

Ana Cristina Vara Crestani

Otimização dos sinais de frutos como mediador da frugivoria por animais

**Relatório de Pós-doutorado realizado
na Universidade Estadual Paulista (UNESP),**

Instituto de Biociências,

Departamento de Biodiversidade,

Câmpus de Rio Claro

Supervisor(a): Prof. Dr.

Marina Corrêa Côrtes

Número do Processo FAPESP: 2023/10188-9 Bolsas Concedidas como Itens Orçamentários
em Auxílios / BCO - Fixação Jovens Doutores - Fluxo Contínuo

Rio Claro
2025

Resumo

Morcegos e aves alimentam-se de uma enorme variedade de espécies de frutos e são responsáveis por manter o processo de frugivoria e dispersão de sementes em pequenos fragmentos. Os fatores que aumentam a correspondência de características das interações animal-planta podem ser uma ferramenta fundamental para a regeneração de um fragmento, uma vez que aves e morcegos apresentam uma complementariedade em seus serviços ecológicos. Os sinais de frutos relacionam-se com os principais sentidos sensoriais usado pelos animais para localizar frutos em cada etapa hierárquica de aquisição de alimento. A evolução das características que atuam como um sinal para animais frugívoros provavelmente é impulsionada pelo sentido sensorial de alimentação dos animais, como o olfato e a visão. Se animais orientados pela visão selecionam frutos com base em sinais visuais em vez de olfativos, nós levantamos a hipótese de que frutos mais coloridos investem menos em compostos aromáticos. Também levantamos a hipótese de que aves e primatas utilizam a visão de cores de maneira diferente em longas e curtas distâncias durante o forrageamento. Identificamos uma diferença significativa entre os modelos de visão a longa e curta distância para aves, o que pode indicar que o contraste da coloração dos frutos e seus acessórios (arilo, pecíolo, etc) com o fundo (folhas verdes) pode ser importante para a localização de frutos maduros durante o forrageio. O modelo zero-inflated Negative Binomial indicou que nenhuma das variáveis preditoras foi estatisticamente significativa para explicar a riqueza de aromas, embora o efeito de contraste para primatas a curta distância tenha se aproximado do limiar de significância ($p = 0.106$). A variável categórica de interação entre aves e primatas com frutos não apresentou efeito significativo, mas frutos consumidos por aves e primatas apresentaram em média 29% mais riqueza de aromas do que frutos consumidos apenas por aves, enquanto frutos consumidos por primatas tiveram 12,5% menos riqueza de aromas.

Palavras-chave: correspondência de características, cor, odor, olfato, visão

1. Realizações no período

Optimization of fruit signaling as a mediator of animal frugivory

Introdução

Nas interações animal-planta, os sinais emitidos por frutos, como cor e aroma, são selecionados para corresponder às capacidades sensoriais dos animais que podem otimizar o consumo de frutos e, em última instância, aumentar a dispersão das sementes. O presente projeto buscou explorar diferentes hipóteses acerca das características de frutos carnosos que atuam na atração de animais frugívoros. Utilizando dados de coloração (contraste) e compostos voláteis relacionado ao aroma, buscou-se entender em que medida os frutos investem mais na expressão de uma característica em detrimento de outra.

Compreender a importância ecológica da seleção de características de frutos entre primatas, morcegos e aves contribui para uma compreensão mais refinada do processo de frugivoria e dispersão de sementes e seus reflexos na comunidade. Se animais orientados pela visão selecionam frutos com base em sinais visuais em vez de olfativos, nós levantamos a hipótese de que frutos com mais contraste investem menos em compostos aromáticos. Para as aves, esperávamos uma relação negativa entre aroma e contraste, o que significa que frutos com alto contraste apresentariam baixo aroma. Para os primatas, esperávamos que frutos com baixo contraste apresentassem maiores quantidades de aroma.

Objetivos

Com base nisso, se morcegos e mamíferos (primatas neotropicais e morcegos) são guiados pelo olfato e aves frugívoras são orientadas visualmente, esperávamos que os frutos selecionados por mamíferos emitissem mais aroma do que aqueles selecionados por aves. Também levantamos a hipótese de que aves e primatas utilizam a visão de cores de maneira diferente em longas e curtas distâncias durante o forrageamento. Como aves frugívoras são primariamente orientadas pela visão, esperávamos uma diferença no contraste entre os modelos visuais em curta e longa distância. No entanto, como os primatas apresentam o comportamento de cheirar os frutos individualmente ao chegarem a uma planta frutífera (Dominy et al., 2016; Hiramatsu et al., 2009), não esperávamos diferenças no contraste entre os modelos visuais em curta e longa distância.

Método

Coleta de frutos

Durante o período foram realizadas treze expedições para coleta de frutos nas áreas de Paranapanema e no Parque Estadual Carlos Botelho, ambos no Estado de São Paulo, totalizando 24 espécies coletadas. Foram coletados de dez a vinte frutos maduros e folhas maduras das mesmas espécies para calcular o contraste visual entre fruto e folhas. As espécies foram fotografadas e, em alguns casos, tiveram material botânico coletado para posterior identificação e/ou confirmação da espécie. Os frutos coletados, após a extração dos compostos

voláteis e coloração, foram armazenados em freezer -20C° embalados em papel alumínio para posterior extração de antocianina e carotenoides.

Compostos voláteis relacionados ao aroma

Após a coleta, os frutos foram colocados em uma câmara plástica mantida fechada por 30 minutos para que os aromas emitidos pelos frutos se concentrassem no interior da câmara. A câmara plástica foi conectada à uma bomba de sucção através de um tubo de silicone. Na extremidade do tubo de silicone posicionada no interior da câmara, foi adicionado um *probe* (capilar de vidro contendo 1.5 mg de *Tenax*, 1.5 mg de *Carbotrap* e 1.5 mg of *Carbosieve* III fornecidos por Sigma-Aldrich) para retenção dos compostos voláteis (Figura 2). Ao acionar a bomba, o ar contido dentro da câmara era succionado através do tubo de silicone e os compostos voláteis contidos no ar, retidos no *probe*. Cada espécie teve os aromas extraídos de três réplicas. Espécies como *Rhipsalis grandiflora* e *Trichilia claussoni* tiveram apenas uma réplica coletada devido à pouca oferta de fruto. Os frutos foram coletados de uma a duas plantas individuais por espécie.

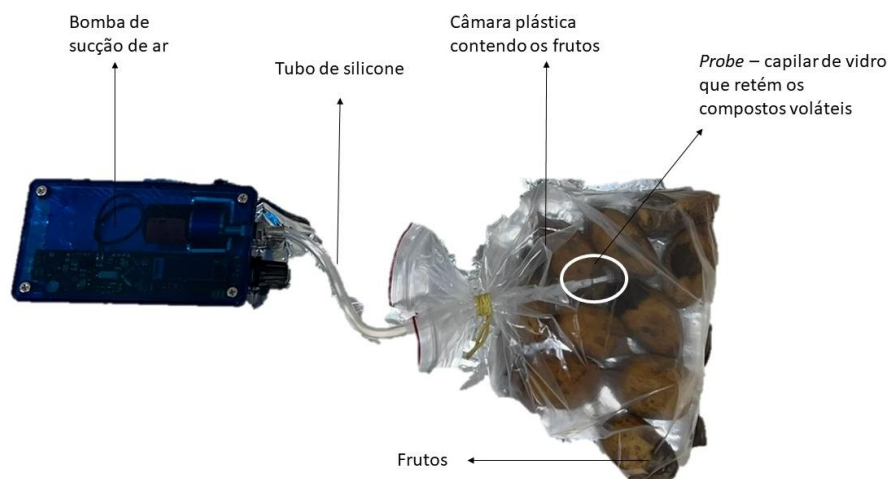


Figura 1. Imagem do procedimento e materiais usados na extração dos compostos voláteis relacionados ao aroma de frutos

Visita colaborativa German Centre for Integrative Biodiversity Research (iDiv)

A leitura e categorização dos compostos aromáticos foram realizados no *German Centre for Integrative Biodiversity Research (iDiv)*, Leipzig, Alemanha. Durante o período de 6 de maio a 17 de junho de 2024, foi realizada uma visita colaborativa ao German Centre for Integrative Biodiversity Research (iDiv), sendo realizado a elaboração de um protocolo de extração de compostos voláteis para ser aplicado nas amostras coletadas.

De maneira geral, o método de extração consiste em depositar a amostra no espectrofotômetro de massa gasosa onde os compostos voláteis irão se desprender do *probe* e ser injetados na coluna do espectrofotômetro (GMS), gerando gráficos com picos de concentração de cada composto químico de acordo com o tempo de retenção de cada elemento (Figura 3). Com o objetivo de otimizar a retenção e leitura dos compostos na coluna do GMS, foi elaborado um

novo protocolo no qual a extração dos compostos presos no *probe* era feita em duas etapas. A primeira consistia na extração e injeção na coluna de metade dos compostos voláteis. Na segunda parte, a outra metade dos compostos voláteis era recapturada novamente em um novo tubo e posteriormente feita a injeção na coluna do GMS. Este novo método de extração permite otimizar a leitura em amostras em que os compostos voláteis relacionados aos aromas não sejam tão fortes. De maneira oposta, este método também ajuda a ler de maneira mais padronizada amostras com composição química de odor muito forte.

No presente momento, estão sendo realizadas as leituras dos compostos voláteis para cada espécie coletada, com auxílio da equipe técnica do *Evolutionary Ecology Group (iDiv)*. A próxima etapa consiste em identificar cada pico gerado pela cromatografia gasosa, que indica um código para cada tipo de composto (picos). Posteriormente, cada composto será identificado com base em uma biblioteca de espectros para os índices de retenção. Desta maneira será obtida a identificação de cada composto relacionados aos aromas e sua intensidade (valor alcançado pelo pico). Com a identificação e intensidade, a próxima etapa será calcular a riqueza de compostos e a diferença de intensidade de emissão por espécie de frutos. Ao final, será feita uma comparação para investigar se frutos consumidos por aves e morcegos diferem na riqueza e intensidade dos compostos voláteis relacionados aos aromas.

Coloração dos frutos

Dos frutos coletados para extração de compostos voláteis, foram selecionadas de maneira aleatória dez espécies para medir coloração. Os demais frutos foram congelados para posteriores análises de antocianina, carotenoide, carboidratos e lipídeos. Utilizando espectrofotômetro com intervalo de 300nm a 700nm (Ocean Optics Inc.), os valores de refletância foram mensurados uma vez em cada fruto individual, encostando a fibra óptica na região superficial dos frutos. Para as medidas de refletância das folhas, foram usadas três folhas maduras obtendo uma medida por réplica. A partir dos dados de refletância dos frutos e das folhas obtidos, foram calculados os valores de contraste cromático por espécie.

Resultados

Identificamos uma diferença significativa entre os modelos de visão a longa e curta distância para aves, o que pode indicar que o contraste da coloração dos frutos e seus acessórios (arilo, pecíolo, etc) com o fundo (folhas verdes) pode ser importante para a localização de frutos maduros durante o forrageio (Figura 2). A maior riqueza de compostos aromáticos foi encontrada na espécie *Campomanesia guaviroba* (Myrtaceae) com 24 compostos. As espécies *Citharexylum myrianthum* (Verbenaceae), *Ocotea teleianandra* (Lauraceae) e *Rhipsalis grandiflora* (Cactaceae) não apresentaram compostos aromáticos identificáveis (Figura 3). O modelo zero-inflated Negative Binomial indicou que nenhuma das variáveis preditoras foi estatisticamente significativa para explicar a riqueza de aromas, embora o efeito de contraste para primatas a curta distância tenha se aproximado do limiar de significância (Tabela 1, $p = 0.106$). A variável categórica de interação entre aves e primatas com frutos não apresentou efeito significativo, mas frutos consumidos por aves e primatas apresentaram em média 29%

mais riqueza de aromas do que frutos consumidos apenas por aves, enquanto frutos consumidos por primatas tiveram 12,5% menos riqueza de aromas.

Tabela 1. Resultados do modelo GLM com distribuição de Poisson inflada em zero, adicionando a interação entre frutas (ave, primata ou mistura) como um efeito aditivo para testar a relação entre riqueza de aromas e modelo de visão de aves e primatas.

	Estimate (SE)	z	p
Intercept	1.40(0.42)	3.31	<0.001*
Bird long distance	0.006(0.004)	1.36	0.1
Bird short distance	0.007(0.009)	0.79	0.4
Primate long distance	0.0009 (0.004)	0.20	0.8
Primate short distance	0.01(0.006)	1.61	0.1
Interaction Primate	-0.13(0.21)	-0.63	0.5
Interaction Mix	0.25(0.19)	1.34	0.1

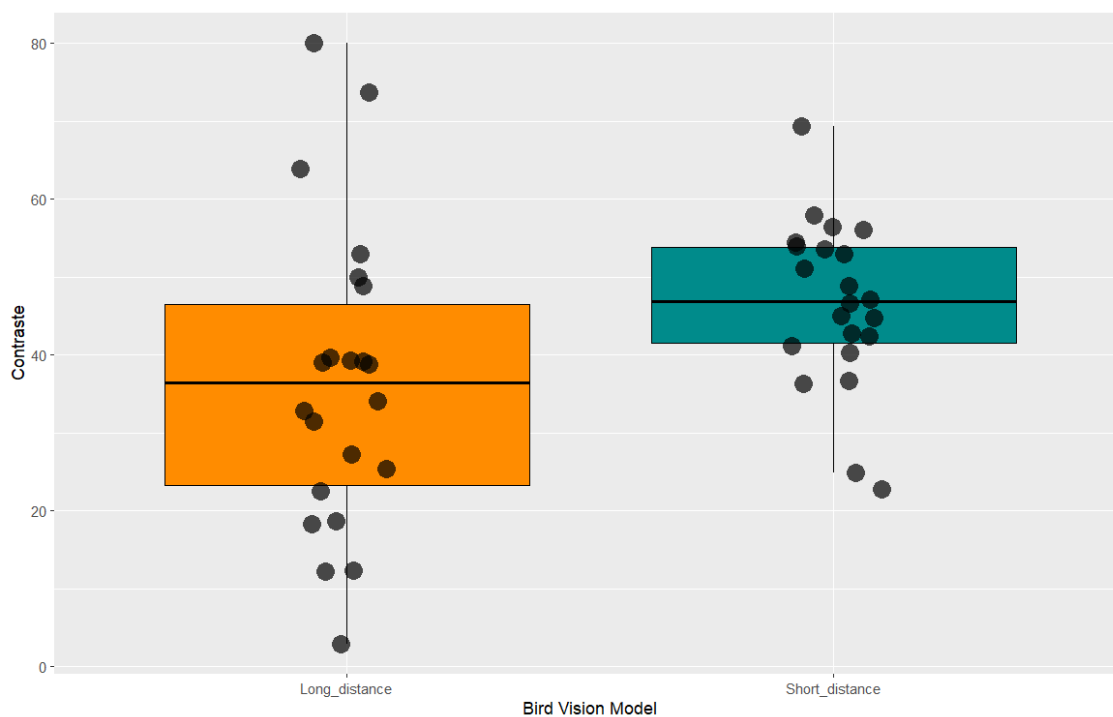


Figura 2. Boxplot do contraste para o modelo de visão das aves em longa e curta distância. Os pontos pretos representam as espécies de frutos amostrados.

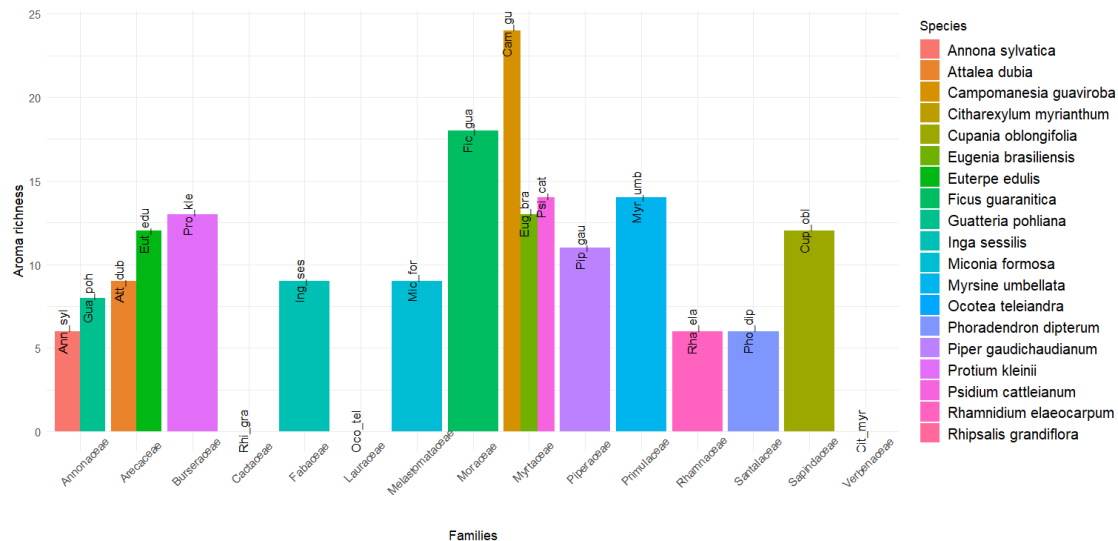


Figura 3. Riqueza de compostos aromáticos por espécies de frutos amostrados.

The missing pieces: addressing challenges and opportunities in fruit trait data for frugivory and seed dispersal interactions in the Neotropics

Introdução

Nas interações entre animais e plantas, certos atributos dos frutos desempenham um papel crucial como sinais visuais e olfativos que atraem animais frugívoros, facilitando o processo de dispersão de sementes. Embora os atributos funcionais das plantas tenham sido amplamente estudados, ainda existem lacunas significativas em nossa compreensão sobre as características dos frutos que impulsionam as interações com os animais. Apesar de traços morfológicos, como comprimento, largura, volume e diâmetro de frutos e sementes, serem investigados desde a década de 1960, os dados sobre traços mais modernos — como compostos voláteis que influenciam o aroma dos frutos e a reflectância espectral responsável pela cor — ainda são escassos e inconsistentes para espécies neotropicais. Essa lacuna limita nossa capacidade de compreender plenamente os *trade-offs* e os efeitos sinérgicos dos atributos dos frutos sobre a frugivoria e a dispersão de sementes.

Objetivos

Este artigo de perspectiva destaca a importância e os desafios de estudar tamanho de frutos e sementes, aroma, cor, compostos químicos de defesa e conteúdo nutricional. Propomos um arcabouço conceitual para enfrentar os desafios atuais, oferecer soluções e ampliar a aplicação de dados sobre atributos de frutos no contexto neotropical. Além disso, discutimos o papel de atributos-chave dos frutos na atração e consumo por frugívoros. Para ilustrar as implicações de conjuntos de dados incompletos, apresentamos um estudo de caso da Floresta Atlântica Semidecidual no Brasil. Entre 29 parâmetros avaliados em 130 espécies de plantas dispersas

por animais, menos de 50% estavam adequadamente documentados, e apenas cinco parâmetros foram totalmente caracterizados. Esses resultados evidenciam as limitações dos dados existentes para explorar interações entre atributos em ecossistemas ricos em biodiversidade. O estabelecimento de bases de dados abrangentes de atributos de frutos para espécies neotropicais é essencial para modelar e prever trajetórias fenotípicas e evolutivas, contribuindo, em última instância, para estratégias de conservação. Esses esforços são particularmente críticos em ecossistemas sob intensa pressão, como os ambientes tropicais, nos quais dados robustos de história natural podem orientar iniciativas eficazes de manejo e preservação.

1.2 Atividades em andamento

Extração e quantificação de lipídeos, carboidratos, proteínas, carotenoides e antocianinas. Esses dados serão incorporados na pesquisa proposta *Ecologia química e evolutiva das interações entre frutos e animais frugívoros*, submetida na bolsa de Pós-doutorado Fluxo Contínuo da Fapesp (processo em análise 2025/11968-3). O objetivo é associar esses dados nutricionais com os dados de aroma e coloração obtidos previamente para investigar como essas interações entre características dos frutos e os grupos de animais frugívoros são filogeneticamente conservadas.

2. Plano de Gestão de Dados

Os dados obtidos até o momento estão sendo armazenados no *drive* da Universidade Estadual Paulista. Os resultados finais bem como o banco de dados e *scripts* serão depositados no repositório digital e de acesso livre GitHub.

3. Orientações

2025 – atual. Iniciação Científica – Suellen Lobo, graduanda em Ciências Biológicas, Unesp Rio Claro. Frugivoria e dispersão de sementes por *Lambaris (Astyanax lacustris)* em área de Mata Atlântica.

2025 – atual. Iniciação Científica – Iasmin Jade Perinoto, graduanda em Ciências Biológicas, Unesp Rio Claro. Relações morfométrica da moela de aves com diferentes hábitos alimentares

2024-2025 – Trabalho de Conclusão de Curso – Tatiely Thomaz Godoy, graduanda em Ciências Biológicas, Unesp Rio Claro. A influência do tamanho da semente como fator mediador da taxa de consumo de frutos por aves.

2022 – 2024 - Orientação Atividade de Treinamento em Coleção Científica – Rafaela Reis.

Co-orientações

2025 – atual. Mestrado – Augusto Gonçalves Paulino. Programa de Pós-graduação em Ecologia, Evolução e Biodiversidade, Unesp Rio Claro. Estratégias de atração vegetal: variação de sinais aromáticos em frutos tropicais.

4. Disciplinas ministradas

Ecologia de comunidades, 20h, curso de Ciências Biológicas Integral, 1º semestre de 2024

Comportamento Animal, 20h, curso de Ciências Biológicas Integral, 2º semestre de 2024

5. Atividades de extensão

2025 - presente – Projeto de extensão Aves da Minha Rio Claro

6. Comentários do supervisor

Referências

- Gomes, A.M., Anciães, M., Cestari, C., Hashimoto, S., Pizo, M.A., 2022. The degree of frugivory of birds as estimated from gastric and fecal samples. *Ornitol. Neotrop.* 33, 66–73.
- Pizo, M.A., Morales, J.M., Ovaskainen, O., Carlo, T.A., 2021. Frugivory specialization in birds and fruit chemistry structure mutualistic networks across the neotropics. *Am. Nat.* 197, 236–249. <https://doi.org/10.1086/712381>
- Sarmiento, R., Alves-Costa, C.P., Ayub, A., Mello, M.A.R., 2014. Partitioning of seed dispersal services between birds and bats in a fragment of the Brazilian Atlantic Forest. *Zoologia* 31, 245–255. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702014000300006>