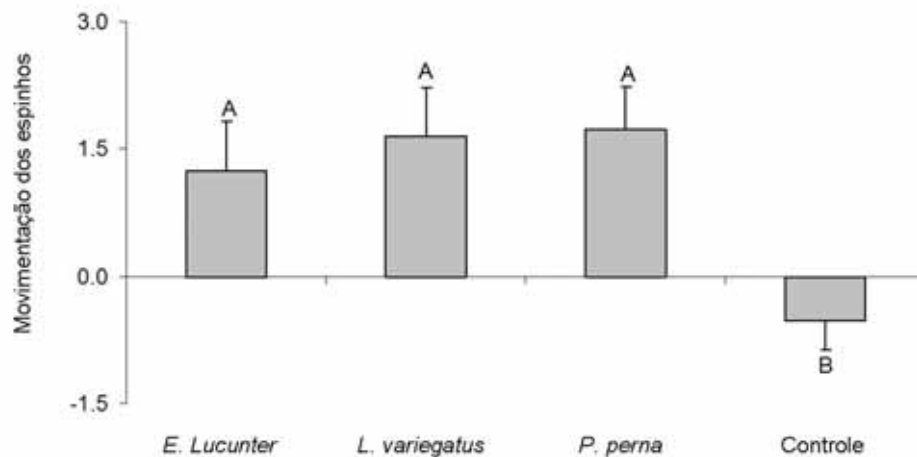


Figura 6. Movimentação dos espinhos (média $\pm$ d.p.) de *Echinometra lucunter* para cada tratamento. Médias que não compartilham a mesma letra são estatisticamente diferentes (Kruskal-Wallis, $p<0,05$; $n=10$).

O número de ouriços agregados (Figura 7) no extrato de *E. lucunter* foi maior quando comparado ao número de ouriços nos extratos de mexilhão e controle, mas não diferiu do valor de *L. variegatus* (Kruskal-Wallis, $p=0,0313$).

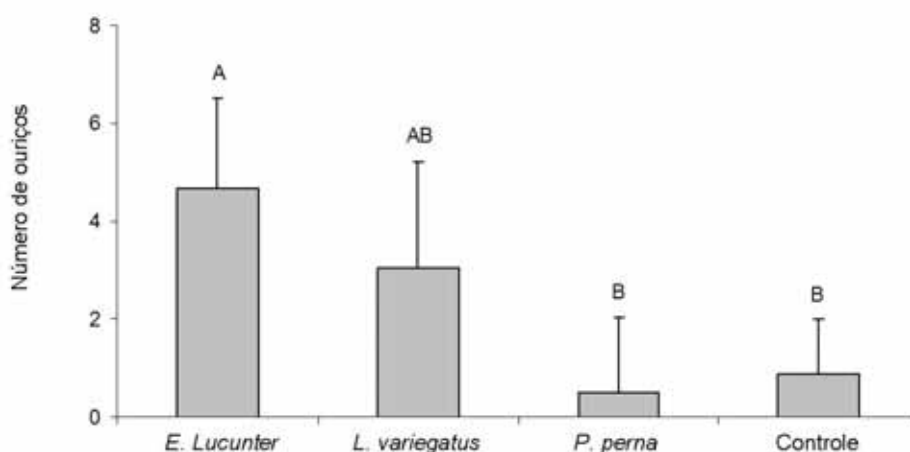


Figura 7. Agregação (número de ouriços $\pm$ d.p.) de *Echinometra lucunter* para cada tratamento. Médias que não compartilham a mesma letra são estatisticamente diferentes (Kruskal-Wallis, $p<0,05$; $n=10$).

Não houve diferença nos valores de dispersão dos ouriços (Figura 8) entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $p=0,7813$).

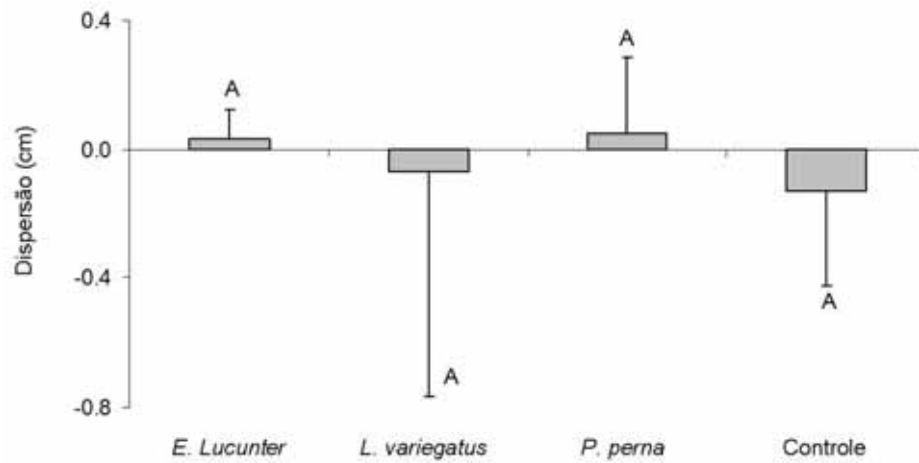


Figura 8. Dispersão (média $\pm$ d.p.) de *Echinometra lucunter* para cada tratamento. Médias que não compartilham a mesma letra são estatisticamente diferentes (Kruskal-Wallis, $p<0,05$; $n=10$).

4. Discussão

4.a. Odor do predador

O padrão de estiramento dos pés ambulacrários em *E. lucunter*, para diferentes odores de predadores, indica que os ouriços reconhecem o predador, desde que esse tenha se alimentado, independentemente da presa que ele consumiu. A resposta frente ao predador que não se alimentou foi mais variável, sendo estatisticamente similar aos grupos controles (sem odor e odor de estrela não equinívora) e aos odores de predador. Isso indica que o predador é reconhecido quimicamente se este se alimentou, mas quando em jejum, a resposta sugere que ele pode ser reconhecido ou não. Por outro lado, os ouriços são capazes de diferenciar estrelas equinívoras de não equinívoras, similar ao experimento de Scheibling & Hamm (1991), onde ouriços da espécie *Strongylocentrotus droebachiensis* responderam ao odor do caranguejo equinívoro *Cancer irroratus*, mas não ao odor de *Carcinus maenas*, que não utiliza o ouriço-do-mar como alimento.

Enquanto metade dos ouriços *Strongylocentrotus droebachiensis* expostos ao odor de peixe-lobo (*Anarhichas lupus*, alimentado com coespecífico) cessaram movimento (Hagen *et al*, 2002); *E. lucunter* não respondeu alterando sua atividade locomotora. Contudo, eles aumentaram o movimento dos espinhos para o odor de predador alimentado com coespecífico e apresentaram um padrão de resposta variável para o predador em jejum. Durante a predação, peixes e caranguejos retiram os ouriços do substrato e começam a se alimentar pela região oral, enquanto as estrelas-do-mar evertem seu estômago para o interior dos ouriços pelo orifício anal e, portanto, não precisam retirá-los do substrato. Assim, diferentes padrões de respostas tornam-se necessários, e são dependentes do tipo de predador forrageando num determinado local. Então, a movimentação dos espinhos dos ouriços é eficiente para evitar a aproximação da estrela-do-mar, mas não de outros potenciais predadores, como peixes e caranguejos, explicando a diferença de resultados entre esse experimento e de Hagen *et al* (2002).

Conforme descrito por Hagen *et al* (2002), os padrões de respostas ao odor do predador são modulados pela dieta do mesmo, ou seja, quando o

predador se alimenta de coespecífico da presa, a resposta é mais intensa do que a exibida frente ao estímulo do predador alimentado com algum animal heteroespecífico. Neste experimento, *E. lucunter* apresentou o mesmo padrão, ou seja, respostas mais pronunciadas quando exposto ao odor de estrela-do-mar equinívora alimentada com coespecífico, quando comparadas aos demais odores. Isto mostra que *E. lucunter* foi capaz de reconhecer *Oreaster reticulatus* como potencial predador (Guzman & Guevara, 2002), desde que alimentada, e tal capacidade de reconhecimento depende da dieta do predador, modulando a intensidade da resposta, sendo maior frente aos predadores que se alimentaram de coespecíficos.

4.b. Extrato das presas

Neste estudo, observamos que *E. lucunter* estirou os pés ambulacrários frente aos extrato de *E. lucunter* e *L. variegatus*, enquanto que retraiu para o extrato de mexilhão e para o controle (água do mar sintética). Em relação ao movimento dos espinhos, qualquer um dos extratos contendo odor animal (extrato de *E. lucunter*, *L. variegatus* ou mexilhão) induz aumento de movimentação, porém, na ausência de odor não há movimentação dos espinhos. Em ouriços-do-mar, tanto os pés ambulacrários quanto os espinhos possuem receptores químicos e mecânicos (Sloan & Campbell, 1982). Porém, os pés ambulacrários são mais sensíveis a pistas químicas, uma vez que apresentam a função de localizar o alimento, enquanto os espinhos oferecem maior proteção ao animal. Assim, o perfil de resposta dos pés ambulacrários mostra que *E. lucunter* distingue pistas químicas de ouriços coespecíficos e heteroespecíficos, mas não a pistas químicas liberadas por outro animal simpátrico filogeneticamente distante, neste caso, o mexilhão. Já para o perfil de movimentação dos espinhos, tal resposta sugere que pelos espinhos os ouriços distinguem odor de presas coespecíficas e heteroespecíficas e respondem a esses estímulos na mesma magnitude.

Considerando conjuntamente tanto as respostas dos pés ambulacrários quanto dos espinhos, observamos um aumento de respostas induzidas pelos odores conforme aumenta a proximidade filogenética da presa. Essa

possibilidade parece plausível, pois um estímulo vindo de coespecíficos ou de um animal simpátrico filogeneticamente próximo ou não tende a ter diferentes significados, em termos de relevância em indicar risco de morte. Provavelmente, isso deve ocorrer vindo exatamente dos processos associados à evolução destes sistemas sinalizador-receptor, ou seja, o primeiro sistema selecionado deve ter sido entre presas coespecíficas e os outros surgiram posteriormente. Além disso, os extratos de ouriço devem possuir alguma(s) substância(s) que o de mexilhão não possui, ou apresenta concentração diferencial das mesmas substâncias, levando a diferentes intensidades de respostas.

Uma vez que as informações do ambiente são captadas pelos espinhos e pés ambulacrários, a resposta motora é efetivada. As principais respostas anti-predatórias em ouriços são fuga (Campbell *et al*, 2001); redução do movimento (Hagen *et al*, 2002) e agregação dos animais (Hagen & Mann, 1994; Campbell *et al*, 2001). Para testar estes parâmetros, observamos a locomoção dos animais, por meio da avaliação da dispersão dos mesmos em relação a seu baricentro, e ao nível de agregação dos ouriços. Enquanto neste experimento, não detectamos resposta locomotora frente ao odor de presas injuriadas, Campbell *et al* (2001) evidenciaram alta taxa de locomoção para ouriços *Echinus eculeatus* e *Psammechinus miliaris* expostos a extratos de coespecíficos, assim como *L. variegatus* e *Tripneustes ventricosus* (Vadas & Elner, 2003). Por outro lado, os ouriços *E. lucunter* apresentaram maior taxa de agregação para os estímulos de *E. lucunter* e *L. variegatus* quando comparados aos estímulos de mexilhão e do controle sem odor, respondendo somente ao extrato de ouriços. Similarmente, *Strongylocentrotus droebachiensis* também se agregam quando expostos a extrato de coespecíficos (Hagen *et al*, 2002; Mann *et al*, 1984).

Avaliando a resposta comportamental dos ouriços expostos a extratos de presas em potenciais, podemos observar o seguinte padrão: o estiramento dos pés ambulacrários faz com que os ouriços se agreguem; uma vez agregados, os animais diminuem a movimentação dos espinhos e sem a necessidade de ampla locomoção, permanecem em grupos num determinado

local. Dessa forma, a resposta anti-predatória torna-se eficiente, pois ouriços agrupados dificultam a manipulação por potenciais predadores (Mann, 1982; Bernstein *et al*, 1983).

4.c. Comentários gerais

Considerando as respostas induzidas pelos odores de predador e de presas injuriadas, podemos dizer que os ouriços pretos devem ser capazes de utilizar essas duas fontes de informações sensoriais químicas para se defenderem das estrelas equinívoras. Quando o predador se alimentou, o ouriço o reconheceu provavelmente pelo processo de marcação química ('labelling') do predador, facilitando as ações defensivas. Além disso, alguns estímulos são mais relevantes do que outros, como no caso dos predadores que se alimentaram de coespecíficos. Por outro lado, quando o predador está em jejum, ele não possui a marcação química e, de fato, seu reconhecimento não foi tão evidente. Um predador em jejum obviamente está mais propício a se alimentar e, portanto, é o que oferece maior risco para as presas. Como se defender nessa situação? Nesse caso, os odores vindos de presas injuriadas devem ser as principais pistas. De fato, os *E. lucunter* foram eficientes em distinguir e responder a esse tipo de pista química, sendo as mais relevantes aquelas vindas de outros ouriços coespecíficos ou heteroespecíficos. O odor de mexilhão injuriado fisicamente induz resposta mais fraca, sugerindo uma relação filogenética em respeito às substâncias (tipo ou concentração) presentes em tais fatores químicos.

Um último comentário remete a possível evolução desses mecanismos de reconhecimento dos predadores por pistas químicas nos vertebrados. Este estudo mostra que ouriços-do-mar *Echinometra lucunter* são capazes de identificar potenciais predadores, além de distinguir e reagir a diferentes extratos de animais, coespecíficos ou não. Essas respostas, já documentadas em peixes (Giaquinto & Volpato, 2001; Brown *et al*, 2004; Barreto & Hoffmann, 2007 a, b, c; Speedie & Gerlai, 2008), mamíferos (Boyles & Storm, 2007) e outros vertebrados (Chivers, 1999; Martin, 2001), indicam que possivelmente

sua evolução nos vertebrados possui uma base nos Echinodermata, táxon basal dos deuterostômios.

5. Referências Bibliográficas*

- Andrew, N.L. & MacDiarmid, A.B. Interrelations between sea urchins and spiny lobsters in northeastern New Zealand. *Marine Ecology Progress Series*, v.70, p.211-222. 1991.
- Barreto, R.E. & Hoffmann, A. The quality but not the quantity of alarm substance modulates ventilatory frequency in pintado catfish. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology*, v.148, S37-S37. 2007a
- Barreto, R.E. & Hoffmann, A. Alarm substance induces hypoventilation in pintado catfish. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology*, v.148, S38-S38. 2007b.
- Barreto, R.E. & Hoffmann, A. Behavioural responses to conspecific skin extract in the Nile tilapia. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology*, v.148, S38-S38. 2007c.
- Bernstein, B.B.; Schroeter, S.C. & Mann, K.H. Sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*) aggregating behavior investigated by a subtidal multifactorial experiment. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v.40, p.1975-1986. 1983.
- Boyles, J.G. & Storm, J.J. Avoidance of predator chemical cues by bats: an experimental assessment. *Behaviour*, v.144, n.9, p.1019-1032. 2007.
- Brown, G.E.; Adrian, J.C.; Patton, T. & Chivers, D.P. Fathead minnows learn to recognize predator odour when exposed to concentrations of artificial alarm pheromone below their behavioural-response threshold. *Canadian Journal of Zoology* v. 79, p. 2239-2245, 2001.
- Brown, G.E.; Foam, P.E.; Cowell, H.E.; Fiore, P.G. & Chivers, D.P. Production of chemical alarm cues in convict cichlids: the effect of diet, body condition and ontogeny. *Annale Zooloci Fennici*, v.41, p.487-499. 2004.
- Campbell, A.C; Coppard, C. D'abreo & Tudor-Thomas, R. Escape and aggregation responses of three echinoderms to conspecific stimuli. *Biological Bulletin*, v. 201, p. 175–185. 2001.
- Clemente, S.; Hernández, J.C.; Toledo, K. & Brito, A. Predation upon *Diadema* aff. *antillarum* in barren grounds in the Canary Islands. *Scientia Marina*, v.71, n.4, p.745-754. 2007.
- Chivers, D.P. Avoidance Response of post-metamorphic anurans to cues of injured conspecifics and predators. *Journal of Herpetology*, v.33, n.3, p.472-476. 1999.
- Chivers, D.P. & Smith, J.F. Fathead minnows, *Pimephales promelas*, acquire predator recognition when alarm substance is associated with the sight of unfamiliar fish. *Animal Behaviour*, v.48, p.597-605. 1994.
- Chivers, D.P. & Smith, J.F. Chemical alarm signalling in aquatic predator-prey systems: a review and prospectus. *Ecoscience*, v.5, p.338–352. 1998.
- Chivers, D.P.; Wisenden, B.D. & Smith, J.F. Damselfly larvae learn to recognize predators from chemical cues in the predator's diet. *Animal Behaviour*, v.52, p.315-320. 1996.

* de acordo com as normas da revista *Behavioural Processes*

- Dayton, P.K.; Rosenthal, R.J.; Mahen, L.C. & Antezena, T. Population structure and foraging biology of the predaceous Chilean asteroid *Meyenaster gelatinosus* and the escape biology of its prey. *Marine. Biology*, v.39, p.361–370. 1977.
- Dial, B.E. & Schwenk, K. Olfaction and predator detection in *Coleonyx brevis* (Squamata: Eublepharidae), with comments on the functional significance of buccal pulsing in geckos. *Journal of Experimental Zoology*, v.276, n.6, p.415-424. 1988.
- Duggins, D.O. Starfish Predation and the Creation of Mosaic Patterns in a kelp-dominated community. *Ecology*, v.64, n.6, p.1610-1619. 1983.
- Dummont, C.P.; Drolet, D.; Deschenes, I. & Himmelman, J.H. Multiple factors explain the covering behaviour in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Animal Behaviour*, v.73, p.979-986. 2007.
- Estes, J.A. & Palmisano, J.F. Sea otters: their role in structuring nearshore communities. *Science*, v. 185, n.4156, p.1058-1060. 1974.
- Freeman, A. Size-dependent trait-mediated indirect interactions among sea urchin herbivores. *Behavioural Ecology*, v.17, p.182–187. 2005.
- Giaquinto, P.C. & Volpato, G.L. Hunger suppresses the onset and the freezing component of the antipredator response to conspecific skin extract in pintado catfish. *Behaviour*, v.138, p.1205-1214. 2001.
- Griffiths, C.L. & Richardson, C.A. Chemically induced predator avoidance behaviour in the burrowing bivalve *Macoma balthica*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.331, p.91– 98. 2006.
- Guzman, H.M. & Guevara, C.A. Annual reproductive cycle, spatial distribution, abundance and size structure of *Oreaster reticulatus* (Echinodermata: Asteroidea) in Bocals del Toro, Panama. *Marine Biology*, v.141, p1077-1084. 2002.
- Hagen, N.T. & Mann, K.H. Experimental analysis of factors influencing the aggregating behaviour of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* (Miller). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.176, p.107-126. 1994.
- Hagen, N.T.; Andersen, A. & Stabell, O.B. Alarm responses of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*, induced by chemically labeled durophagous predators and simulated acts of predation. *Marine Biology*, v.140, p.365–374. 2002.
- Hawkins, L.A.; Magurran, A.E. & Armstrong, J.D. Innate abilities to distinguish between predator species and cue concentration in Atlantic salmon. *Animal Behaviour*, v.73, p.1051-1057. 2007.
- Hay, M.; Lee, R.R.Jr.; Guieb, R.A. & Bennet, M.M. Food preference and chemotaxis in the sea urchin *Arbaxia punctulata* (Lamarck) Philippi. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.96, p.147-153. 1986.
- Jacobsen, H.P. & Stabell, O.B. Antipredator behaviour mediated by chemical cues: the role of conspecific alarm signalling and predator labelling in the avoidance response of a marine gastropod. *Oikos*, v.104, p.43–50. 2004.

- Jordão, L.C. & Volpato, G.L. Chemical transfer of warning information in non-injured fish. *Behaviour*, v.137, p.681-690. 2000.
- Kats, L.B. & Dill, L.M. The scent of death: Chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience*, v.5, n.3, p.361-394, 1998.
- Kicklighter, C.E.; Shabani, S.; Johnson, P.M. & Derby, C.D. Sea hares use novel antipredatory chemical defenses. *Current Biology*, v15, p.549-554. 2005.
- Kiesecker, J.M.; Chivers, D.P. & Blaustein, A.R. The use of chemical cues in predator recognition by western toad tadpoles. *Animal Behaviour*, v.52, p.1237-1245. 1996.
- Levitan, D.R. & Genovese, S.J. Substratum-dependent predator-prey dynamics: patch reefs as refuges from gastropod predation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.130, p.111-118. 1989.
- Lima, S. L. & Dill, L. M. Behavioural decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology*, v.68, p.610-640. 1990.
- Magurran, A.E. Acquired recognition of predator odour in the European minnow (*Phoxinus phoxinus*). *Ethology*, v.82, p.216–223. 1989.
- Mann, K.H. Kelp, sea urchins and predator: a review of strong interactions in rocky sub-tidal systems of eastern Canada, 1970-1980. *Netherlands Journal of Sea Research*, v.16, p.414-423. 1982.
- Mann, K.H.; Wright, J.L.C.; Welsford, B.E. & Hatfield, E. Response of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* (O.F.Müller) to water-borne stimuli from potential predators and potential food algae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.79, p.233-244. 1984.
- Marcus, J.P. & Brown, G.E. Response of pumpkinseed sunfish to conspecific chemical alarm cues: an interaction between ontogeny and stimulus concentration. *Canadian Journal of Zoology*, v. 81, p.1671-1677. 2003.
- Martin, A.; Penchaszadeh, P. & Atienza, D. Densidad y hábitos alimentarios de *Oreaster reticulatus* (Linnaeus, 1758) (Echinodermata, Asteroidea) en praderas de fanerógamas marinas de Venezuela. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, v.17, p.203-208. 2001.
- Martin, J. When hiding from predators is costly: Optimization of refuge use in lizards. *Etologia*, v.9, p. 9-13. 2001.
- Mathis, A.; Chivers, D.P. & Smith, J.F. Chemical alarm signals: predator deterrents or predator attractants? *The American Naturalist*, v.145, n.6, p.994-1005. 1995.
- McClanahan, T.R. Predation and the control of the sea urchin *Echinometra viridis* and fleshy algae in the patch reefs of Glovers Reef, Belize. *Ecosystems*, v.2, n.6, p. 511-523. 1999.
- McClanahan, T.R. Recovery of a coral reef predator, *Balistapus undulatus*, in East African marine parks. *Biological Conservation*, v. 94, p.191-198. 2000.
- Mirza, R.S. & Chivers, D.P. Influence of body size on the responses of fathead minnows, *Pimephales promelas*, to damselfly alarm cues. *Ethology*, v.109, p.691-699. 2003.

- Moir, F. & Weissburg, M.J. Cautious cannibals: Behavioral responses of juvenile and adult blue crabs to the odor of injured conspecifics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.369, p.87–92. 2009.
- Neill, B.J. Experimental analysis of burrow defense in *Echinometra mathaei* (de Blainville) on Indo-West Pacific reef flat. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.115, p.127-136. 1988.
- Palmer, A.R. Effect of crab effluent and scent of damaged conspecifics on feeding, growth, and shell morphology of the Atlantic dogwhelk *Nucella lapillus* (L.). *Hydrobiologia*, v.193, p.155-182. 1990.
- Peacor, S.D. Behavioural response of bullfrog tadpoles to chemical cues of predation risk are affected by cue age and water source. *Hydrobiologia*, v.573, n.1, p.34-39. 2006.
- Pederson, H.G. & Johnson, C.R. Predation of the sea urchin *Heliocidaris erythrogramma* by rock lobsters (*Jasus edwardsii*) in no-take marine reserves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.336, p.120–134. 2006.
- Pfeiffer, W. The distribution of fright reaction and alarm substances cells in fishes. *Copeia*, v.7, p.653-665. 1977.
- Pisut, D.P. The distance chemosensory behavior of the sea urchin *Lytechinus variegatus*. Georgia Institute of Technology (Tese de Mestrado), p.6-12. 2004.
- Raible, F.; Tessmar-Raible, K.; Arboleda, E.; Kaller, T.; Bork, P.; Arendt, D. & Arnone, M.I. Opsins and clusters of sensory G-protein-coupled receptors in the sea urchin genome. *Developmental Biology*, v.300, p.461–475. 2006.
- Rosemberg, R. & Selander, E. Alarm signal response in the brittle star *Amphiura filiformis*. *Marine Biology*, v.136, p.43-48. 2000.
- Sala, E. & Zabala, M. Fish predation and the structure of the sea urchin *Paracentrotus lividus* populations in the NW Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*, v.140, p. 71-81. 1996.
- Sanford, E. The feeding, growth, and energetics of two rocky intertidal predators (*Pisaster ochraceus* and *Nucella canaliculata*) under water temperatures simulating episodic upwelling. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.273, p.199–218. 2002.
- Scheibiling, R.E. & Hamm, J. Interactions between sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*) and their predators in field and laboratory experiments. *Marine Biology*, v.110, p.105-116. 1991.
- Schneider, D.C. Predations on the urchin *Echinometra lucunter* (Linnaeus) by migratory shorebirds on a tropical reef flat. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.92, p.19-27. 1985.
- Sloan, N.A. & Campbell, A.C. Perception of food. In: *Echinoderm Nutrition*, M. Jangoux and J. N. Lawrence, ed. A. A. Balkema, Rotterdam. p.3-23. 1982.
- Speedie, N. & Gerlai, R. Alarm substance induced behavioral responses in zebrafish (*Danio rerio*). *Behavioural Brain Research*, v.188, p.168–177. 2008.

- Tegner, M.J. & Levin, L.A. Spiny lobsters and sea urchins: analysis of a predator-prey interaction. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.73, p.125-150.1985.
- Trussel, G.C. & Nicklin, M.O. Cue sensitivity, inducible defense and trade-offs in a marine snail. *Ecology*, v.83, n.6, p. 1635–1647. 2002.
- Vadas, R.L. & Elner, R.W. Responses to predation cues and food in two species of sympatric, tropical sea urchins. *Marine Ecology*, v.24, n.2, p.101-121. 2003.
- Wisenden, B.D. & Millard, M.C. Aquatic flatworms use chemical cues from injured conspecifics to assess predation risk and to associate risk with novel cues. *Animal Behaviour*, v.62, p.761–766
- Wisenden, B.D. Olfactory assessment of predation risk in the aquatic environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London series B-biological sciences*, v.355, n.1401, p.1205-1208. 2000.
- Wootton, J.T. Effects of birds on sea urchins and algae: A lower-intertidal trophic cascade. *Ecoscience*, v. 2, n. 4, p. 321-328. 1995.
- Ylonen H.; Kortet R.; Myntti J. & Vainikka, A. Predator odor recognition and antipredatory response in fish: does the prey know the predator diel rhythm? *Acta Oecologica*, v.31, n.1, p.1-7. 2007.