
ECOLOGIA

RODRIGO BORGES MISSANO

**MÉTODOS DE AMOSTRAGEM PARA A
CONSTRUÇÃO DE REDES DE FRUGIVORIA
POR AVES**

RODRIGO BORGES MISSANO

**MÉTODOS DE AMOSTRAGEM PARA A CONSTRUÇÃO DE REDES
DE FRUGIVORIA POR AVES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de
Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para obtenção do
grau de Bacharel em Ecologia

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Pizo

Coorientador: Prof. Dr. Mauro Galetti

Ri Claro - SP
2022

M678m Missano, Rodrigo Borges
Métodos de amostragem para a construção de redes de frugivoria
por aves / Rodrigo Borges Missano. -- Rio Claro, 2022
30 p. : tabs., mapas

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ecologia) -
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio
Claro

Orientador: Marco Aurélio Pizo
Coorientador: Mauro Galetti

1. Métodos. 2. Frugivoria. 3. Comunidades. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

RODRIGO BORGES MISSANO

**MÉTODOS DE AMOSTRAGEM PARA A CONSTRUÇÃO DE REDES
DE FRUGIVORIA POR AVES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, para obtenção do grau de Bacharel em Ecologia.

BANCA EXAMINADORA:

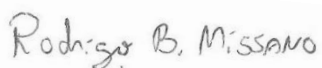
Prof. Dr. Marco Aurélio Pizo (orientador)

Prof. Dr. Mauro Galetti

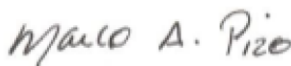
Prof. Dr. Marina Correa Cortes

Prof. Dr. Laurence Marianne Vincianne Culot

Aprovado em: 5 de Julho de 2022



Assinatura do discente



Assinatura do(a) orientador(a)



Assinatura do(a) coorientador(a)

AGRADECIMENTOS

Agradecemos pela bolsa de pesquisa de Iniciação Científica do processo nº 2020/05237-2, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), ao Augusto Batisteli e André Moraes pelo auxílio com as redes de neblina; Yuri Souza pelo apoio com software R ; Juliano Zardetto com auxílio nas identificações botânicas; Carine Emer pela grande contribuição na estrutura e análise de redes ecológicas.

RESUMO

Redes ecológicas são uma ferramenta eficiente para compreender como as interações mutualísticas entre animais e plantas influenciam a estrutura e organização de comunidades biológicas. Amostragens em campo das interações envolvendo plantas e aves frugívoras têm se baseado em três métodos principais: redes de neblina, transectos lineares e observações focais. No entanto, como estes diferentes métodos influenciam na estrutura e completude das redes de frugivoria é uma questão fundamental para a correta interpretação dos padrões emergentes destas análises. Neste estudo, testamos como estes três métodos de amostragem influenciam na estrutura de redes de interações entre plantas e aves frugívoras através de registro de interações em campo e aplicação de métricas e modelos nulos amplamente utilizados na literatura. Os transectos apresentaram maior eficiência nos registros das interações em relação ao esforço amostral, seguido de focal e redes de neblina. O teste de Dunn mostrou diferenças significativas entre todos os métodos em relação ao número de interações por esforço amostral. Focais e transectos formam redes caracterizadas por uma maior modularidade do que esperado ao acaso. A rede total, que combinou os três métodos, apresentou conectância mais baixa do que as dos métodos isolados, aninhamento e modularidade com valores moderados. Parece então ser uma boa estratégia para se obter um maior número e diversidade de interações.

Palavras-chave – dispersão de sementes, métodos comparativos, ecologia de comunidades, mutualismo, interações

ABSTRACT

Ecological networks are an efficient tool to understand how mutualistic interactions between animals and plants influence the structure and organization of biological communities. Field sampling of interactions involving frugivorous plants and birds has been based on three main methods: mist nets, linear transects and focal observations. However, how these different methods influence the structure and completeness of frugivory networks is a fundamental question for the correct interpretation of the patterns emerging from these analyses. In this study, we tested how these three sampling methods influence the structure of networks of interactions between plants and frugivorous birds by recording field interactions and applying metrics and null models widely used in the literature. The transects showed greater efficiency in the records of interactions in relation to the sampling effort, followed by focal and mist nets. Dunn's test showed significant differences between all methods in terms of the number of interactions per sampling effort. Focals and transects form networks characterized by a greater modularity than expected by chance. The total network, which combined the three methods, showed lower connectance than the isolated methods, nesting and modularity with moderate values, therefore, it seems to be a good strategy to obtain a greater number and diversity of interactions.

Keywords – seed dispersal, comparative methods, community ecology, mutualism, interactions

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	8
2.0 MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1 Área de estudo	10
2.2 Métodos de amostragem	11
2.3 Redes de interações	13
3.0 RESULTADOS	14
4.0 DISCUSSÃO	20
4.1 Efeitos dos métodos de amostragem na estrutura da rede	20
4.2 Qual o melhor método para construir redes de frugivoria por aves?	22
5.0 CONCLUSÃO	23
6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

1.0 INTRODUÇÃO

Interações ecológicas são a base da biodiversidade (GUIMARÃES, 2002; BASCOMPTE & JORDANO, 2006). Quando analisadas pela perspectiva de redes ecológicas, o padrão emergente da organização destas interações é uma ferramenta valiosa na compreensão da estruturação e do funcionamento de comunidades biológicas, refletindo processos eco-evolutivos das espécies que interagem entre si (JORDANO, 2016; HAGEN *et al.*, 2012; EMER *et al.*, 2020). Análises de redes envolvem representações gráficas nas quais as espécies são representadas por nós (vértices) conectados entre si por arestas (linhas) cujas características estruturais são analisadas com uma série de métricas e modelos nulos (GUIMARÃES, 2002; BASCOMPTE *et al.*, 2003; BASCOMPTE & JORDANO, 2006) que refletem o processo ecológico de interesse.

Processos de frugivoria e dispersão de sementes são fundamentais para a manutenção das comunidades, uma vez que grande parte das árvores em florestas tropicais dependem de animais para continuarem seu ciclo de vida (JORDANO *et al.*, 2006). A amostragem das interações de frugivoria para o estudo das redes de interação entre aves frugívoras e plantas têm utilizado principalmente três métodos: redes de neblina, transectos lineares e observações focais (AMATUZZI, 2009; PIZO & GALETTI, 2010; LABECCA, 2012). As redes de neblina correspondem a um dos métodos mais utilizados para amostrar as interações entre aves e frutos.

Este método permite a captura das aves e coleta de suas fezes e regurgito de onde são coletados os vestígios dos frutos consumidos (sementes e restos de polpa) para futura identificação (SCHERER *et al.*, 2007, PIZO & GALETTI, 2010). Os transectos consistem em registrar as interações enquanto se caminha em ritmo lento por um percurso pré-estabelecido (COSTA, 2012). Os transectos são utilizados e indicados para estudos de comunidades, pois permitem amostrar uma grande área e diferentes indivíduos e espécies (PIZO & GALETTI, 2010). As observações focais consistem na observação direta das interações que ocorrem em uma determinada planta, que é observada por um certo tempo por um observador estacionário. É um método muito utilizado para obter dados mais detalhados sobre o comportamento dos animais frugívoros (PIZO, 1997; FRANCISCO & GALETTI, 2002; PIZO & GALETTI, 2010; PURIFICAÇÃO, 2011).

Apesar da reconhecida influência do esforço amostral na estrutura de redes ecológicas, identificar o melhor método para registro de interações tem sido pouco explorado (GIBSON

et al., 2011; JORDANO, 2016). Por exemplo, estudos que coletam interações diretamente do animal, como fezes ou pólen do corpo do polinizador (“*zoocentric*”), podem capturar interações de espécies de fora da comunidade do local do estudo. Interações locais, por sua vez, podem ser amostradas quando as interações são coletadas tendo como foco a planta, através de observações focais, por exemplo (“*phyto-centric*”; Jordano, 2016). Os diferentes métodos, além disso, podem influenciar o número de espécies amostradas e, por consequência, a estrutura das redes de interações (BASCOMPTE & JORDANO, 2014). Recentemente Vitorino (2022) avaliaram como a amostragem influencia a caracterização de uma rede de dispersão de sementes entre aves frugívoras e plantas neotropicais comparando dois métodos (observações focais e redes de neblina) com abordagens diferentes (fitocêntrico e zoocêntrico). Os resultados mostram que as abordagens são altamente complementares, ou seja, com apenas poucas ligações em comum entre elas. Ao fazerem a combinação dos dois métodos, a rede de interações ficou maior e tinha valores intermediários de especialização, modularidade e aninhamento. Esses resultados indicam que a escolha do método de amostragem pode afetar a estrutura da rede e o papel que as espécies desempenham nas comunidades. Além disso, enquanto a amostragem fitocêntrica pode limitar a detecção de interações com plantas vistas pelo observador, a amostragem zoocêntrica tende a subamostrar espécies de aves com maior massa corporal ou que não forrageiam no sub-bosque. Schlautmann (2021), compararam redes de remoção de sementes com base nas observações focais e redes de deposição de sementes construídas por código de barras de DNA de sementes através das fezes de frugívoros. E mostram que para melhorar a integridade geral das redes de dispersão de sementes, também pode ser útil combinar os dois métodos para detectar interações de aves e mamíferos.

Independentemente do método, o número de espécies nas redes depende do esforço amostral empregado, que pode ser usado para analisar quão robusta é a rede (GIBSON *et al.*, 2011; JORDANO, 2016). Nesse contexto, faz-se necessário analisar a relação entre o esforço amostral empregado em cada método e o número de interações que cada um deles proporciona (GIBSON *et al.*, 2011). A maioria dos estudos de campo para coleta de interações não informam o esforço amostral empregado e, até o momento, há poucos estudos que avaliem como o uso de diferentes métodos pode contribuir para a completude e estruturação de redes de frugivoria (JORDANO, 2016).

Sendo assim, o objetivo deste estudo é testar a eficiência dos métodos normalmente utilizados para amostrar as interações entre aves frugívoras e plantas frutíferas na estruturação

das redes de interações ecológicas de frugivoria. Pretende-se responder às seguintes perguntas: (i) qual método (transecto, focal ou redes de neblina) permite amostrar maior número e diversidade de interações entre aves frugívoras e plantas para um dado esforço amostral e (ii) como a estrutura da rede de interações resultante é influenciada por cada método? Considerando que o método de transecto permite amostrar uma extensão de área maior, esperamos, com este método, registrar um maior número de espécies e interações em relação ao esforço amostral, seguido das observações focais e redes de neblina (PIZO & GALETTI, 2010), resultando em redes mais completas e com maior diversidade de interações. Sendo assim, esperamos que o método de transecto capture tanto interações generalistas quanto especialistas, resultando em redes estruturadas com baixa conectância, aninhamento e modularidade com valores significativos, porém intermediários. Pelo fato das observações focais pré-selecionarem (controle aleatório) o número de espécies a serem amostradas (CAZETTA *et al.*, 2002, PIZO & GALETTI, 2010), esperamos amostrar um maior número de interações generalistas e poucas especialistas, resultando em redes em processos de estruturação, com alta conectância, alto aninhamento e modularidade não significativa. Por fim, o método de redes de neblina captura principalmente interações amostradas através da dieta de aves de tamanho pequeno ou intermediário que frequentam o sub-bosque florestal (PIZO & GALETTI, 2010), portanto esperamos encontrar interações mais específicas, muitas vezes difíceis de visualizar com transecto ou focal, resultando em uma rede com conectância moderada, aninhamento baixo e modularidade alta.

2.0 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no campus da Universidade Estadual Paulista, no município de Rio Claro-SP, (22°23'45,7"S; 47°32'38,3"W). O campus foi dividido em cinco parcelas amostrais de 32 mil m² estabelecidas de acordo com os pontos fixos de captura de aves com redes de neblina amostrados desde 2011 pelo grupo do Prof. Marco A. Pizo (Figura 1). As parcelas delimitam e padronizam a área de amostragem entre os métodos. Semanalmente é sorteada (sem reposição até que todas as parcelas tenham sido amostradas) uma parcela para amostragem das redes de neblina. Em seguida, é sorteada a ordem de amostragem dos outros dois métodos, cobrindo toda a área das parcelas. O estudo teve duração entre Agosto de 2020 à Agosto de 2021. As observações nos métodos de transecto e focal foram auxiliadas por um binóculo 10x42 mm e uma câmera fotográfica com lente 300 mm.

2.2 Métodos de amostragem

Observações focais: selecionamos ao menos um indivíduo de cada espécie frutificada dentro das parcelas, onde são registradas as interações em sessões de observação com duração de 1 hora para cada focal, entre 6:00 e 10:00 da manhã (Figura 2A). Caso haja mais de um indivíduo de uma mesma espécie, a prioridade será dada para aquele(s) que tiverem mais frutos maduros. A ordem das espécies observadas é sorteada.

Transecto: percorre-se um único trajeto pré-determinado dentro/entre as parcelas, durante as 6:00 e 10:00 da manhã, com velocidade constante em todas as parcelas. Foi percorrido aproximadamente 1 km para cada parcela (Figura 3). Em cada transecto, registramos: data, horário, todas as interações planta-ave frugívora observadas dentro do espaço/tempo amostral bem como as espécies de plantas e aves envolvidas, e o tempo despendido em cada transecto (Figura 2B).

Rede de neblina: Utilizamos quatro redes de neblina (12 x 3 m, 36 mm), dispostas na parcela sorteada das 5:00 às 10:00 da manhã (Figura 2C). É utilizado um tecido TNT sob cada rede para coletar as fezes que possam cair durante a captura das aves. As aves capturadas são colocadas em sacos de tecido limpos por cerca de 20 min e as eventuais fezes são armazenadas em tubos de Eppendorf com etanol 70% e marcados com o número da anilha da ave. Em laboratório, as fezes são examinadas com auxílio de microscópio estereoscópico para identificar a presença de sementes ou vestígios de frutos (PIZO & GALETTI, 2010) usando um banco de sementes existente no laboratório do Prof. MA Pizo.

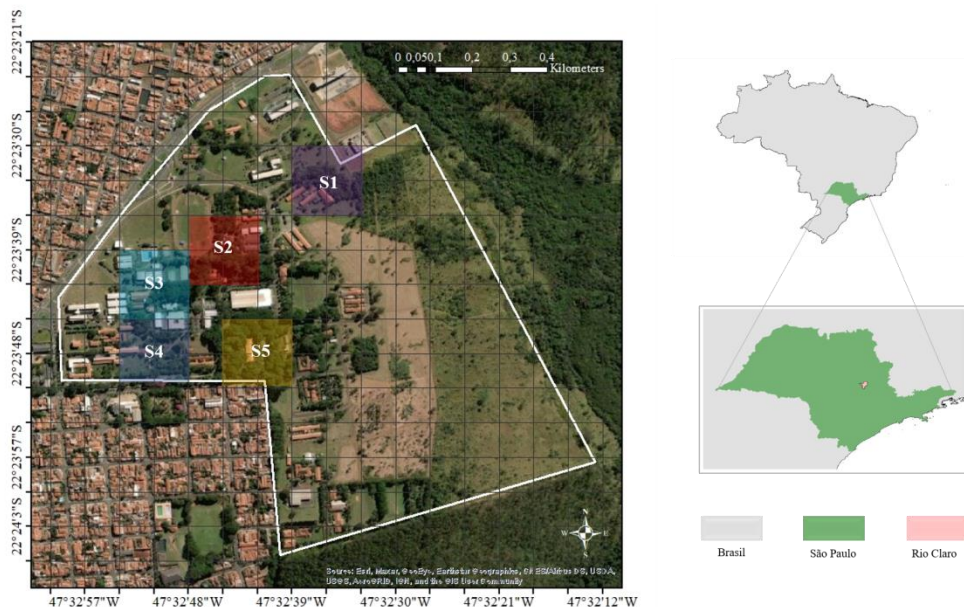


Figura 1A: Representação da área de estudo e desenho amostral. Mapa de localização da

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) campus Bela Vista entre a área urbanizada de Rio Claro, à esquerda, e a Floresta Estadual “Edmundo Navarro de Andrade”, à direita. O polígono branco delimita a área do campus da universidade. 1B, Os quadrados coloridos representam as parcelas para amostragem dos métodos. Imagem: Google Earth, obtida em 26 de Junho de 2020.



Figura 2: Representação dos métodos de amostragem de frugivoria por aves: A, observações focais, onde as interações são registradas por um observador estacionário focando nas espécies com frutos maduros por tempo determinado; B, transecto, onde as interações são registradas por um observador dinâmico que percorre um caminho pré-estabelecido; C, rede de neblina, onde as interações são registradas através das sementes nas fezes das aves capturadas.

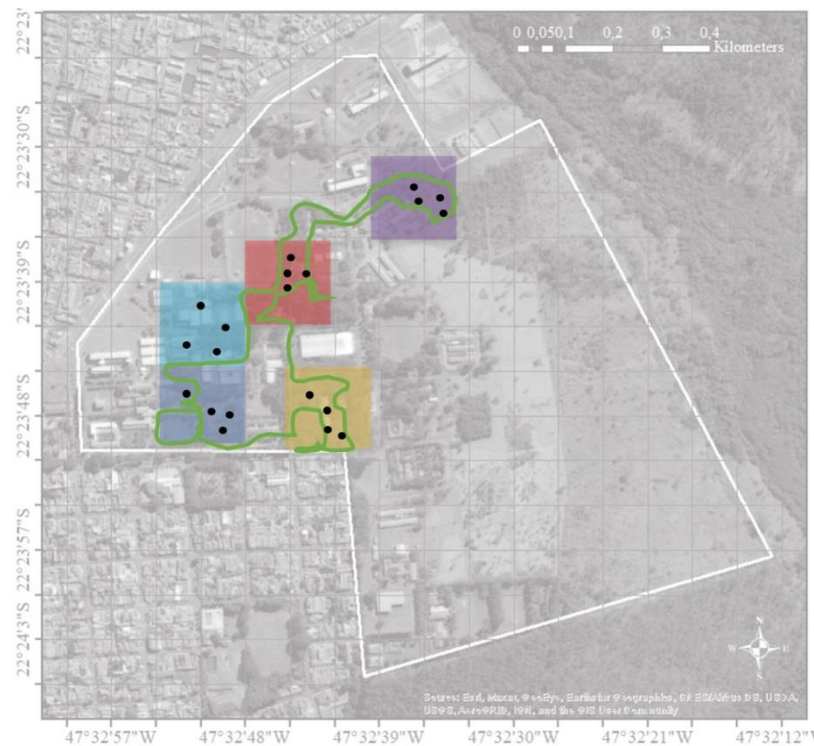


Figura 3: Esquema do caminho delineado pelo método de transecto através do aplicativo Ebird. A linha verde corresponde ao trajeto estabelecido onde foram percorrido todas as parcelas. Os círculos pretos foram os pontos de montagem das redes de neblina. Os quadrados coloridos representam as parcelas citadas anteriormente.

2.3 Redes de interações

Os dados coletados foram organizados em uma matriz de adjacência quantitativa A_{ij} , onde cada linha corresponde a uma espécie de planta i , cada coluna corresponde a uma espécie de ave j e os elementos a_{ij} correspondem aos valores de frequência para cada interação entre i vs j . Para os métodos de transecto e focal, é registrada uma interação quando a ave interage com ao menos um fruto de uma determinada planta, seja engolindo-o por inteiro ou retirando porções da sua polpa (PIZO & GALETTI, 2010). Para o método de rede de neblina, uma interação é registrada para cada espécie de semente ou resto de polpa encontrado nas fezes, independentemente do número de sementes ou fragmentos de polpa encontrados (PIZO & GALETTI, 2010). As polpas, quando possível, foram identificadas através de comparações morfológicas juntamente com o conhecimento do Prof. Dr. Marco Pizo.

Neste estudo entende-se por método mais eficiente aquele que consegue registrar a maior riqueza e diversidade das interações com o menor esforço amostral. Para testar a eficiência dos métodos no registro de interações utilizamos curvas de rarefação para cada método e uma única curva juntando os três métodos (GIBSON *et al.*, 2011; JORDANO, 2016) considerando o número total de interações e o número de interações únicas (i.e., riqueza). As amostragens foram organizadas em censos, onde cada censo equivale a uma semana de amostragem com os três métodos. A estrutura das redes foi analisada por: (i) conectância, i.e. a proporção de interações realizadas em relação ao total de interações possíveis dado os números de espécies de plantas e aves registrados (DUNNE *et al.*, 2002), (ii) aninhamento: definido como a assimetria das interações entre espécies onde espécies generalistas interagem com subgrupos de espécies mais especialistas (ALMEIDA-NETO *et al.*, 2008) e (iii) modularidade: a formação de subgrupos de espécies que interagem mais fortemente entre si do que com as demais espécies (OLESEN *et al.*, 2007). A significância dos valores observados foi obtida através de comparação utilizando dois modelos nulos, sendo considerados valores significativos de z score aqueles menores ou maiores que dois. O z score indica qual é o número de desvios padrão da média. Ambos os modelos nulos usaram a função “nullmodel” e foram aleatorizadas 100 matrizes utilizando o valor de z score para comparação do valor observado de cada métrica. Usamos o “método = 1” para aleatorizar a distribuição de links entre espécies, mantendo os totais marginais constantes, isto é, ter o mesmo número total de interações do observado e nas matrizes aleatórias (DORMAN, JOCHEN, BLÜTHGEN, & GRUBER, 2009). Em seguida, usamos “método = 3” para manter

a conectividade constante e randomizar o número de interações entre as espécies, isto é, as espécies têm o mesmo número de interações como na matriz observada, mas com valores diferentes (VÁZQUEZ *et al.*, 2007). Para testar qual o método mais eficiente para registrar interações de frugivoria utilizamos a análise de Kruskal Wallis, tendo como unidade amostral o número de censos, a variável resposta o número de interações por esforço amostral (número total de interações dividida pelo esforço amostral em termos de tempo despendido em cada método) e como variável preditora o tipo de método; o tempo de cada amostragem/método foi utilizado como co-variável para controlar possíveis efeitos na variável resposta. Utilizamos também o teste de Dunn para comparar par-a-par os métodos com valor de P ajustado (Bonferroni). Métricas de rede e modelos nulos foram calculadas no pacote bipartite (DORMANN *et al.*, 2009). Para entender o quanto os métodos são dissimilares na composição das interações entre si e em relação à rede total, analisamos a beta diversidade a partir do turnover e aninhamento do índice de dissimilaridade de Sørensen, ou seja, a dissimilaridade total (BASELGA *et al.*, 2013). Todas as análises foram realizadas no software R (R CORE, 2018).

3.0 RESULTADOS

Foram despendidos 471.58 horas de campo (Tabela 1), formando uma rede total onde foram registradas 575 interações de frugivoria, sendo 110 interações únicas, envolvendo 33 espécies de plantas de 12 famílias diferentes e 20 espécies de aves com nove famílias. A maioria das interações foram realizadas por espécies de aves generalistas, como *Tangara sayaca* (195 interações), *Turdus leucomelas* (184 interações) e *Turdus amaurochalinus* (41 interações), enquanto *Eugenia uniflora* (84 interações), *Morus nigra* (75 interações) e *Phoenix sp.* (73 interações) foram as espécies de plantas mais frequentes.

Encontramos diferença significativa entre os métodos em relação ao número de interações por esforço amostral (Kruskal-Wallis: $H = 53.96$, $df = 2$, $p < 0.05$). O método com o maior esforço amostral foi das observações focais, seguido de redes de neblina e transecto (Tabela 1). O método que apresentou a maior mediana no número de interações por esforço amostral foi o transecto, seguido de focal e redes de neblina (Figura 4). O teste de Dunn mostrou diferenças significativas entre os métodos focal – redes de neblina ($p < 0.05$), focal – transecto ($p < 0.05$) e redes de neblina - transecto ($p < 0.05$). A dissimilaridade total da diversidade mostrou que o método com maior dissimilaridade das interações quando comparado com a rede total foi o de redes de neblina, seguido de transecto e observações

focais. Entre os métodos houve maior dissimilaridade entre redes de neblina com transecto e focal (Tabela 2).

Tabela 1: Comparação entre os valores do esforço amostral, número de interações totais, número de interações únicas, número de espécies de plantas e aves que interagiram de acordo com cada método de amostragem.

Métodos	Esforço amostral (horas)	Interações totais	Interações únicas	Número de espécies de aves	Número de espécies de plantas
Focal	286	420	84	16	26
Transecto	50.28	113	42	12	17
Redes de neblina	135.3	42	19	7	10

Tabela 2: Valores de dissimilaridade fornecidos pelo parâmetro de beta.sor (turnover + aninhamento)

	Focal	Redes de neblina	Transecto	Rede total
Focal	0.0000000	0.8834951	0.5396825	0.1340206
Redes de neblina	0.8834951	0.0000000	0.8032787	0.7054264
Transecto	0.5396825	0.8032787	0.0000000	0.4473684
Rede total	0.1340206	0.7054264	0.4473684	0.0000000

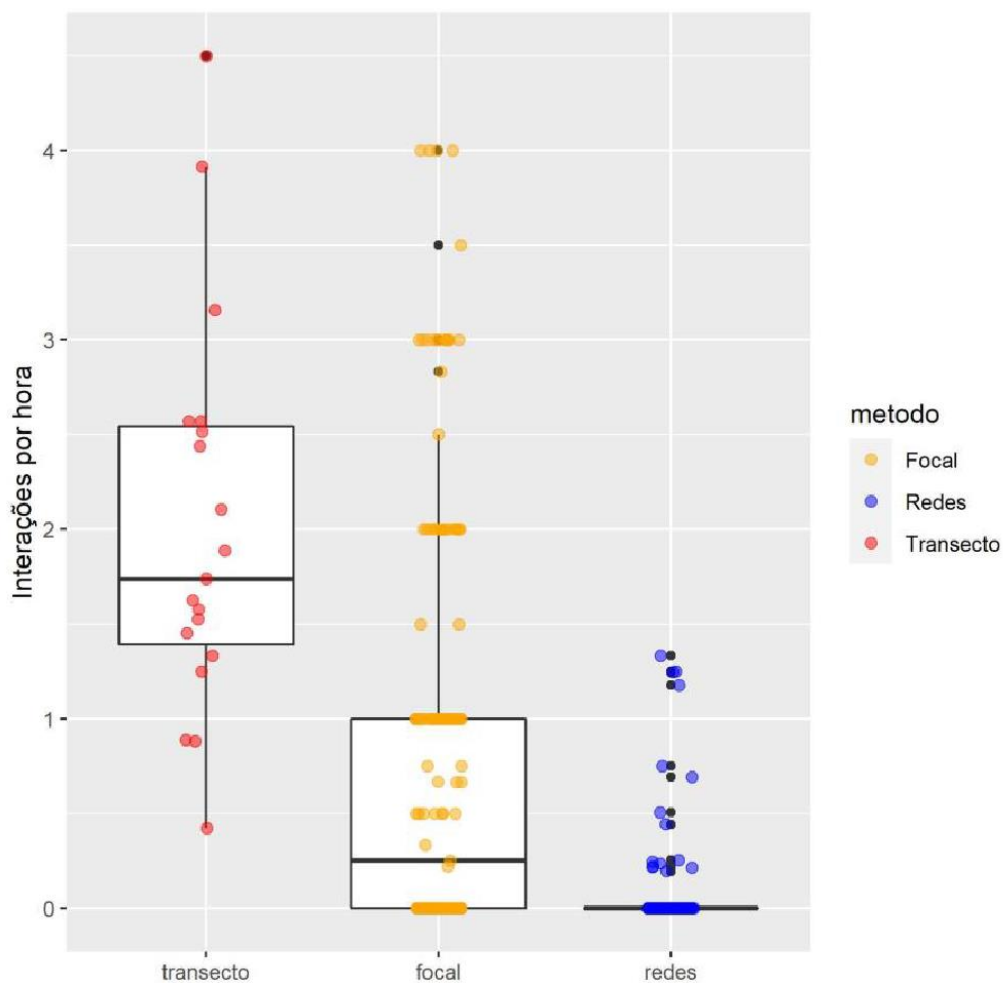


Figura 4: Variação no número de interações em relação ao esforço amostral empregado em cada método. Os métodos transecto, focal e redes de neblina são representados por pontos vermelhos, amarelos e azuis, respectivamente. Barras horizontais no interior das caixas indicam a mediana. O tamanho de cada caixa faz referência ao desvio padrão dos dados. Linhas verticais fora das caixas mostram os valores máximos e mínimos dos dados. Outliers são representados pelos pontos acima ou abaixo das linhas verticais.

As curvas de rarefação mostraram a quantidade de interações registradas em relação aos números de censos realizados. Quando observado a curva total na qual estão incluídas as contribuições dos três métodos, percebe-se uma estabilização no último censo (Figura 5). Quando analisamos as curvas de cada método isoladamente, o método de transecto e focal também apresentaram o início de um platô, indicando a estabilização da curva. A maior diversidade de interações foi obtida pelo método focal, seguido de transecto e redes de neblina (Figura 6).

Encontramos valores significativos para todas as métricas das redes formadas por transecto e observações focais, que formaram redes caracterizadas por uma baixa conectância,

aninhamento e modularidade moderados (Tabela 3). No entanto, no modelo nulo 3, apenas a modularidade foi significativa para os métodos de transecto e observações focais, formando redes mais modulares do que esperado ao acaso. Por outro lado, nenhuma das métricas da rede de interações formada com o método das redes de neblina foi significativa frente aos valores dos dois modelos nulos. Quando combinamos os três métodos a fim de obter uma rede de interações “total”, encontramos uma rede com conectância mais baixa do que as dos métodos isolados, com valores intermediários de aninhamento e modularidade. No entanto, no modelo nulo 3, apenas a modularidade foi significativa para a rede total, formando redes mais modulares do que esperado ao acaso (Tabela 3). A representação esquemática das redes de interações de cada método, tal como a rede total formada pela combinação dos métodos está representada na Figura 7. A contribuição de cada método na formação da rede total de interações é representada na Figura 8.

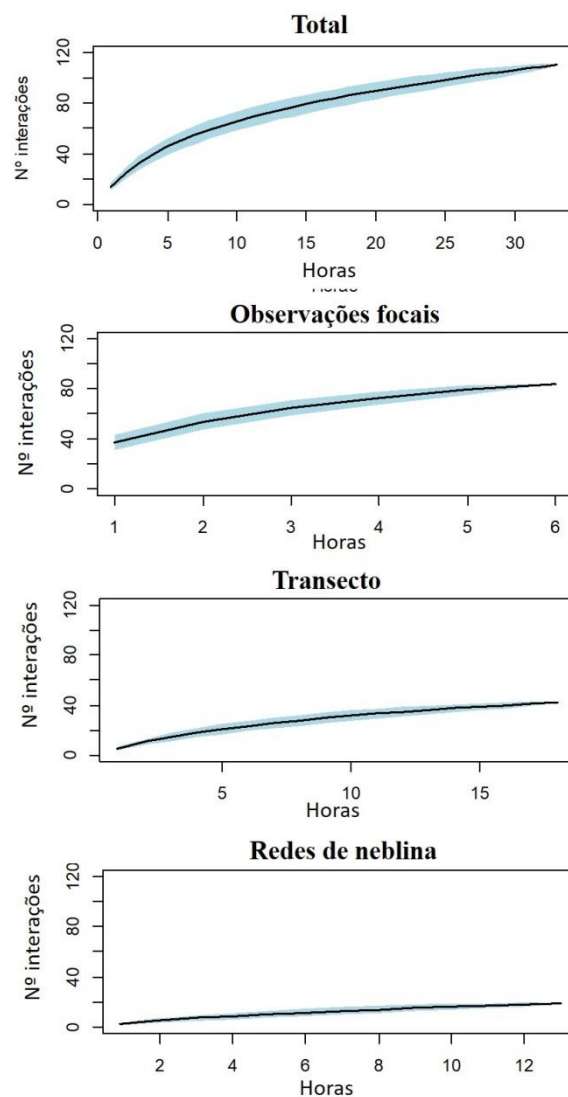


Figura 5: Curvas de rarefação das interações de frugivoria por aves de acordo com diferentes métodos de amostragem. O esforço amostral é representado por horas no eixo x, conforme se registram as interações. A sombra azul representa o intervalo de confiança.

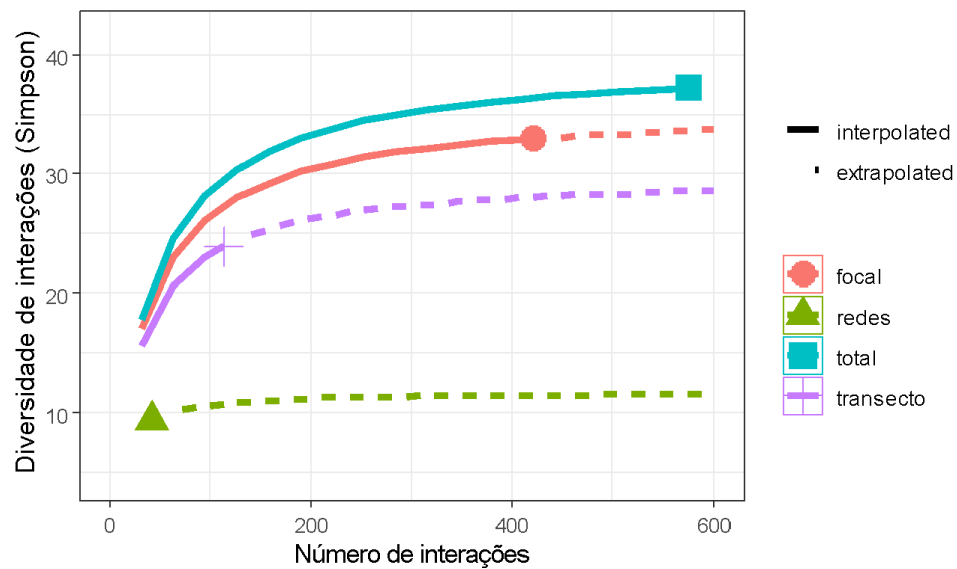


Figura 6: Curvas de diversidade de interações (segundo o índice de Simpson) registradas com os diferentes métodos de amostragem utilizados. Focal, transecto e redes de neblina, estão representados pelas curvas vermelha, azul e verde, respectivamente. Os números no eixo x representam a quantidade total de interações. Linhas contínuas indicam os dados reais e linhas tracejadas indicam extrapolações dos dados.

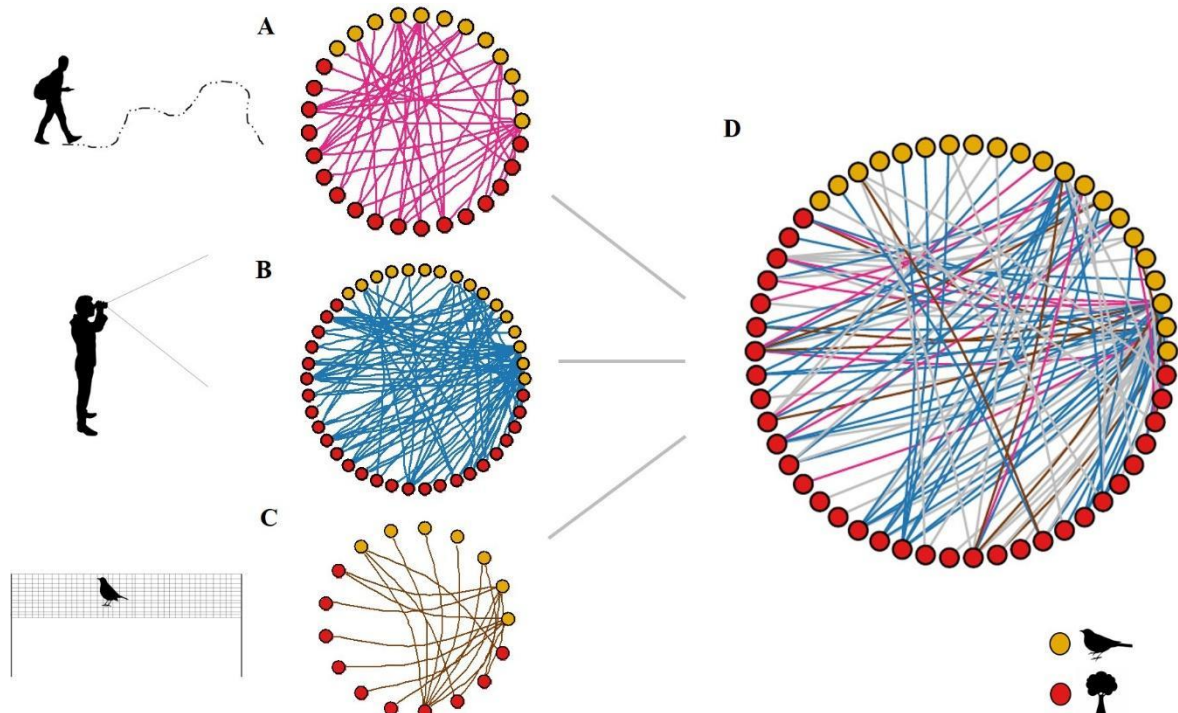


Figura 7: Redes de frugivoria por aves obtidas com registros de interações através de A, transecto, B, observações focais, C, redes de neblina e D, rede de interações total (formada

combinando os três métodos). Círculos vermelhos representam as espécies de plantas e os círculos amarelos, as espécies de aves. As linhas rosas representam as interações fornecidas pelo método de focal. As linhas azuis representam as interações fornecidas pelo método de transecto. As linhas marrom são interações fornecidas pelo método de redes de neblina. As linhas cinzas representam as interações compartilhadas entre os métodos.

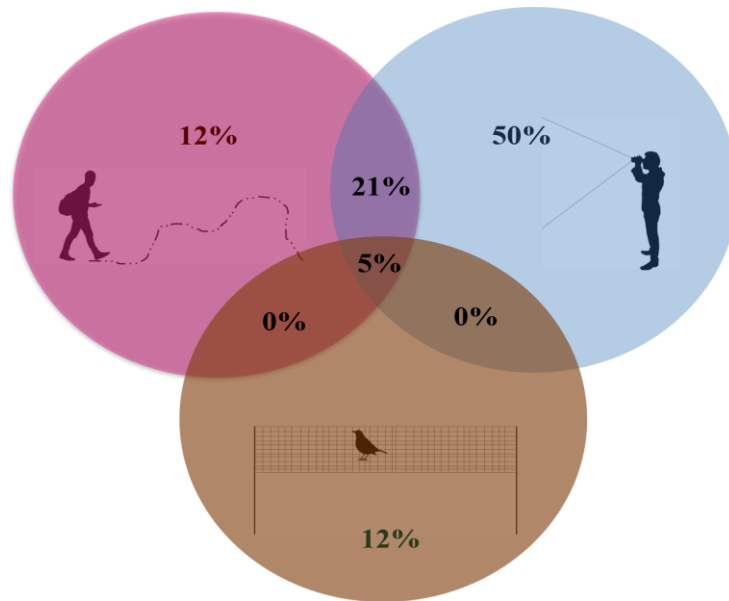


Figura 8: Comparação da contribuição de cada método na formação da rede total de interações. Círculo azul, rosa e marrom correspondem aos métodos focal, transecto e redes de neblina respectivamente. Valores em porcentagem são o quanto cada método contribui em interações novas para a rede total, podendo ou não haver compartilhamento dessas interações (Valores que sobrepõem os círculos).

Tabela 3: Valores das métricas de redes correspondentes ao seu método e modelos nulos. A significância obtida por valores de z-score segundo modelo nulo Patefied. Valores em negritos correspondem a valores significativos.

Método	Modelo nulo	Conectância (Observado, Z-score)	Aninhamento (Observado, Z-score)	Modularidade (Observado, Z-score)
Focal	1	0.20, -12.38	47.19, -5.71	0.29, 12.33
	3	0.20, 0.20	47.19, -1.58	0.29, 7.73
Transecto	1	0.20, -8.47	37.16, -3.32	0.44, 10.39
	3	0.20, 0.20	37.16, 0.22	0.44, 2.70
Redes de neblina	1	0.27, 0.85	52.12, 0.38	0.28, 1.50
	3	0.27, 0.27	52.12, 1.24	0.28, -0.01
Rede total	1	0.15, -13.74	44.99, -5.65	0.31, 17.82
	3	0.15, 0.15	44.99, -1.42	0.31, 10.69

4.0 DISCUSSÃO

4.1 Efeitos dos métodos de amostragem na estrutura da rede

Neste estudo trazemos a comparação dos principais métodos de amostragem para redes de interações de frugivoria, abrangendo três métodos com duas abordagens diferentes (Zoocêntrica e fitocêntrica). Além disso, consideramos a eficiência de cada método em relação ao seu tempo de esforço amostral e o número de interações registradas. Também levamos em conta o quanto cada método contribuiu para uma rede total construída combinando todas as interações registradas pelos três métodos. Descobrimos diferenças em relação ao número de interações amostradas e em relação a algumas métricas de redes. Não encontramos nenhum efeito significativo nas métricas na metodologia de redes de neblina, ou seja, os valores observados foram próximos dos valores aleatórios gerados pelos modelos

nulos. Isso pode ser devido ao pequeno número de interações fornecida por este método em relação ao esforço amostrado. É preciso ter cautela ao analisar os dados e reconhecer a sub amostragem, uma vez que “sub redes” não representam propriedades de redes inteiras. Uma amostragem adequada de redes ecológicas é desafiadora e requer um esforço amostral extremamente grande (JORDANO, 2016).

Com um esforço amostral maior que resultou na coleta de 336 amostras de fezes, Toledo (2018) utilizou as mesmas parcelas e metodologia (redes de neblina) abrangendo a mesma área para construir redes de interações, e obteve maior número de espécies de aves e plantas, o que mostra a influência do esforço amostral para que se atinja uma rede de interações mais completa. Focal e transecto forneceram redes com modularidade significativa. No entanto, quando observamos a rede total formada pelos três métodos em conjunto, temos uma baixa conectância, aninhamento e modularidade moderados, o que é comum para redes de interações mutualísticas em regiões mais urbanizadas, uma vez que a urbanização tende a homogeneizar as interações (SCHNEIBERG *et al.*, 2020). A baixa conectância encontrada aqui corrobora com outros estudos que observaram que, conforme aumenta-se a rede de interações, há uma diminuição da conectância entre as espécies (JORDANO, 1987). O tamanho da rede também pode estar relacionado com o nível do aninhamento; redes de interações mais aninhadas tendem a ser maiores do que as não aninhadas (JOPPA *et al.*, 2010). Gibson *et al.*, (2011) encontraram que o aumento do esforço de amostragem e o uso de transectos podem ser a melhor maneira de produzir redes aninhadas para redes de polinização, por exemplo. Eles também encontraram diferenças estruturais dependendo dos métodos utilizados para construir redes de polinização. Portanto, torna-se evidente que, mesmo quando se faz a amostragem da mesma comunidade de plantas e aves frugívoras, métodos diferentes podem produzir redes com estruturas diferentes.

Torna-se importante considerar a abordagem que cada método fornece, sendo a abordagem zoocêntrica uma metodologia interessante para conseguir inferir sobre interações raras, uma vez que dependendo das características das plantas em que esteja sendo aplicado o método fitocêntrico, se torna mais difícil registrar tais interações. Assim, métodos que apresentam a mesma abordagem (focal e transecto), quando comparados apresentam menor dissimilaridade entre eles. Os métodos com maior número de interações (focal e transecto) também apresentam menor dissimilaridade em relação à rede total, por contribuírem com uma quantidade de interações maior se tornando assim, menos diferentes da rede de interação total.

Dessa forma, abordagens diferentes (zoocêntrica e fitocêntrica) podem fornecer dissimilaridades de interações, ou seja, o quão diferentes são essas interações (VITORINO *et al.*, 2022; SOUZA *et al.*, 2020).

Portanto, o tipo de amostragem e o esforço amostral se faz muito importante para avaliar se a comunidade de estudo está sendo bem representada, uma vez que alguns métodos não permitem o registro de algumas interações específicas, ou são executados com esforço amostral insuficiente para que se atinja a estabilidade da curva de interações. Desta forma, os links perdidos são representados por zeros na matriz de interações, que podem indicar interações difíceis de amostrar (seja devido ao tipo de amostragem ou esforço de amostragem insuficiente, como dito acima) ou simplesmente são interações que não ocorrem naturalmente, devido, por exemplo, às divergências morfológicas ou evolutivas (JORDANO, 2016). A amostragem zoocêntrica tem sido melhorada com o uso de código de barras de DNA, técnica que fornece a identificação com maior precisão das interações a partir de resquícios de sementes e polpas em fezes ou regurgitadas (Jordano, 2016; González, Arroyo, Jordano, 2014). Alguns estudos já indicam a efetividade na combinação dos métodos para construção das redes de interações para maximizar os registros de interações (SCHLAUTMANN *et al.*, 2021; JORDANO, 2016; OLESEN *et al.*, 2011; BOSCH *et al.*, 2009).

4.2 Qual o melhor método para construir redes de frugivoria por aves?

É importante ressaltar que o melhor método de amostragem depende muito dos objetivos traçados pelo estudo. Cada método apresenta suas dificuldades e limitações. *A priori*, conhecer a área de estudo antecipadamente pode ajudar na escolha do método, como por exemplo, saber a fenologia e a quantidade aproximada de plantas frutificadas no tempo do estudo. Além disso, a composição da avifauna também pode ajudar, sabendo quantas aves são consideradas frugívoras e se apresentam hábitos de solo, sub-bosque ou dossel.

Para o método de redes de neblina é difícil fazer a identificação dos morfotipos de sementes tal como a diferenciação do que é polpa de fruto e restos de tecidos vegetais, como flores. É importante ter o auxílio de uma coleção de referência de sementes e uma pessoa que já tenha experiência nas identificações. Mesmo assim, pode acontecer de não chegar ao nível de espécie, gênero ou família, tornando o estudo menos detalhado, sem saber quem de fato

interage com quem. Uma vantagem das redes de neblina é que podem capturar aves frugívoras de difíceis observações diretas em campo, mas em contrapartida perde-se os registros das interações por aves que utilizam o dossel (MENEZES PINTO *et al.*, 2021).

O transecto e as observações focais são métodos que utilizam a observação direta e, para isso, é importante levar em conta algumas características como: a paisagem - se a área de estudo se encontra em um relevo acessível, a estrutura da vegetação - se as possíveis árvores frutíferas são muito densas ou muito altas, e a escolha dos equipamentos mais apropriados. Para ambos os métodos temos dificuldades na identificação em campo quando, por exemplo, parte das espécies são extremamente parecidas e quando há muita poluição visual. Nem sempre é possível ter uma visão limpa e clara de qual comportamento a ave está realizando. Condições do clima e iluminação também influenciam para uma observação clara. No método de transecto é imprescindível uma boa disposição para as caminhadas a fim de cobrir totalmente a área de estudo e a paciência para as observações focais, podendo desprender de um grande esforço amostral sem registrar nenhuma interação.

5.0 CONCLUSÃO

Diante de todos os prós e contras das metodologias, o transecto foi o método mais eficiente no registro das interações em relação ao seu esforço amostral, sendo um método interessante para colocar em projetos que não detenham muito tempo para coletas em campo, por exemplo. Porém, amostrar as interações envolvendo toda a comunidade de plantas e aves frugívoras com apenas um método não é recomendável; o uso de diferentes metodologias é uma boa estratégia para maximizar o número e a diversidade das interações. Assim, é importante integrar diferentes métodos para obter redes de interações ecológicas mais completas e, portanto, conseguir caracterizar padrões ecológicos.

6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA-NETO, M., GUIMARÃES, P., GUIMARÃES, P. R., LOYOLA, R. D., & Ulrich, W. **A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: Reconciling concept and measurement.** *Oikos*, 117, 1227– 1239, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2008.16644.x>
- BASCOMPTE, J. JORDANO, P. MELIÁN, C. J. OLESEN, J.M. **The nested assembly of plant–animal mutualistic networks.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(16): 9383-9387, 2003.

BASCOMPTE, J. and JORDANO, P. **The structure of plant-animal mutualistic networks.** In: Pascual, M. and Dunne, J. (eds.). Ecological networks. Oxford University Press, Oxford, US. Pages 143-159, 2006.

BASELGA, A., ORME, D., VILLEGGER, S., De BORTOLI, J. & LEPRIER, F. (2013). **Betapart: Partitioning beta diversity into turnover and nestedness components.** R package, version 1.4-1, <https://CRAN.R-project.org/package=betapart>.

BOSCH, J., MARTIN GONZÁLEZ, AM, Rodrigo, A. & NAVARRO, D. **Plant-pollinator networks: adding the pollinator's perspective.** Lett, 12, 409–419
Csardi, G., & Nepusz, T. The igraph software package for complex network research. Inter Journal, Complex Systems, 1695(5), 1-9, 2006.

CAZETTA, E., RUBIM, P., LUNARDI, V. D. O., FRANCISCO, M. R., & GALETTI, M. **Frugivoria e dispersão de sementes de Talauma ovata (Magnoliaceae) no sudeste brasileiro.** Ararajuba, 199-206, 2002.

DORMANN, C.F., FRUEND, J., BLUETHGEN, N. & GRUBER B. **Indices, graphs and null models: analyzing bipartite ecological networks.** The Open Ecology Journal, 2: 7-24, 2009.

DUNNE, J. A., WILLIAMS, R. J., & MARTINEZ, N. D. **Network structure and biodiversity loss in food webs: robustness increases with connectance.** Ecology Letters, 5(4), 558-567, 2002.

EMER, C., GALETTI, M., PIZO, M. A., GUIMARAES Jr, P. R., MORAES, S., PIRATELLI, A., & JORDANO, P. **Seed dispersal interactions in fragmented landscapes—a metanetwork approach.** Ecology Letters, 21(4): 484-493, 2018.

EMER, C., JORDANO, P., PIZO, M. A., RIBEIRO, M. C., da SILVA, F. R., & GALETTI, M. **Seed dispersal networks in tropical forest fragments: Area effects, remnant species, and interaction diversity.** Biotropica, 52(1): 81-89, 2020.

FONTANELLA, A. B. A. 2017. **Estrutura e dinâmica da avifauna em uma área urbanizada.** Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências (Campus de Rio Claro). Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/155831>

GIBSON, R. H., Knott, B., EBERLEIN, T., & MEMMOTT, J. **Sampling method influences the structure of plant–pollinator networks.** Oikos, 120(6), 822-831, 2005.

GUALDANI, C., BRAGA, R., OLIVEIRA, B. C. 2005. **Transformações do uso do solo em área de transição rural urbana no município de rio claro-sp.** III Simpósio Nacional de Geografia Agrária
– II Simpósio Internacional de Geografia Agrária. Disponível em: <
[http://www2.fct.unesp.br/nera/publicacoes/singa2005/Trabalhos/Artigos/Carla%20Gualdani.p](http://www2.fct.unesp.br/nera/publicacoes/singa2005/Trabalhos/Artigos/Carla%20Gualdani.pdf)
df >

GONZÁLEZ, V., JUAN P. ARROYO, J. M. JORDANO, P. **"Who dispersed the seeds? The use of DNA barcoding in frugivory and seed dispersal studies."** *Methods in Ecology and Evolution* 5.8: 806-814, 2014.

GUIMARÃES, JR., PAULO R. **Dinâmica evolutiva de redes mutualísticas.** *Journal of Evolutionary Biology*. 15(3):451-462, 2002.

GUSSONI, C.O.A. **Avifauna de cinco localidades no município de Rio Claro, estado de São Paulo, Brasil.** *Atualidades Ornitológicas*, 136:30-36. Instituto florestal (IF). 2005. Plano de Manejo da Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade. Secretaria do Meio Ambiente. Rio Claro: IF:SMA, 2007.

JORDANO, P. **Redes de amostragem de interações ecológicas.** *Ecologia funcional*, 30(12):1883-1893, 2016.

JORDANO, P. **Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence, asymmetries, and coevolution.** *The American Naturalist*, 129 (5): 656-67, 1987.

JOPPA, L. N., MONTOYA, J. M., SANDERSON, J., & PIMM, S. L. **On nestedness in ecological networks.** *Evolutionary Ecology Research*. 12: 35-46.6, 2010.

LEWINSOHN, T.W.; LOYOLA, R.D. PRADO, P.I. **Matrizes, redes e ordenações: a detecção de estrutura em comunidades interativas.** *Oecologia Brasiliensis*, 10(1): 90-104, 2006.

MENEZES P., EMER, C., CAZETTA, E., & MORANTE-FILHO, J. C. **Deforestation simplifies understory bird seed-dispersal networks in human-modified landscapes.** *Frontiers in Ecology and Evolution*, 417, 2011.

OLESEN, J. M., J. BASCOMPTE, Y. L. DUPONT, and P. JORDANO. **The modularity of pollination networks.** *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 104:19891–19896. Olesen, J. M., Bascompte, J., Dupont, Y. L., Elberling, H., Rasmussen, C., & Jordano, P. (2011). Missing and forbidden links in mutualistic networks. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1706), 725-732, 2007.

OKSANEN, J. F. Guillaume Blanchet, Michael Friendly, Roeland Kindt, Pierre Legendre, Dan McGlinn, Peter R. Minchin, R. B. O'Hara, Gavin L. Simpson, Peter Solymos, M. Henry H. Stevens, Eduard Szoecs and Helene Wagner. **Vegan: Community Ecology Package.** R package version 2.5-6, 2019. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

PIZO, A. M.; GALETTI, M. **Métodos e perspectivas do estudo da frugivoria e dispersão de sementes por aves.** *Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento*, Technical Books, Rio de Janeiro, RJ, 492-504, 2010.

POTASCHEFF, C. M. **Identificação das Angiospermas do Campus da UNESP-Rio Claro/SP.** Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto de Biociências (Graduação em Ecologia), Unesp Rio Claro. 2007.

RODRIGUES, B.M. S. **Redes de interações entre aves frugívoras e plantas em uma área de Mata Atlântica no sudeste do Brasil**. 2015. Programa de pós-graduação em diversidade biológica e conservação - Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, SP. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/8370>>

R development core team. 2018. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. URL: <http://www.r-project.org>.

SOUZA, C., MARUYAMA, P., SANTOS, K., GROSS, C., & ARAUJO, A. (2020). **Plant-centred sampling estimates higher dissimilarity of interactions than pollinator-based sampling across habitats**. Authorea Preprints.

SCHNEIBERG, I. **Urbanization homogenizes the interactions of plant-frugivore bird networks**. Urban Ecosystems, v. 23, n. 3, p. 457-470, 2020.

SCHLAUTMANN, J., REHLING, F., ALBRECHT, J., JAROSZEWICZ, B., SCHABO, D. G., & Farwig. **Observing frugivores or collecting scats: a method comparison to construct quantitative seed dispersal networks**. Oikos. 2011.

TOLEDO, C. D. **Frugivoria e dispersão de sementes por aves em uma área urbanizada**. 2018. 21 f. Trabalho de conclusão de curso (Ecologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências (Campus de Rio Claro), 2018. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/157049>>.

VÁZQUEZ, D. P., MELIAN, C. J., WILLIAMS, N. M., BLÜTHGEN, N., KRASNOV, B. R., & POULIN, R. **Species abundance and asymmetric interaction strength in ecological networks**. Oikos, 116, 1120–1127, 2007.

VITORINO, B. D., da FROTA, A. V. B., MARUYAMA, P. K., NUNES, J. R., & VIZENTIN-BUGONI, J. **Influence of sampling methods on the description of a Neotropical seed dispersal network**. Acta Oecologica, 114, 103805, 2022.

7.0 ANEXO

Tabela 4: Lista de espécies de plantas que tiveram seus frutos consumidos por aves.

Plantas	Família
<i>Archontophoenix cunninghamiana</i>	Arecaceae
<i>Syagrus romanzoffiana</i>	
<i>Roystonea oleracea</i>	
Planta_5	
<i>Phoenix sp.</i>	
<i>Livistona chinensis</i>	Anacardiaceae
<i>Schinus terebinthifolia</i>	Leguminosae
<i>Anadenanthera falcata</i>	Moraceae
<i>Ficus benjamina</i>	
<i>Morus nigra</i>	Myrtaceae
<i>Plinia cauliflora</i>	
<i>Psidium guajava</i>	
<i>Eugenia uniflora</i>	
<i>Syzygium cumini</i>	
<i>Syzygium jambos</i>	
<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosaceae
<i>Murraya paniculata</i>	Rutaceae
<i>Cyntharexylum myrianthum</i>	Verbenaceae
<i>Philodendron bipinnatifidum</i>	Araceae
Ocotea sp.	Lauraceae
<i>Ouratea spectabilis</i>	Ochnaceae
<i>Rauvolfia sellowii</i>	Apocynaceae
Morfotipo 64	Não identificada
Morfotipo 79	Não identificada
Morfotipo 80	Não identificada
Planta 6	Não identificada

Tabela 5: Lista de espécies de aves que foram registradas consumindo frutos.

Aves	Família
<i>Columbina talpacoti</i>	Columbidae
<i>Mimus saturninus</i>	Mimidae
<i>Passer domesticus</i>	Passeridae
<i>Colaptes melanochloros</i>	Picidae
<i>Pionus maximiliani</i>	Psittacidae
<i>Psittacara leucophthalmus</i>	
<i>Forpus xanthopterygius</i>	
<i>Brotogeris chiriri</i>	
<i>Ramphastos toco</i>	Ramphastidae
<i>Tangara cayana</i>	Thraupidae
<i>Tangara palmarum</i>	
<i>Tangara sayaca</i>	
<i>Coereba flaveola</i>	
<i>Turdus amaurochalinus</i>	Turdidae
<i>Turdus leucomelas</i>	
<i>Megarynchus pitangua</i>	Tyrannidae
<i>Myiodynastes maculatus</i>	
<i>Myiozetetes similis</i>	
<i>Pitangus sulphuratus</i>	
<i>Tyrannus melancholicus</i>	