

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 27/02/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Zoologia

Tese de doutorado

MUDANÇAS DO CLIMA E COMUNICAÇÃO QUÍMICA: EFEITOS E IMPLICAÇÕES
NAS RESPOSTAS ANTIPREDATÓRIAS

Alexandre Luiz Arvigo

Orientadora: Tânia Marcia Costa

São Vicente – SP
2024

Alexandre Luiz Arvigo

MUDANÇAS DO CLIMA E COMUNICAÇÃO QUÍMICA: EFEITOS E IMPLICAÇÕES
NAS RESPOSTAS ANTIPREDATÓRIAS

Tese apresentada ao curso de pós-graduação em Ciências Biológicas: Zoologia, do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas – Área de Concentração: Zoologia.

Orientadora: Tânia Marcia Costa

São Vicente – SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Arvigo, Alexandre Luiz.

Mudanças do clima e comunicação química : efeitos e implicações nas respostas antipredatórias / Alexandre Luiz Arvigo. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Tânia Marcia Costa

Capes: 20404000

1. Acidificação. 2. Aquecimento Global. 3. Compostos de Nitrogênio. 4. Predação (Biologia). 5. Defesas animais.

Palavras-chave: Acidificação; Aquecimento global; Compostos nitrogenados; Respostas defensivas; Substância de alarme.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Mudanças do clima e comunicação química: Efeitos e implicações nas respostas antipredatórias.

AUTOR: ALEXANDRE LUIZ ARVIGO

ORIENTADORA: TÂNIA MARCIA COSTA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia), pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. TÂNIA MARCIA COSTA (Participação Presencial)
Departamento de Ciências Biológicas e Ambientais / Instituto de Biociências – Câmpus do Litoral Paulista – UNESP

Profa. Dra. ANA CAROLINA LUCHIARI (Participação Virtual)
Departamento de Fisiologia e Comportamento / UFRN (Campus Universitário Lagoa Nova) – Natal (RN)

Prof. Dr. FÁBIO HENRIQUE CARRETERO SANCHES (Participação Presencial)
Departamento Instituto de Ciências do Mar / Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

Profa. Dra. PERCILIA CARDOSO GIAQUINTO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / IBB / UNESP - Botucatu

Prof. Dr. FERNANDO RAFAEL DE GRANDE (Participação Presencial)
Departamento Instituto de Ciências do Mar / Universidade Federal de São Paulo - SP

Botucatu, 27 de fevereiro de 2024

Amanda Regina Sanches
Assistente Administrativo II da Seção Técnica de Pós-graduação
do Instituto de Biociências

Agradecimentos

Esta tese é fruto de um trabalho desenvolvido por diversos envolvidos e espero desta maneira, dar um pequeno gesto de gratidão aos que me auxiliaram durante todo o processo.

Gostaria de começar agradecendo a minha família (Neusa Rodrigues Arvigo, Ayrton Luiz Arvigo, Maria Claudia Arvigo) que me deram o suporte para alcançar este momento desde a graduação até o doutorado. Agradeço a todos os amigos que acumulei ao longo dos anos (Alexandre Alves, Gustavo Barros, Fernando de Grande, Isabela Beverari, João Pedro Mukai, Juan Pardo, Márcio Camargo Araújo João, Maria Clara Habib, Nicoli Zacharczuk, Priscila Granado e Renato Viotto) e que de alguma forma sempre me incentivaram a continuar trilhando o meu caminho dentro daquilo que escolhi à revelia de qualquer dificuldade.

Agradeço também a equipe do Laboratório de Ecologia e Comportamento Animal (Labecom) que foram essenciais para a elaboração e execução deste e de tantos outros trabalhos nesses mais de 10 anos. Em especial ao Caio Akira Miyai que sempre foi uma das pessoas que mais trabalhou comigo para desenvolvermos uma pesquisa de qualidade e com verdadeira contribuição para o mundo científico, e também a Ana Paula Ferreira e Leonardo Cirilo que foram muito importantes no resultado final deste trabalho. Agradeço ao Prof. Dr. Wagner Vilegas que abriu as portas do seu laboratório (Laboratório de Bioprospecção de Produtos Naturais – LBPN) para essa ideia e ao Renan Canute Kamikawachi que foi essencial na elaboração e execução do Capítulo I.

Não posso deixar de agradecer aos meus orientadores durante toda a minha formação Profa. Tânia Marcia Costa e Rodrigo Egydio Barreto, que me auxiliaram durante todos esses anos, em especial durante o desenvolvimento deste trabalho, talvez o mais ambicioso e desafiador de toda minha carreira.

Agradeço ao programa de pós-graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) da Unesp de Botucatu e ao Campus de São Vicente, pela formação e estrutura. Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pela bolsa concedida e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto intitulado, "Impacto das mudanças do clima e da perda da biodiversidade na força das interações tróficas em ecossistemas costeiros" (Número de processo: 2020/03171-4), ao qual o presente trabalho está inserido.

A todos esses e outros tantos, deixo o meu mais sincero “muito obrigado”, afinal essa trajetória só foi possível graças ao apoio de cada um.

Sumário

Agradecimentos	
Resumo	
Abstract	
Considerações Iniciais	4
Referências	9
Capítulo I: Análise descritiva da composição química da substância de alarme em <i>zebrafish</i>	14
Resumo	15
1. Introdução.....	16
2. Materiais e método	17
2.1. Animais e condições de estoque	17
2.2. Delineamento experimental	18
2.3. Procedimentos.....	19
2.3.1. Procedimentos específicos	19
a. Preparação da pista química de alarme	19
b. Preparação dos extratos	19
2.3.2. Identificação das substâncias presentes nas frações bioativas	19
a. Cromatografia líquida e espectrometria de massas	19
2.4. Procedimentos experimentais	20
2.4.1. Estudo bio guiado	20
a. Condições dos aquários.....	20
b. Variáveis resposta.....	21
c. Análise estatística	21
3. Resultados.....	21
4. Discussão.....	24
5. Certificado e autorizações	27
6. Referências.....	28
Capítulo II: Aquecimento global e acidificação oceânica: Efeitos de estressores climáticos no comportamento do amoré	32
Resumo	33
1. Introdução.....	34
2. Materiais e Método	36
2.1. Animais e condições de estoque	36
2.2. Delineamento experimental	36

2.3. Procedimentos.....	38
2.3.1. Procedimentos específicos	38
a. Preparação da pista de alarme	38
b. Controle das variáveis ambientais (temperatura e pH).....	38
2.4. Procedimentos Experimentais	39
a. Condições dos Aquários	39
b. Variáveis comportamentais.....	40
c. Análise dos dados	40
3. Resultados.....	40
4. Discussão.....	43
5. Certificado e autorizações	47
6. Referências.....	48
Considerações Finais.....	52
Referências	54

Resumo

As mudanças do clima começaram a ser observadas em meados do século XX e desde então têm alterado diversas relações ecológicas ao redor do globo. Essas mudanças não poupam nem mesmo as interações presa-predador, nas quais os estressores climáticos podem afetar drasticamente os mecanismos de comunicação química, amplamente utilizados para a detecção de predadores. Tanto o aquecimento global quanto a acidificação oceânica podem prejudicar os processos envolvidos na comunicação química, afetando as etapas de produção, transmissão e recepção do sinal. O estudo dos efeitos desses estressores na interação presa-predador, especialmente na comunicação química, torna-se cada vez mais relevante. Assim, o presente trabalho buscou compreender mais a fundo os mecanismos da comunicação química mediada pela substância de alarme, e os possíveis efeitos do aquecimento e acidificação na recepção do sinal. Inicialmente, investigamos a composição química para elucidar as moléculas responsáveis pela sinalização de risco. Identificamos substâncias nitrogenadas, como esfingolipídeos, aminoácidos e derivados de purina, como principais componentes. Nossos resultados foram corroborados por estudos bioguiados, que demonstraram que a fração polar ainda mantinha as respostas de alarme. Em uma segunda etapa do estudo, avaliamos os comportamentos antipredatórios do amoré quando exposto a substância de alarme em condições de temperatura e pH alterados. Os resultados indicam que tanto o aquecimento quanto a acidificação tiveram um impacto significativo no comportamento dos animais em resposta à substância de alarme. Observamos alterações no tempo de permanência em abrigos e no número de investidas dos peixes expostos as condições de aquecimento e acidificação, em comparação com os peixes em condições controle. Dessa forma evidenciamos que a substância de alarme é uma pista polar, provavelmente com os derivados de purina como seus principais componentes bioativos, e demonstramos efeitos evidentes dos estressores climáticos nas respostas comportamentais, algo que pode representar um desafio significativo para a sobrevivência.

Palavras chave - Substância de alarme, compostos nitrogenados, acidificação, aquecimento global, respostas defensivas.

Abstract

The climate changes began to be observed in the mid-20th century and have since altered various ecological relationships around the world. These changes spare not even predator-prey interactions, where climatic stressors can dramatically affect chemical communication mechanisms, widely used for predator detection. Both global warming and ocean acidification can impair the processes involved in chemical communication, affecting the stages of production, transmission, and reception of the signal. Studying the effects of these stressors on predator-prey interaction, especially in chemical communication, becomes increasingly relevant. Thus, the present work sought to understand more deeply the mechanisms of alarm substance-mediated chemical communication, and the possible effects of warming and acidification on signal reception. Initially, we investigated the chemical composition to elucidate the molecules responsible for risk signaling. We identified nitrogenous substances, such as sphingolipids, amino acids, and purine derivatives, as the main components. Our results were corroborated by bioguided studies, which demonstrated that the polar fraction still maintained alarm responses. In the second stage of the study, we evaluated the anti-predatory behaviors of the Frillfin goby when exposed to alarm substance under altered temperature and pH conditions. The results indicate that both warming and acidification had a significant impact on the Frillfin goby behavior in response to the alarm substance. We observed changes in the time inside shelters and the number of bites by fish exposed to warming and acidification conditions, compared to fish under control conditions. Thus, we demonstrated that the alarm substance is a polar cue, likely with purine derivatives as its main bioactive components, and showed the effects of climatic stressors on behavioral responses, which may represent a significant challenge for survival.

Key words - Alarm substance, nitrogenous substances, acidification, global warming, defensive responses.

1 **Considerações Iniciais**

2 Comunidades ecológicas possuem fatores, como densidade e distribuição dos
3 organismos, naturalmente regulados por interações intra/interespecíficas (por exemplo,
4 predação, competição e mutualismo) sendo estas passíveis de alterações por meio de
5 informações bióticas e abióticas (Dusenbury & Freeman, 1993). Dentre essas interações, a
6 relação presa-predador exerce um papel fundamental na dinâmica das comunidades (Schmitz,
7 2008; Ripple et al., 2001). A percepção da presa em relação ao predador e vice-versa se dá pela
8 interpretação de sinais sensoriais disponíveis no ambiente (Werner & Anholt, 1996; Diehl &
9 Eklov, 1995; Persson & Eklov, 1995), formando uma relevante ponte de transferência de
10 informações, na qual um emissor transmite as informações e um receptor as recebe e as
11 interpreta (Cronin, 2005; Hailman, 1977). Desta forma, todos os processos que direcionam a
12 produção, transmissão, detecção e processamento de sinais sensoriais de outros organismos
13 afetam a dinâmica presa-predador (Draper & Weissburg, 2019). São mecanismos ecológicos
14 como o *arms race* que governam a evolução dessa interação, selecionando predadores que se
15 mostram mais eficientes na capacidade de detectar e capturar uma presa, da mesma forma,
16 apenas presas mais capacitadas para reconhecer e escapar dos predadores sobreviverão (Ferrari
17 et al., 2010). Do ponto de vista da presa, a habilidade de identificar rapidamente uma ameaça
18 pode ser considerada como o primeiro passo para uma resposta antipredatória eficaz (Endler,
19 1986).

20 Essas interações presa-predador quando ocorrem em ambientes aquáticos tem na
21 comunicação química um fator de grande relevância. Afinal, pistas químicas podem se dissolver
22 facilmente e dispersar-se de maneira muito eficaz (Hara, 1994), com potencial para persistir por
23 grandes distâncias e longos períodos (Weissburg et al., 2014). Ela é ainda mais relevante em
24 situações nas quais a visão está prejudicada em função da turbidez ou baixa luminosidade, além
25 de se tornar essencial para organismos que apresentam a visão pouco desenvolvida (Wisenden,
26 2000). Entretanto, o ambiente aquático pode oferecer algumas limitações para este tipo de
27 comunicação, especialmente em áreas com grande turbulência ou alto fluxo de água (Mirza &
28 Chivers, 2001). Todas as interações ecológicas são extremamente complexas e as características
29 do emissor e receptor afetam essa troca de informações. Contudo, o contexto ambiental também
30 apresenta um papel importante para essa dinâmica (Draper & Weissburg, 2019). Por exemplo,
31 locais com características de turbulência e alto fluxo de água podem prejudicar a ação dos
32 predadores por interferir na capacidade de encontrarem presas através do uso de sinais
33 químicos, reduzindo o consumo (Weissburg & Zimmerfaust, 1994). Além disso, essas mesmas
34 condições ambientais podem aprimorar a capacidade de presas detectarem remotamente os

predadores por meio dessa sinalização química, deflagrando respostas antipredatórias (Pruett & Weissburg, 2018; Smee et al., 2010; Shears et al., 2008; Leonard et al., 1998).

Impactos antropogênicos podem afetar processos sensoriais importantes para a interação presa-predador modulando o contexto ambiental. Os efeitos das mudanças do clima começaram a ser observados em meados do século XX e alteram diversas relações ecológicas ao redor do globo (Kowalewska et al., 2020; Chen et al., 2011; Hickling et al., 2006; Perry et al., 2005; Parmesan & Yohe, 2003). A intensificação das emissões de dióxido de carbono (CO₂) provenientes das atividades humanas modificou muitas condições ambientais. Os aumentos médios de temperatura, por exemplo, devem exceder os 2°C até 2100, segundo o IPPC (2021). Impactos relacionados ao aquecimento estão cada vez mais presentes na literatura e evidenciam o seu forte efeito sobre a interação presa-predador. Estudos mostram que o aumento da temperatura pode afetar o equilíbrio metabólico de predadores, elevando a atividade destes organismos e aumentando a demanda de forrageamento. Esse fenômeno aumentaria a pressão sobre as presas e poderia afetar o equilíbrio de sua densidade, como já foi demonstrado em grupos como peixes e crustáceos (Goldenberg et al., 2018; Wu et al., 2017; Pistevos et al., 2015). Em contrapartida, outros trabalhos evidenciam alterações relacionadas à temperatura em espécies de presas. Nesses casos, o aquecimento pode levar à redução da atividade dos animais (Kidawa et al., 2010) e até mesmo, à supressão do metabolismo, reduzindo a eficiência das respostas antipredatórias (Paganini et al., 2014). Ainda do ponto de vista metabólico da presa, o aquecimento pode afetar o equilíbrio no gasto energético do animal, refletindo em uma modificação na resposta defensiva (Briceño et al., 2020).

Outro exemplo, além da temperatura, está relacionado a composição química da água. O acréscimo de CO₂ vem causando um fenômeno conhecido como acidificação (Doney et al., 2009), que implica, entre outros fatores, em uma redução do pH da água numa estimativa de 0.3-0.4 unidades até 2100 em relação ao valor atual de aproximadamente 8.1 (IPCC, 2021). A acidificação pode afetar todas as etapas da comunicação química, conhecidas como via de transdução sensorial, e modificar a capacidade dos animais em detectar e processar os sinais químicos (Draper & Weissburg, 2019; Briffa et al., 2012). Em sua pesquisa, Boullis et al. (2017) demonstraram que, em condições de CO₂ aumentado, pulgões produzem menos feromônio de alarme e apresentam respostas menos evidentes. É possível que isso também ocorra no ambiente aquático em um cenário de acidificação. Na outra ponta desta cadeia, existem relatos de que a acidificação reduz a sensibilidade olfativa, seja em modificações no aparato olfativo (robalo - Porteus et al., 2018) ou em alterações na própria pista química (caranguejo verde - Roggatz et al., 2016) ou ainda podendo interferir no processamento

sensorial promovido pelo sistema nervoso central (peixe palhaço - Dixon et al., 2010; peixe palhaço e donzela - Munday et al., 2010).

Tanto para o aquecimento quanto para a acidificação, a falta de capacidade de identificar, distinguir e evitar o risco de predação vem sendo descrito em diversas espécies de animais, como peixes donzela (Chivers et al., 2014), truta (Munday et al., 2013), salmão (Ou et al., 2015), e até mesmo gastrópodes (Froehlich & Lord, 2020; Abboud et al., 2019; Marínquez et al., 2014). É importante ressaltar que não apenas a completa abolição de um sinal de risco pode ser prejudicial à presa. A intensidade da sinalização de risco é um fator avaliado pelas presas no momento de deflagrar respostas defensivas (Supekar & Gramapurohit, 2020), portanto mascarar ou diminuir a intensidade original do sinal pode configurar um prejuízo na eficácia da comunicação, mesmo que supostamente a plasticidade comportamental possa aliviar alguns dos impactos gerados pelas mudanças do clima (Beever et al., 2017).

A comunicação química tem sido colocada como um dos mecanismos a serem diretamente afetados pelas mudanças do clima no futuro (Draper & Weissburg, 2019), uma vez que podem ocorrer impactos nos processos de geração, propagação e recepção (via de transdução sensorial) das pistas químicas. Citamos modificações na emissão e recepção, mas durante a propagação podemos encontrar essas alterações em âmbito molecular. Estudos já avaliaram a desnaturação de proteínas sob os efeitos de variações de pH e temperatura, mas observando soluções proteicas (Pelegriane & Gasparetto, 2005; Tanford, 1968; Neurath et al., 1944) em um contexto diferente. Tendo em vista os conhecimentos físico/químicos de estruturas moleculares, Porteus et al. (2018) e Leduc et al. (2010) sugeriram a possibilidade da ocorrência de fenômenos como a desnaturação em um contexto de mudanças do clima, embora não tenham testado. Já Lecchini et al. (2017) e Roggatz et al. (2016) conseguiram mostrar alterações estruturais em peptídeos decorrentes da acidificação. Com base nesse arcabouço teórico, Draper & Weissburg (2019) em sua revisão de literatura, alertam que as proteínas e peptídeos seriam provavelmente os mais afetados pelos efeitos no ambiente em condições similares as impostas pelas mudanças do clima. Proteínas e aminoácidos desempenham papéis cruciais tanto na atividade do predador em busca da presa quanto na composição de risco percebida pela presa e liberada pelo predador (odor do predador) (Poulin et al., 2018; Hay, 2009). Carr et al. (1996) e Rittschof (1990) evidenciaram que esses compostos são os mais comuns nas interações presa-predador devido à sua solubilidade em água e rápida degradação. No entanto, permanece desconhecida a composição de outras pistas químicas envolvidas nas respostas antipredatórias, como a pista química de alarme (Sanches et al., 2015; Ferrari et al., 2010; Wisenden, 2000; Chivers & Smith, 1998; Pfeiffer, 1977) a qual pode ser uma sinalização mais especializada (metabólito secundário) e menos suscetível à degradação ambiental, conforme sugerido por

Ferrari et al. (2010) e Chivers & Smith (1998). Em peixes, quando presentes, a pista de alarme está em células epidérmicas específicas, denominadas célula “club” (Smith, 2000; Pfeiffer, 1977) e sua liberação está condicionada a uma lesão na epiderme fazendo com que os animais que a detecte no ambiente deflagrem respostas antipredatória (Arvigo et al., 2019; Sanches et al., 2015; Barreto et al., 2010; Wisenden 2000; Chivers & Smith, 1998; Pfeifer, 1977).

Conforme a argumentação teórica exposta até o momento, as mudanças do clima e as variáveis associadas com a acidificação e o aquecimento podem afetar os processos da transdução sensorial promovidos pela comunicação química na interação presa-predador, impactando o emissor e a geração do sinal, a propagação e duração desse sinal no ambiente, além do receptor e a sua capacidade de captar e interpretar essa sinalização. Draper & Weissburg (2019) distinguem os efeitos das mudanças do clima de duas maneiras: indireta, onde as interferências dependem de processos metabólicos; e direta, na qual as mudanças alteram a produção, transmissão e recepção das pistas sensoriais (figura 1 – adaptada de Draper & Weissburg, 2019). Portanto, compreender como a relação presa-predador mediada pela comunicação química se comportará em um contexto de mudanças do clima, é de extrema importância para entendermos possíveis alterações na dinâmica de comunidades e ecossistemas, uma vez que é clara a existência de um efeito cascata vinda das interações mais estritas para as mais abrangentes. Além disso, resultados relacionados a esta temática podem contribuir na elaboração de futuras estratégias de mitigação e conservação.

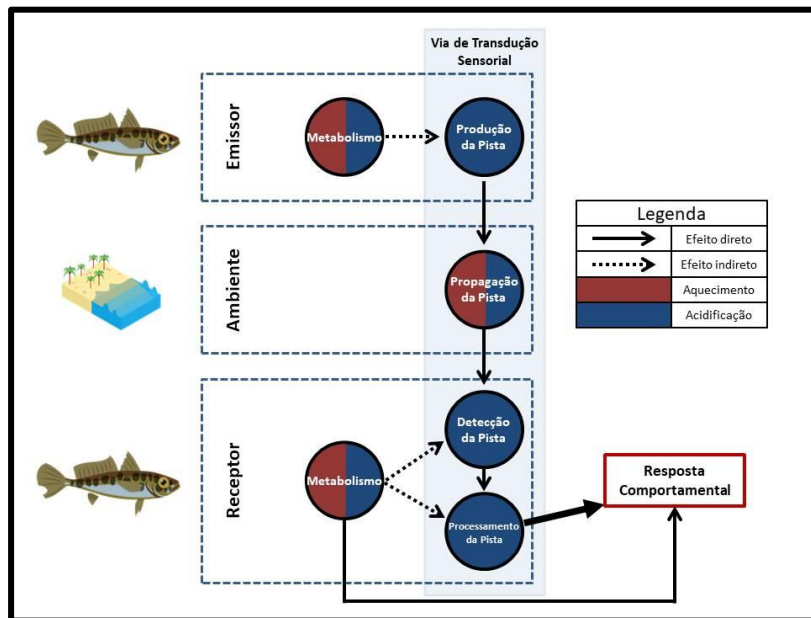


Figura 1 – Efeito do aquecimento e da acidificação na via de transdução sensorial da comunicação química. O emissor controla a produção e o envio do sinal para o ambiente, que modula propagação da mensagem. Já o receptor controla a detecção e o processamento deste sinal para determinar a resposta comportamental. O aquecimento pode afetar indiretamente a emissão e a recepção do sinal, através de mudanças na atividade fisiológica e taxas metabólicas, além de ter potencial de afetar diretamente a transmissão do sinal. A acidificação pode afetar diretamente o comportamento sensorial por meio de mudanças na produção do sinal pelo emissor, na transmissão através do ambiente e na detecção e processamento do receptor. A imagem apresenta um esquema das etapas da via de transdução sensorial em uma comunicação entre animais coespecíficos, porém esta mesma ideia se aplica para outras interações, como mensagens de presas heteroespecíficas e de predador para presa ou vice-versa. Esquema adaptado do trabalho de Draper & Weissburg (2019).

Com a presente pesquisa, nosso objetivo foi compreender os efeitos das mudanças do clima na via de transdução sensorial da comunicação química na interação presa-predador, mediada pela pista de alarme. Isso foi realizado através da avaliação química da pista e das respostas antipredatórias desencadeadas. Para alcançar esse objetivo, realizamos dois estudos distintos. O primeiro visou avaliar a composição química da pista de alarme. Uma vez que, compreender as moléculas responsáveis pela sinalização de alarme é fundamental não apenas para avançar na discussão das interações presa-predador, mas também para inferir as consequências na comunicação durante a etapa de propagação em cenários de mudanças do clima. Isso é especialmente relevante, uma vez que os sinais químicos de alarme naturalmente se degradam ao longo do dia (Bytheway et al., 2013; Chivers et al., 2013; Ferrari et al., 2007; Ferner et al., 2005), e as alterações climáticas podem acelerar esse processo de degradação, reduzindo a eficácia do sinal, como sugerido por Porteus et al. (2018) e Leduc et al. (2010). O segundo estudo corresponde a uma análise comportamental, na qual buscamos observar uma possível interferência do aquecimento e da acidificação na recepção do sinal. Nossa hipótese sugere que o aquecimento e acidificação impactam negativamente a habilidade do receptor em captar e interpretar a informação de risco mediada pela substância de alarme, alterando o equilíbrio da interação entre presa e predador.

Considerações Finais

Neste estudo visamos aprofundar nosso entendimento sobre a comunicação química mediada pela substância de alarme, reconhecida como uma fonte crucial de informação para o comportamento antipredatório. No primeiro capítulo, investigamos os potenciais bioativos presentes na substância de alarme, os quais podem desempenhar o papel de sinalização de risco. Composta por substâncias nitrogenadas, como esfingolipídeos, aminoácidos e derivados de purina. Além disso, por meio de um estudo bioguiado, confirmamos a persistência das respostas de alarme na porção fracionada da pista (SAF). As respostas comportamentais observadas na SAF assemelham-se as exibidas quando os animais são expostos a substância de alarme completa (SAC), corroborando a natureza polar da pista.

Os esfingolipídeos são moléculas comuns em membranas biológicas de diversos tecidos e organismos (Bartke & Hannun, 2009). Por outro lado, os aminoácidos são a unidade básica das proteínas e desempenham papel importante na regulação de inúmeros processos ligados a expressão gênica (Akram et al., 2011). Além disso, possuem potencial de compor estimulantes liberados por presas feridas e carniça (Carr, 1988). No entanto, são os derivados de purina que merecem atenção especial, uma vez que nossas descobertas corroboram estudos anteriores, os quais destacam as purinas, como 3(N)-óxido de hipoxantina e N-óxido de piridina, como principais agentes da sinalização de alerta (Brown et al., 2000; Pfeiffer et al., 1985; Hüttel, 1941). Partindo de um extrato natural, realizamos uma investigação inédita, identificando grupos moleculares previamente sugeridos como componentes da substância de alarme. Essa confirmação destaca-se, uma vez que, até então, as respostas comportamentais haviam sido testadas com moléculas sintéticas, carecendo de evidências claras de sua presença na composição molecular da substância de alarme.

Demonstramos um método eficiente e coerente, embora o aprofundamento dessas descobertas seja desafiado por dificuldades metodológicas associadas à extração e isolamento de compostos hidrossolúveis de matrizes biológicas. A vasta gama de outras substâncias solúveis presentes nesses compostos pode interferir na análise e separação dos metabólitos, dificultando a purificação e identificação dessas substâncias (Berlinck et al., 2022).

No capítulo II, realizamos uma análise comportamental das respostas defensivas em um contexto de mudanças do clima, também utilizando a substância de alarme como sinalizador. Confirmamos nossa hipótese de um possível efeito dos estressores climáticos nas respostas comportamentais. Identificamos resultados intrigantes, como as respostas no tempo de permanência no abrigo que sugerem uma interação complexa entre o aquecimento e a acidificação. O potencial sinérgico entre esses estressores e sua complexa interação nos organismos já foi apontado na literatura (Nagelkerken & Munday, 2016; Ferrari et al., 2015;

Queirós et al., 2014; Schalkhauser et al., 2014; Rosa & Seibel, 2008) e nós reiteramos essas observações neste estudo, destacando mais uma vez a necessidade de estudos que incorporem tais interações em suas abordagens. Observamos que o tempo no abrigo foi afetado negativamente por ambos os estressores climáticos, enquanto a motivação alimentar foi visualmente apenas prejudicada pela temperatura. Esses efeitos estavam em conformidade com a literatura (Draper & Weissburg, 2019; Nagelkerken & Munday, 2016; Ferrari et al, 2015; Milazzo et al., 2013; Walberg & Fisher, 2011; Behrens & Lafferty, 2007), evidenciando os riscos das alterações climáticas para a sobrevivência dos animais. No entanto, nossos resultados contrariam as expectativas em alguns aspectos, como quando os animais expostos a altas temperaturas apresentaram uma diminuição na motivação alimentar, embora tenham mantido a ingestão semelhante ao grupo controle. Ainda que fosse esperado um aumento no comportamento alimentar e na ingestão em um cenário de aquecimento, existem evidências de que a motivação alimentar e a ingestão nem sempre apresentam um *feedback* positivo, devido a uma variedade de razões (Tomida et al., 2012), não exclusivamente relacionadas às mudanças do clima. É relevante salientar que existem outros relatos de animais expostos a altas temperaturas que não aumentaram sua motivação alimentar ou ingestão (Walberg & Fisher, 2011; Behrens & Lafferty, 2007).

Nosso estudo oferece contribuições significativas para o entendimento da comunicação química e dos impactos das mudanças do clima sobre esse processo. Considerando que tais mudanças podem influenciar os processos de geração, propagação e recepção de pistas químicas, conhecidos como via de transdução sensorial (Draper & Weissburg, 2019), é importante conhecer completamente esses mecanismos para identificar quais etapas são mais suscetíveis aos fenômenos climáticos. Compreender a composição química das pistas responsáveis por transmitir informações ecologicamente relevantes é fundamental, pois nos permite inferir os possíveis efeitos das mudanças do clima na etapa de propagação dessas pistas. Por exemplo, o aquecimento global pode afetar a estrutura de esfingolipídeos, comprometendo suas funções (Fabri et al., 2020). Da mesma forma, os aminoácidos podem ter sua estrutura e funções afetadas pelo aumento de temperatura (Barik, 2020).

Em resumo, alcançamos um refinamento significativo nas potenciais moléculas responsáveis pela sinalização de risco proveniente da substância de alarme, fornecemos também, *insights* valiosos para as discussões sobre a interação entre o aquecimento global e a acidificação, bem como seus potenciais efeitos no comportamento de animais marinhos. A exploração e o aprofundamento de temas como este são de vital importância para compreendermos as mudanças em nosso planeta e para a estruturação de medidas de mitigação adequadas, a fim de minimizar o iminente desequilíbrio ecológico e a perda massiva de biodiversidade.

Referências

- Akram M, Asif HM, Uzair M, Akhtar N, Madni A, Shah SA, et al. (2011) Amino acids: A review article. J Med Plant Res. 5(17), 3997-4000.
- Barik S (2020) Evolution of protein structure and stability in global warming. Int J Mol Sci. 21(24), 9662.
- Bartke N, Hannun Y (2009) Bioactive sphingolipids: metabolism and function. J Lipid Res. 50, S91-S96.
- Behrens MD, Lafferty KD (2007) Temperature and diet effects on omnivorous fish performance: implications for the latitudinal diversity gradient in herbivorous fishes. Can J fish Aquat Sci. 64, 867-873.
- Berlinck RGS, Crnkovic CM, Gubiani JR, Bernardi DI, Ióca LP, Quintana-Bulla JI (2022) The isolation of water-soluble natural products – challenges, strategies and perspectives. Nat Prod Rep. 39, 596-669.
- Brown GE, Brennan S (2000) Chemical alarm signals in juvenile green sunfish (*Lepomis cyanellus*, Centrarchidae). Copeia. 4, 1079-1082.
- Carr WES (1988) The molecular nature of chemical stimuli in the aquatic environment. - In: Atema J, Fay RR, Popper AN, Tavolga WN (eds), Sensory biology of aquatic animals. Springer-Verlag, Berlin, pp. 3-27.
- Draper AM, Weissburg MJ (2019) Impacts of global warming and elevated CO₂ on sensory behavior in predator-prey interactions: a review and synthesis. Ecol Evol. 7(71), 1-19.
- Fabri JHTM, de Sá NP, Malavazi I, Del Poeta M (2020) The dynamics and role of sphingolipids in eukaryotic organisms upon thermal adaptation. Prog Lipid Res. 80, 101063.
- Ferrari MCO, Munday PL, Rummer JL, McCormick MI, Corkill K, Watson S, et al. (2015) Interactive effects of ocean acidification and rising sea temperatures alter predation and predator selectivity in reef fish communities. Glob Chang Biol. 21(5), 1848-1855.
- Hüttel R (1941) Die chemische untersuchung des schreckstoffes aus elritzenhaut. Naturwissenschaften. 29, 333-334.
- Milazzo M, Mirto S, Domenici P, Gristina M (2013) Climate change exacerbates interspecific interactions in sympatric coastal fishes. J Anim Ecol. 82, 468-477.
- Nagelkerken I, Munday P (2016) Animal behaviour shapes the ecological effects of ocean acidification and warming: moving from individual to community-level responses. Glob Chang Biol. 22, 974-989.
- Pfeiffer W, Riegelbauer G, Meier G, Scheibler B (1985) Effect of hypoxanthine-3(N)-oxide and hypoxanthine-1(N)-oxide on central nervous excitation of the black tetra *Gymnocorymbus ternetzi* (Characidae, Ostariophysi, Pisces) indicated by dorsal light response. J Che Ecol. 11:507-523.

1679 Queirós AM, Fernandes JA, Faulwetter S, Nunes J, Rastrick SPS, Mieszkowska N, et al. (2014)
 1680 Scaling up experimental ocean acidification and warming research: from individuals to the
 1681 ecosystem. Glob Chang Biol. 21(1), 130-143.

1682 Rosa R, Seibel BA (2008) Synergistic effects of climate-related variables suggest future
 1683 physiological impairment in a top oceanic predator. PNAS. 105(52), 20776-20780.

1684 Schalkhauser B, Bock C, Pörtner HO, Lannig G (2014) Escape performance of temperate king
 1685 scallop, *Pecten maximus* under ocean warming and acidification. Mar Biol. 161, 2819-2829.

1686 Tomida L, Lee JT, Barreto RE (2012) Stomach fullness modulates a visually-based prey-size
 1687 choice in a predator fish, frillfin goby *Bathygobius soporator*. Zoology 115, 283-288.

1688 Walberg E, Fisher S (2011) Effect of increased water temperature on warm water fish feeding
 1689 behavior and habitat use. JUR at Minnesota State University. 11(1), 13.

1690
 1691
 1692
 1693
 1694
 1695