

Los mamíferos frugívoros prefieren frutos de cítricos infectados por *Penicillium digitatum*: ¿se equivocaba Janzen?

J.E. Peris^{1,2}, J.M. Fedriani^{3,4*}, L. Peña^{1,2}

(1) Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Pesquisa e Desenvolvimento. Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus). Vila Melhado. 14807-040 Araraquara, Sao Paulo, Brasil.

(2) Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)-Universidad Politécnica de Valencia (UPV). 46022 Valencia, España.

(3) Centro de Ecología Aplicada Prof. Baeta Neves/InBIO. Instituto Superior de Agronomía. Universidade de Lisboa. Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal.

(4) Estación Biológica de Doñana (CSIC). Isla de la Cartuja, 41092 Sevilla, España.

* Autor de correspondencia: J.M. Fedriani [fedriani@ebd.csic.es]

> Recibido el 06 de marzo de 2015 - Aceptado el 12 de septiembre de 2015

Peris, J.E., Fedriani, J.M., Peña, L. 2015. Los mamíferos frugívoros prefieren frutos de cítricos infectados por *Penicillium digitatum*: ¿se equivocaba Janzen?. *Ecosistemas* 24(3): 5-13. Doi.: 10.7818/ECOS.2015.24-3.02

Janzen (1977) propuso que los vertebrados frugívoros prefieren los frutos sanos frente a los infectados por hongos y bacterias dado que los microbios producen compuestos tóxicos y antibióticos y, además, reducen el valor nutritivo de los frutos infectados. Valoramos dicha hipótesis mediante experimentos de campo en los que ofrecimos tres variedades comerciales de frutos del género *Citrus* sanos e infectados por *Penicillium digitatum*. Sorprendentemente, los frugívoros (principalmente conejos *Oryctolagus cuniculus* y roedores como la rata negra *Rattus rattus* y ratones, probablemente, *Mus spretus* y *Apodemus sylvaticus*) prefirieron siempre los cítricos infectados a los frutos "control" sanos. En concreto, el consumo de frutos infectados de las tres variedades estudiadas fue hasta 32 veces mayor en comparación con el consumo de frutos sanos. Proponemos tres hipótesis no excluyentes que podrían explicar la preferencia de los frutos infectados por mamíferos y otros vertebrados frugívoros.

Palabras clave: hongo; metabolitos secundarios; tríada; interacciones noveles; relación competitiva; relación facilitativa.

Peris, J.E., Fedriani, J.M., Peña, L. 2015. Frugivorous mammals prefer citrus fruit infected by *Penicillium digitatum*: was Janzen wrong?. *Ecosistemas* 24(3): 5-13. Doi.: 10.7818/ECOS.2015.24-3.02

Janzen (1977) suggested that frugivorous vertebrates prefer healthy fruit against infected by fungi and bacteria because microbes produce toxic compounds and antibiotics, and also reduces the nutritional value of infected fruit. We evaluated this hypothesis by field experiments in which we offered three commercial varieties of *Citrus* fruits, both healthy and infected by *Penicillium digitatum*. Surprisingly, frugivores (mainly rabbits *Oryctolagus cuniculus* and rodents such as black rats *Rattus rattus* and mice, probably, *Mus spretus* and *Apodemus sylvaticus*) always preferred infected as compared with "control" uninfected fruits. In particular, the consumption of infected fruits of all three varieties studied was up to 32 times higher compared with healthy fruit consumption. We propose three non-mutually exclusive hypotheses that could explain the revealed strong preference of infected fruit by mammals and other frugivores.

Key words: fungus; secondary metabolites; triad; novel interactions; competitive relationship; facilitative relationship.

Introducción

Numerosas especies vegetales han evolucionado frutos carnosos que atraen y son ingeridos por vertebrados frugívoros, principalmente mamíferos y aves. Con frecuencia, las semillas adheridas a la pulpa son también ingeridas, transportadas internamente y, finalmente, liberadas lejos de la planta madre (i.e. endozoocoria). Estas interacciones mutualistas bipartitas, sin embargo, en ocasiones son alteradas por terceras especies que favorecen o perjudican el mutualismo planta-dispersor (Herrera 1982, Fedriani y Delibes 2013). Un caso relativamente frecuente de dichas "tríadas" (*sensu* Herrera 1984a) es el formado por plantas con frutos carnosos, sus dispersores de semillas y distintos hongos patógenos que se nutren principalmente de pulpa (p.e. Janzen 1977, Buchholz y Levey 1990, Cipollini y Stiles 1993). De forma pionera, Janzen (1977) afirmó que los vertebrados frugívo-

ros prefieren los frutos sanos frente a los infectados por hongos y bacterias dado que los microbios producen compuestos tóxicos y antibióticos y, además, reducen el valor nutritivo de los frutos infectados. Los frutos en fermentación raramente serían comidos por vertebrados excepto en condiciones de inanición extrema o cuando el contenido de compuestos metabolitos secundarios no fuera lo suficientemente alto como para enmascarar los azúcares y otros nutrientes presentes (Janzen 1977).

La mayoría de investigaciones sobre estos sistemas han concluido, de acuerdo con Janzen (1977), que los frugívoros seleccionan frutos sanos frente a infectados o en mal estado, por lo que los hongos interferirían negativamente en el mutualismo planta-dispersor de semillas. Muchas especies de aves muestran mayor preferencia de consumo por frutos frescos que por frutos en putrefacción (Borowicz 1988, Buchholz y Levey 1990, Cipollini y Stiles 1993, García et al. 1999). Por ejemplo, varias especies de aves, habitua-

les dispersoras de semillas de *Vaccinium ovalifolium* y *Juniperus communis*, mostraron preferencia por los frutos maduros sanos frente a los atacados por plagas e insectos, inmaduros, o abortados (Traveset et al. 1995, García et al. 1999). Otros estudios han mostrado que pájaros dispersores de semillas rechazan frutos atacados por insectos (Krischik et al. 1989, Manzur y Courtney 1994). También los mamíferos evitan normalmente los frutos infectados (Dominy 2004). Los primates salvajes generalmente consumen frutos frescos evitando los frutos demasiado maduros (Milton 2004). En general, se acepta comúnmente que los frugívoros de mayor tamaño tienden a repeler los frutos infectados, así como las semillas y pulpa en mal estado (Sherratt et al. 2006).

Existen pocos estudios sobre frugívoros que consumen frutos fermentados o en mal estado (Dudley 2004). Fitzgerald et al. (1990) demostraron la intoxicación y posterior mortalidad de *Bombycilla cedrorum* (Bombycillidae) al ingerir frutos de espino, *Crataegus sp.* con elevado contenido de etanol en su pulpa. Asimismo, monos sí-facas, *Propithecus diadema candidus*, en Madagascar consumieron semillas de frutos caídos muy maduros, posiblemente con contenido elevado de etanol en la pulpa (Milton 2004). Por tanto, algunos vertebrados frugívoros, y entre ellos mamíferos, pueden alimentarse de frutos en descomposición e incluso pudieran haber evolucionado adaptaciones específicas para ello. Asimismo, algunos autores indican que la infección de frutos por larvas de insectos puede incrementar el contenido nutricional de los frutos (Piper 1986, Drew 1987) y hacerlos más atractivos para mamíferos y aves (Redford et al. 1984).

En resumen, microorganismos y mamíferos frugívoros parecen tener una relación fundamentalmente competitiva (i.e. se limitan la disponibilidad de alimento mutuamente). En este sentido, la acumulación de metabolitos secundarios en los frutos jugaría un papel primordialmente protector de los mismos frente al ataque de microorganismos (Janzen 1977, Cipollini y Stiles 1993). Sin embargo, no conocemos ningún estudio que haya evaluado si la naturaleza de dicha relación (competitiva, neutra, o facilitativa) varía entre distintas especies de frugívoros y/o variedades de frutos. Existe la interesante posibilidad, no considerada hasta la fecha, de que hongos y otros microorganismos reblandezcan la piel de los frutos infectados y degraden sus metabolitos secundarios protectores, con lo que ésta perdería parcialmente su capacidad protectora. Ello facilitaría el acceso de frugívoros vertebrados incapaces de acceder a la pulpa de los frutos sanos. En este caso, la interacción entre el hongo y los mamíferos frugívoros podría ser facilitativa. La falta de estudios probablemente se relacione con dificultades logísticas de realizar experimentos de campo suficientemente replicados con frutos infectados y sanos en similar estado de maduración.

Muchas especies de mamíferos consumen frecuentemente frutos domésticos en sistemas agrícolas de todo el mundo (Fedriani et al. 2001, Rosalino y Santo-Reis 2009; Tabla 1). Estas "interacciones noveles" (*sensu* Wood et al. 2015), que se dan en sistemas agrícolas lógicamente apropiados, pueden ser de gran ayuda para progresar en nuestro conocimiento sobre algunas cuestiones ecológicas, tales como el carácter competitivo, neutro o facilitador de los hongos en su interacción con mamíferos frugívoros (véase también Thompson 2013). Actualmente los cítricos (*Citrus sp.*) son el primer cultivo frutal del mundo tanto en superficie (más de 8 millones de Hectáreas cultivadas) como en producción (131 millones de Tm producidas en el año 2012) (FAO 2012). Se cultivan en más de 100 países en la franja comprendida entre los 40° de latitud al norte y sur del ecuador. Pese a su importancia económica y agronómica, llama enormemente la atención el vacío existente acerca de las interacciones ecológicas con otras especies y sus potenciales consecuencias. Aunque no conocemos ningún estudio centrado en la ecología de los cítricos y sus interacciones con vertebrados frugívoros, sí se han citado casos de frugívoros consumidores de frutos cítricos en diferentes ecosistemas y partes del mundo (véase Tabla 1).

En este estudio evaluamos experimentalmente la posible atracción o repelencia de frutos infectados por hongos por parte de los vertebrados consumidores de cítricos. Para ello, realizamos una serie de experimentos de campo en los que se ofrecieron frutos

sanos e infectados por *Penicillium digitatum* de tres variedades de cítricos en una parcela de cultivo de cítricos en Valencia. En concreto, nuestro objetivo fue contestar a las siguientes dos preguntas: (i) ¿Cuál es la naturaleza (competitiva vs. facilitadora) de la interacción entre hongos y mamíferos frugívoros?, y (ii) ¿es la naturaleza de la interacción consistente entre especies de frugívoros y variedades de cítricos?

Material y Métodos

Área de estudio

El estudio fue realizado en las parcelas cultivadas del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) entre los meses de julio a diciembre de 2013. El clima es Mediterráneo cálido con veranos secos y calurosos e inviernos templados. La parcela donde se realizó el estudio tiene una superficie de 0.4 Hectáreas, con diferentes variedades de cítricos entre las que predomina la clementina Clementines (*Citrus clementina* Hort. ex Tan.). La parcela está rodeada por campos de cultivo comerciales y experimentales de cítricos. En un extremo de la parcela existen varias madrigueras habitadas por conejos.

Para los experimentos de campo, seleccionamos tres variedades de cítricos (clementina Clementines [*Citrus clementina* Hort. ex Tan.], satsuma Owari [*Citrus unshiu* Marc.] y naranja Bernalate [*Citrus sinensis* L. Osbeck]) que difieren en sus propiedades físico-químicas y nutritivas. Clementines es una mandarina del grupo clementinas, con fruto de tamaño mediano, corteza fina, algo rugosa, fácil de pelar, elevado contenido en zumo, equilibrio en la relación ácidos – azúcares, pulpa fundente (Soler y Soler 2006), índice de madurez (IM) 11.5 y acidez 13 g/L (datos consultados en Variedades comerciales de cítricos para noviembre, IVIA 2015). La Bernalate es una naranja del grupo Blancas que produce frutos de tamaño mediano a grande, corteza espesa, elevado contenido en zumo, IM = 13 y acidez 9 g/L (elaboración propia, análisis realizados en julio de 2013). La satsuma Owari es una mandarina con frutos de tamaño mediano a pequeño, color naranja poco intenso y forma aplanada, con alto contenido en zumo (Soler y Soler 2006), IM = 7 y acidez 16 g/L (datos consultados en Variedades comerciales de cítricos para octubre, IVIA 2015). Clementinas y satsumas son mandarinas, por tanto, con corteza más fina que la naranja Bernalate, lo cual puede tener implicaciones en sus interacciones con distintos vertebrados frugívoros. No obstante, el D-limoneno es el compuesto volátil predominante en las glándulas de aceite de la piel de las tres variedades.

Diseño experimental

Para evaluar la preferencia por frutos de cítricos sanos e infectados por hongos por parte de mamíferos y otros vertebrados frugívoros, se ofrecieron ambos tipos de frutos sobre camas de arena (i.e. areneros, ver Fig. 1C) de 1 m de diámetro en la misma parcela de cultivo de cítricos. Se recolectaron frutos que no habían recibido tratamientos fitosanitarios en los últimos 3 meses. Los frutos se infectaron con *P. digitatum* cepa NAV-7 obtenida del Laboratorio de Patología de Hongos del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Los frutos se desinfectaron mediante inmersión durante 1 minuto en una solución de hipoclorito sódico 4 gL⁻¹. Posteriormente se enjuagaron con agua y secaron al aire. Para infectar los frutos se realizaron 2 incisiones opuestas en la corteza de los frutos, practicadas en el ecuador de cada fruto y posterior inmersión en una solución de agua con Tween 80 y esporas de *P. digitatum* NAV-7 (Palou et al. 2002) durante 2 horas. Los frutos se incubaron a 25°C con elevada humedad relativa. Pasados 7 días desde la infección, se observó un halo de crecimiento activo de las hifas de *P. digitatum* en la piel de los frutos (Fig. 1F). En cada arenero se colocaron 3 frutos sanos y 3 frutos infectados dispuestos de manera alterna y separados por ~10 cm. En la parcela se montaron 15 areneros distribuidos aleatoriamente (ver Fig. 1A). Los areneros se montaron debajo de los árboles de cítricos simulando la caída natural de los frutos maduros (Fig. 1B). Otros detalles sobre la metodología empleada son descritos por Fedriani y Delibes (2009, 2013).

Tabla 1. Especies animales consumidoras de frutos cítricos, parte del fruto consumida, y localización geográfica de los estudios.**Table 1.** Animal species consumers of citrus fruit, part of the fruit consumed, and geographical location.

Nombre común	Nombre científico	Familia	Localización	Parte consumida	Referencia
Paca común	<i>Cuniculus paca</i>	Cuniculidae	Floresta Atlántica, Brasil	Pulpa y semillas	Zuracatto et al. 2010
Comadreja overa	<i>Didelphis albiventris</i>	Didelphiidae	Curitiba, Brasil	Semillas en sus heces	Cáceres 2002
Aguara guazú	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	Canidae	Itapetininga, Sao Paulo, Brasil	Pulpa	Motta-Junior y Martins 2002
Mono carablanca	<i>Cebus capucinus</i>	Cebidae	Costa Rica	Pulpa	Baker 1996
Coyote	<i>Canis latrans</i>	Canidae	California	Semillas en sus heces	Silverstein 2005
Coyote	<i>Canis latrans</i>	Canidae	México	Pulpa	Monroy et al. 2003
Elefante asiático	<i>Elephas maximus</i>	Elephantidae	Tailandia	Frutos	Kitamura et al. 2002
Muntíaco de la India	<i>Muntiacus muntjak</i>	Cervidae	Tailandia	Frutos	Kitamura et al. 2002
Marta de Japón	<i>Martes melampus</i>	Mustelidae	Japón	Semillas en sus heces	Tsuji et al. 2011
Macaco de Japón	<i>Macaca fuscata</i>	Cercopithecidae	Isla Yakushima, Japón	Frutos	Otani y Shibata 2000
Ardilla de palmera	<i>Funambulus pennantii</i>	Sciuridae	Perth, Australia	Pulpa	Long 2003
Agutí negro	<i>Dasyprocta mexicana</i>	Dasyproctidae	México	Semillas y pulpa	Chambé 2012
Chimpanzé	<i>Pan troglodytes schweinfurthii</i>	Hominidae	Mahale, Tanzania	Frutos de limón (Citrus limon)	Takahata et al. 1986
Gualacate	<i>Euphractus sexcinctus</i>	Dasypodidae	Mato Grosso, São Paulo, Brasil	Pulpa y semillas	Dalponete y Tavares-Filho 2004
Chacal de lomo negro	<i>Canis mesomelas</i>	Canidae	Reserva Natural Monkolodi, Botswana	Frutos	Kaunda y Skinner 2003
Marta	<i>Martes martes</i>	Mustelidae	Mallorca, España	Pulpa	Clevenger 1996
Zorro volador	<i>Pteropus conspicillatus</i>	Pteropodidae	Queensland, Australia	Frutos de naranja y mandarina	Richards 1990
Tití gris	<i>Saguinus leucopus</i>	Callitrichidae	Mariquita, Tolima, Colombia	Frutos	Poveda y Sánchez-Palomino 2004
Tapir silvestre	<i>Tapirus bairdii</i>	Tapiridae	Gran Pantanal, Brasil	Fruto y semillas de <i>C. aurantium</i>	Olmos 1997
Tucancillo collarejo	<i>Pteroglossus torquatus</i>	Ramphastidae	Panamá	Frutos	Leck 1972
Amazona gorgirroja	<i>Amazona arausiaca</i>	Psittacidae	Dominica	Frutos	Douglas et al. 2013
Tangara azulada	<i>Thraupis episcopus</i>	Thraupis episcopus	Cordillera de la Costa, Venezuela	Pulpa	Verea et al. 2009
Toche negro	<i>Ramphocelus carbo</i>	Thraupidae	Cordillera de la Costa, Venezuela	Pulpa	Verea et al. 2009
Cacatua galerita	<i>Cacatua galerita</i>	Cacatuidae	Australia	Semillas de cítricos	White 2011
Tortuga gigante	<i>Geochelone elephantopus</i>	Testudinidae	Santa Cruz, Islas Galápagos, Ecuador	Frutos	Cayot 1987
Caimán del Misisipi	<i>Alligator mississippiensis</i>	Alligatoridae	Carolina del Norte	Frutos directamente del árbol	Platt et al. 2013
Caimán del Misisipi	<i>Alligator mississippiensis</i>	Alligatoridae	Carolina del Norte	Frutos caídos	Brueggen 2002
Lagartija de Erhard	<i>Podarcis erhardii</i>	Lacertidae	Grecia	Pulpa	Brock et al. 2014

Cada variedad fue ofrecida en el momento en que los frutos se encontraban maduros. Durante 5 días consecutivos y a primera hora de la mañana, se anotaron los frutos consumidos *in situ* y los faltantes. Los frugívoros visitantes se identificaron por medio de sus huellas y otras señales (heces, tipo de manipulación de los frutos, etc. Ver Figuras 1D y 1F). Los frutos consumidos o faltantes se repusieron cada mañana. Las naranjas se ofrecieron en julio, las satsumas en octubre y las clementinas en noviembre de 2013, coincidiendo con las fechas de maduración de sus frutos.

Análisis estadísticos

Tanto la probabilidad de visita como el porcentaje de frutos de cada tratamiento colectados por los distintos frugívoros se analizaron mediante modelos mixtos lineales generalizados con error bi-

nomial y función de enlace logit usando el procedimiento GLIMMIX de SAS (Littell et al. 2006). El tipo de frugívoro (conejo, roedor, ave), la variedad de cítrico (clementina, satsuma y naranja), el tratamiento (sano o infectado por *P. digitatum*), y sus interacciones de segundo orden fueron especificados como factores fijos. La fecha, el número del experimento y el bloque (anidado en experimento) fueron tratados como efectos aleatorios (Bolker et al. 2009). Las medias ajustadas y los errores estándar se calcularon utilizando la opción LSMEANS y fueron luego transformados a escala lineal mediante la serie de Taylor apropiada (Littell et al. 2006). Cuando la interacción entre dos factores fue significativa, se realizaron tests del efecto de un factor en cada nivel del otro factor ("pruebas de efectos principales simples") utilizando la opción "Slice" de LSMEANS (Littell et al. 2006).

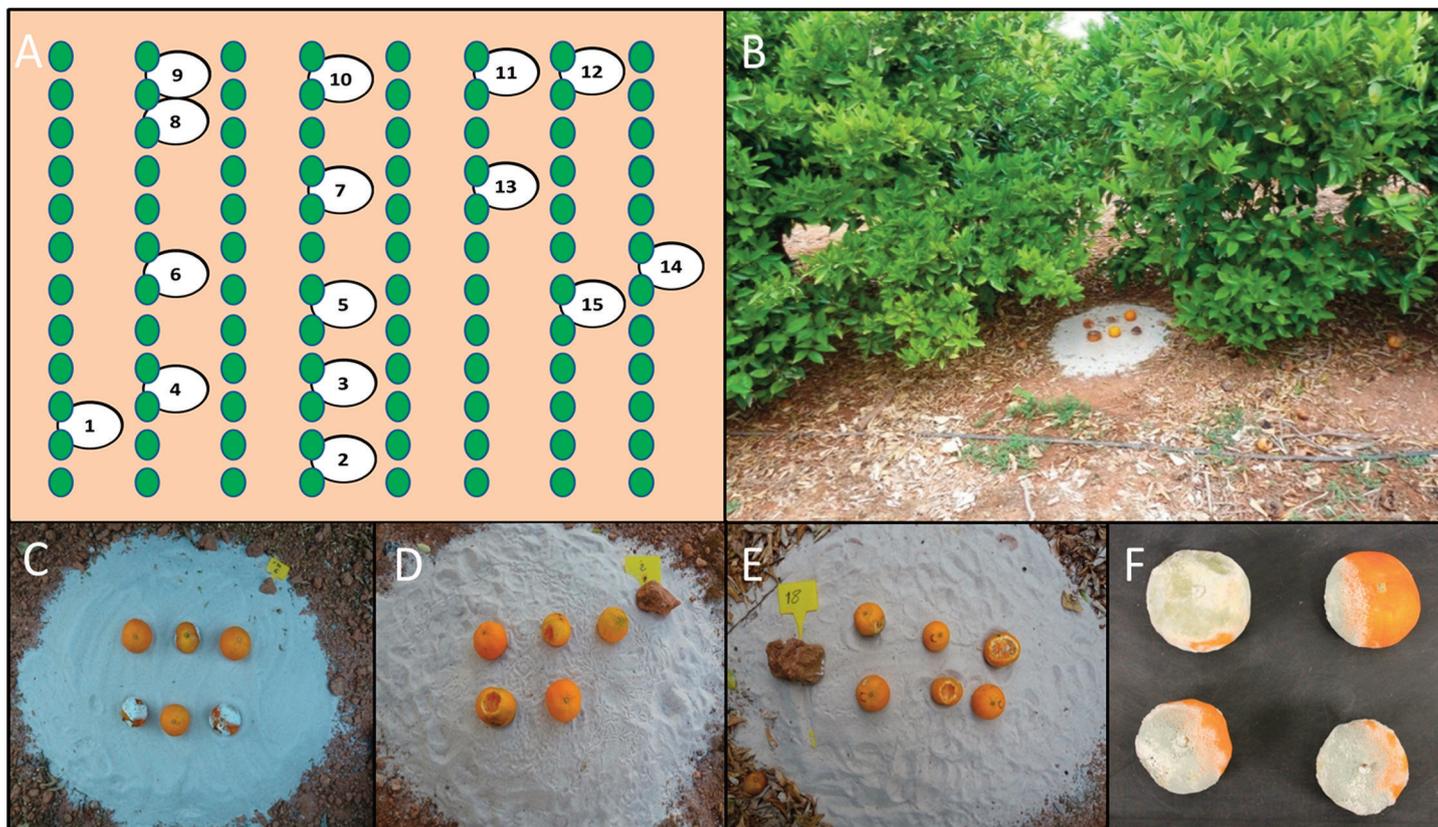


Fig. 1. A) Representación esquemática de la distribución de los quince ofrecimientos de frutos en la parcela de estudio; B) colocación de los ofrecimientos debajo de la copa simulando la caída natural de los frutos; C) cama de arena (i.e. areneros) con frutos sanos e infectados por *P. digitatum* dispuestos de manera alterna; D) arenero con huellas y frutos infectados de clementino comidos por conejo y pájaros; E) arenero con huellas y frutos infectados de clementino comidos por conejo; F) frutos de clementino infectados por el hongo *P. digitatum* antes de ser ofrecidos en los areneros.

Fig. 1. A) Schematic representation of the random distribution of the fifteen fruit offerings in the orchard; B) we placed fruits on sand beds underneath orange trees simulating natural fruit drop; C) sand bed with healthy and infected by *P. digitatum* fruits alternately arranged; D) sand bed with footprints and clementino infected eaten by birds and rabbits; E) sand bed with footprints and clementino infected fruits eaten by rabbit; F) clementino fruits infected by the fungus *P. digitatum* before to be offered in the sand beds.

Resultados

Mamíferos y otros frugívoros visitantes

Los ofrecimientos de frutos cítricos fueron visitados frecuentemente por conejos (*Oryctolagus cuniculus*), roedores y aves frugívoras. Las diferencias en las tasas de visita entre grupos de frugívoros fueron altamente significativas ($F_{2,810} = 55.39$, $P < 0.0001$; Fig. 2). Concretamente, los conejos fueron con mucho los frugívoros más frecuentes ($89.2\% \pm 2.7$ [media ± 1 ES] de los ofrecimientos). La probabilidad de visitas por conejos fue 9.7 y 1.6 veces mayor que las de roedores (ratas *Rattus rattus* y ratones *Mus spretus* y/o *Apodemus sylvaticus*) y aves (mirlos *Turdus merula*, urracas *Pica pica*, gorriones *Passer domesticus* y lavanderas *Motacilla alba*), respectivamente. Las aves fueron, de media, 6.1 veces más frecuentes que los roedores (Fig. 2). También hubo notables diferencias en las tasas de visitas entre distintas variedades de cítricos ($F_{2,810} = 5.87$, $P < 0.003$). De media, los ofrecimientos de clementina atrajeron ~ 1.8 veces más frugívoros en comparación con los de satsuma y naranja (Fig. 2).

La interacción entre tipo de frugívoro y variedad de fruto fue significativa ($F_{4,810} = 15.04$, $P < 0.0001$), indicando que las probabilidades de visitas de los distintos frugívoros no fue consistente entre variedades de frutos cítricos. Por ejemplo, mientras que en los ofrecimientos de clementina y satsuma las aves fueron visitantes más frecuentes que los roedores, en los ofrecimientos de naranja Bernalate las frecuencias de visitas de esos dos mismos grupos de frugívoros fueron similares ($29.4\% \pm 6.9$ y $34.8\% \pm 8.2$, respectivamente; Fig. 2).

Efecto de la infección por *P. digitatum* en la preferencia de frutos

La ingestión de las tres variedades de frutos cítricos por mamíferos y otros frugívoros siguió un patrón similar al de las visitas, siendo la naranja Bernalate la variedad menos consumida (Fig. 3). En concreto, el consumo de mandarinas satsuma y clementina fue 3.5 y 2.3 veces mayor que el de naranja, siendo estas diferencias significativas ($F_{2,514} = 3.73$, $P = 0.025$; Fig. 3). La infección de frutos cítricos con *P. digitatum* tuvo un efecto altamente significativo sobre la probabilidad de consumo por parte de mamíferos (conejo, rata y ratón) y otros frugívoros vertebrados (mirlo, gorrión, lavandera, urraca) ($F_{1,514} = 204.08$, $P < 0.0001$). De media, los frutos infectados fueron 17.5 veces más consumidos que los sanos. No obstante, la interacción significativa entre infección por *P. digitatum* y variedad cítrica ($F_{2,514} = 9.87$, $P < 0.001$) indicó que la magnitud de las diferencias en probabilidad de consumo de frutos infectados y sanos cambió entre variedades. En concreto, para mandarinas clementina y satsuma el consumo de frutos infectados fue 32.5 y 17.8 veces mayor, respectivamente, en comparación con las no infectadas, mientras que en naranja Bernalate la preferencia por los frutos infectados fue menos marcada (6.2 veces mayor; Fig. 3). Dicha preferencia por los frutos infectados ocurrió para todos los frugívoros vertebrados y para las tres variedades de cítricos (Fig. 4). Para naranja Bernalate y clementina no hubo diferencias entre el tipo de frugívoro vertebrado en el consumo de frutos infectados y sanos (Test exacto de Fisher, $P > 0.107$). Para satsuma, la preferencia por los frutos infectados fue ligeramente menor en los conejos en comparación con las aves (Test exacto de Fisher, $P = 0.027$), no habiendo suficientes casos para evaluar la preferencia por los roedores.

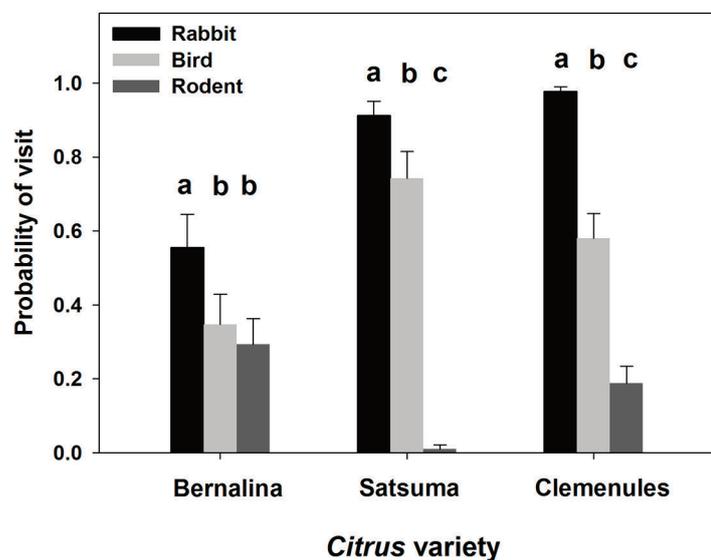


Figura 2. Medias ajustadas y errores estándares en las tasas de visitas según grupo frugívoro y variedad de cítrico. Las letras distintas encima de las barras indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre grupos de frugívoros para cada variedad cítrica.

Figure 2. Adjusted means and standard errors of rates of visits by different frugivore groups and citrus variety. Different letters on top of bars indicate significant differences ($P < 0.05$) between frugivore types for each citrus variety.

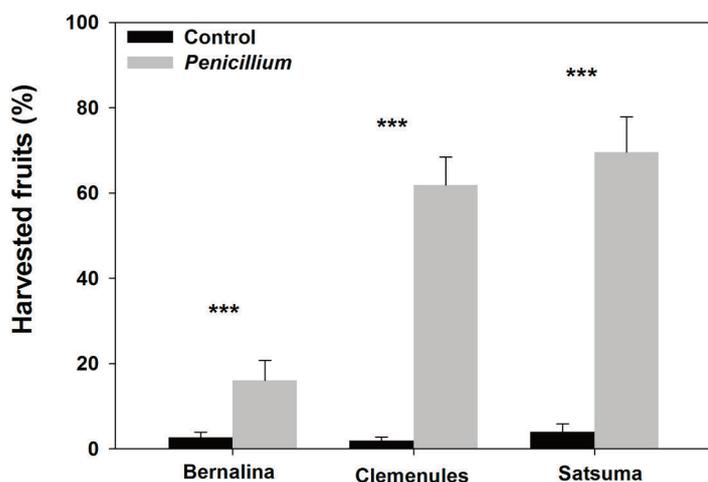


Figura 3. Medias ajustadas y errores estándares de los porcentajes de consumo de frutos según variedad de fruto y tratamiento (infectado o sano). ***, $P < 0.0001$

Figure 3. Adjusted means and standard errors of percentage of fruit consumption and treatment depending on fruit variety and treatment (infected or non-infected). ***, $P < 0.0001$

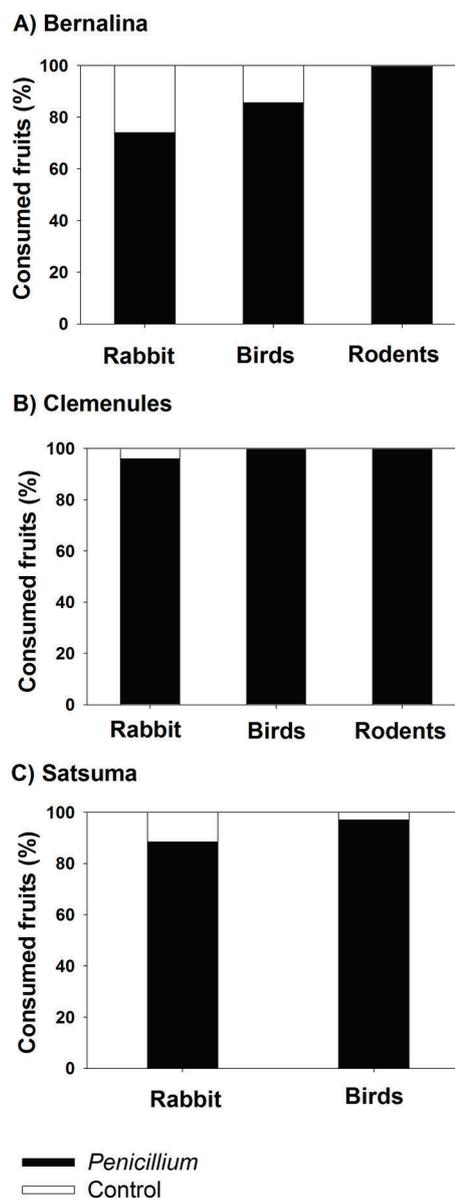


Figura 4. Porcentajes observados de consumo de frutos por distintos frugívoros según variedad de fruto y tratamiento (infectado o sano).

Figure 4. Observed percentage of fruit consumption by different frugivore groups depending on fruit variety and treatment (infected or non-infected).

Discusión

Mamíferos y otros frugívoros visitantes

A nivel mundial, los mamíferos de tamaño grande y medio parecen ser los principales consumidores de cítricos, aunque también existen documentados algunos casos de aves y reptiles (Tabla 1). Durante nuestros ofrecimientos de frutos, los visitantes más frecuentes fueron los conejos, seguidos muy de lejos por aves y roedores. La alta frecuencia de visitas de conejos probablemente se relaciona con la cercanía de numerosas madrigueras de conejos (en un mismo día se han llegado a avistar hasta 32 individuos distintos).

Las frecuencias relativas de visitas por los distintos grupos de frugívoros variaron con respecto a las variedades de frutos cítricos ofrecidos. Las aves visitaron mucho más frecuentemente las mandarinas que las naranjas. Esto puede deberse a las diferencias de grosor de la piel entre mandarinas y naranjas, y a las diferencias en las características organolépticas de cada variedad. Las mandarinas tienen una piel más fina en comparación con las naranjas, hecho que puede facilitar el acceso de las aves a la pulpa. En cuanto a las características organolépticas, *Clemenules* tiene mayor contenido de azúcares en pulpa en comparación con *satsuma Owari* y *naranja Bernalate* (datos sin publicar). Estos dos hechos creemos que pueden explicar las diferencias en las tasas de visitas dado que sería esperable que los frutos más atractivos sean aquellos con alto contenido en azúcar y menor dificultad para acceder a ella (Herrera 1984b). No obstante, dado que los ofrecimientos de las tres variedades no se realizaron simultáneamente, no puede descartarse que algunas de las diferencias en las frecuencias de visitas se relacionen con variaciones estacionales en las abundancias relativas de los mamíferos y otros vertebrados frugívoros.

Efecto de la infección por *P. digitatum* en la preferencia de frutos

Los resultados indican que los distintos grupos de frugívoros prefieren consumir frutos cítricos infectados por *P. digitatum* en comparación con los sanos (Fig. 3). Este novedoso resultado, que contradice a Janzen (1977), sugiere la existencia de diferencias físicas y/o químicas importantes entre frutos infectados y sanos, que resultan en una fuerte preferencia de los vertebrados frugívoros por los frutos infectados. Observaciones realizadas en Borneo muestran que algunos elefantes (*Elephas maximus*) recorren grandes distancias en busca de frutos fermentados del género *Durio*, *Bombacaceae* (Siegel 2005). También algunos monos y murciélagos consumen frutos fermentados de *Durio* (Siegel 2005). Algunos animales repiten con asiduidad el consumo de frutos fermentados y en mal estado. En África se han observado elefantes que, junto con ganado, recorren grandes distancias a través de las sabanas para consumir frutos maduros de palmera *Hyphaene thebaica*, de marula (*Sclerocarya birrea*), de mongongo (*Schinziophyton rautanenii*), y dátiles de palmera del género *Borassus*, *Arecaceae*. Estos frutos fermentan rápidamente una vez maduros generando moléculas aromáticas que atraen animales (Siegel 2005). Estas observaciones junto con otros estudios (Dominy 2004, Dudley 2000, Sherratt et al. 2006) parecen indicar que, aunque no de manera generalizada, sí existen diversas especies de mamíferos y aves habituados al consumo de frutos fermentados, infectados o en mal estado.

A continuación proponemos tres hipótesis no excluyentes que explicarían la preferencia de los mamíferos y otros vertebrados por los frutos de cítricos infectados frente a los sanos:

Los hongos reblandecen la piel de los frutos infectados y así aumentan la accesibilidad de los frugívoros a la pulpa: una vez iniciada la infección del fruto por *Penicillium sp.*, las hifas del hongo segregan una enzima que degrada la lignina de la pared celular (Marcet-Houben et al. 2012) reblandeciendo los tejidos. Este mecanismo de facilitación del acceso de los frugívoros a la pulpa sería especialmente crítico para algunas aves y otros frugívoros de menor tamaño incapaces de atravesar la gruesa piel de cítricos no infectados.

Biotransformación en nuevas sustancias atrayentes o menos repelentes para los frugívoros. Esta hipótesis comprende dos componentes:

A) **Los hongos liberan metabolitos secundarios atrayentes de frugívoros:** la infestación de una naranja por *Penicillium* posiblemente conlleve la fermentación de los azúcares que son transformados en alcoholes y aldehídos (Tuset 1987). Por ejemplo, a medida que se desarrolla el hongo *P. digitatum* se produce etileno en los frutos cítricos infectados (Achilea et al. 1985). Estos nuevos compuestos generados a partir de la infección son muy volátiles y emiten aromas que podrían atraer más frugívoros que los frutos no infectados.

B) **Los hongos degradan las sustancias repelentes de la piel del fruto y posiblemente biotransforman estas sustancias en otras atrayentes de frugívoros.** Las sustancias de la piel posiblemente sean defensoras frente a predadores, plagas y patógenos (Cipollini y Levey 1997, Rodríguez et al. 2013), y ejerzan un papel protector sobre pulpa y semillas del fruto por lo que podrían repeler a los frugívoros. La infección de una naranja por *Penicillium* origina una serie de procesos bioquímicos (i.e. Biotransformación) que transforma los compuestos existentes en otros compuestos derivados. Por ejemplo, la infección de un fruto por *P. digitatum* transforma el D-limoneno existente en las glándulas oleicas de la piel en α -terpineol (Tan et al. 1998, Demittenaere et al. 2001). Asimismo, la infección por hongos transforma el citral en timol, geranial, nerol, D-limoneno, α -pineno y geraniol (Esmaili y Tavassoli 2010). Estos compuestos generados son altamente volátiles y podrían resultar atractivos para mamíferos y otros frugívoros.

Los hongos producen sustancias con propiedades medicinales que atraen a los frugívoros: algunos autores indican que determinados animales (i.e. chimpancés *Pan troglodytes schweinfurthii* en Uganda, Krief et al. 2005) son capaces de automedicarse de manera intencionada imitando y observando el comportamiento de otros animales adultos. Se han observado individuos de mono carablanca, *Cebus capucinus*, frotando corteza de frutos cítricos sobre su cuerpo y posteriormente aplicándose el zumo de la pulpa en Costa Rica (Baker 1996). Algunos animales consumen frutos con moderados contenidos de etanol probablemente debido al alto contenido calórico de dicho alcohol o a sus propiedades purgantes (Dominy y Lucas 2004). El consumo de frutos infectados por *Penicillium sp.* podría reportarles beneficios para la salud desconocidos hasta la fecha.

Se desconocen muchas de las transformaciones bioquímicas que se dan en un fruto desde que se inicia la infección por *P. digitatum*, por lo que es necesario seguir investigando para determinar qué compuesto o compuestos explican la preferencia de los frugívoros por consumir frutos infectados frente a frutos sanos.

Naturaleza de la interacción entre hongos y mamíferos

La infección de los cítricos por *Penicillium sp.* parece formar parte de una tríada ecológica fruto – hongo – vertebrados frugívoros en la que cada parte interactúa simultáneamente con las otras dos (Herrera 1984a). Las plantas producen frutos carnosos que atraen a los frugívoros y estos dispersan sus semillas, los hongos colonizan tejidos del fruto óptimos para esporular, y los frugívoros se alimentan de pulpa rica en azúcares.

Las hipótesis propuestas sobre el papel de *P. digitatum* pueden ayudar a entender mejor las relaciones ecológicas en interacciones similares entre especies nativas. Contrariamente a la idea de que los microbios colonizan rápidamente los frutos produciendo compuestos tóxicos y antibióticos y reduciendo el valor nutritivo de los frutos infectados (Janzen 1977), nuestros datos experimentales indican que *P. digitatum*, en el caso de los cítricos, tiene un papel facilitador del acceso a la pulpa para los frugívoros (Fig. 3). Estos resultados también se ven apoyados por puntuales estudios en otros ecosistemas documentando un alto consumo de frutos infectados (Dominy 2004, Dudley 2004, Milton 2004) probablemente debido a la presencia de bajos niveles de etanol. Esta nueva concepción es opuesta a la visión más generalizada sobre la naturaleza competitiva de las interacciones entre vertebrados frugívoros y los microorganismos (Cipollini y Stiles 1993, Tewksbury, 2002) y,

ciertamente, invita a que este tipo de sistemas sea detalladamente investigado con renovada atención. Dichas investigaciones también deberían considerar los probables efectos demográficos de estas interacciones. Por ejemplo, algunos frugívoros consumidores de cítricos probablemente dispersen sus semillas viables y faciliten la colonización en hábitats tropicales (Baskaran y Desai 2013, Campos-Arceiz et al. 2012, García-Morales et al. 2012, Montaldo 1993, Milton 2008). Por su parte, el aporte de fruta de forma predecible y abundante probablemente permite a los frugívoros mantener altas densidades poblacionales (e.g. Fedriani et al. 2001). Asimismo, de manera análoga a lo encontrado en otros sistemas comparables (Johnson 1994, Janos y Sahley 1995, Maser et al. 1978), *Penicillium* y otros hongos que infectan los frutos cítricos se beneficiarían de la dispersión de esporas por parte de los frugívoros tanto de forma exozoócara como endozoócara.

En los frutos cítricos, los monoterpenos son los principales componentes de las glándulas del aceite esencial de la cáscara (flavido), siendo el D-limoneno el más abundante (hasta 95% en la naranja) (Rodríguez et al. 2011). Estudios realizados en naranjas con bajo contenido de D-limoneno (Rodríguez et al. 2011) indican que *P. digitatum* se desarrolla y crece más rápido en frutos con elevados contenidos de D-limoneno que en frutos con bajos contenidos de D-limoneno en la cáscara. Por tanto, la existencia de D-limoneno en los frutos favorece su colonización por *P. digitatum*, lo que a su vez favorece el consumo por frugívoros vertebrados y, probablemente, la dispersión de semillas. Nuevos experimentos son necesarios para poder identificar la importancia relativa de la infección por *P. digitatum* y de la concentración de D-limoneno y otros compuestos volátiles sobre la selección de frutos por mamíferos y otros vertebrados frugívoros. Asimismo, dado que el consumo de cítricos por mamíferos y otros vertebrados frugívoros parece ser un fenómeno global (Tabla 1), son necesarios nuevos experimentos en distintas localidades y ecosistemas que permitan comprobar la consistencia espacial y temporal de las interesantes tendencias aquí descritas para la tríada cítricos-mamíferos-hongos.

Conviene recordar que las variedades de cítricos utilizadas, así como las condiciones bióticas y abióticas de nuestra parcela experimental, son lógicamente diferentes a las ancestrales de los cítricos en el Sureste Asiático. Por ejemplo, las especies de frugívoros involucradas en nuestros experimentos no tienen una historia coevolutiva común con los cítricos. A pesar de dichas necesarias cautelas, hay una serie de evidencias que sugieren la generalidad de nuestras conclusiones. Por una parte, el D-limoneno es el compuesto predominante en la mayoría de los cítricos tanto cultivados (p.e. *Citrus clementina* [Dugo y Di Giacomo 2002], *Citrus limon* [Caccioni et al. 1998]) como silvestres (p.e. *Citrus ichangiensis* [Sawamura et al. 1999], *Citrus macroptera* [Rana y Blazquez 2012]) y parece ser el compuesto clave que media las interacciones entre cítricos y otros organismos (Rodríguez et al. 2013). Por otra parte, los resultados de nuestros experimentos muestran de forma inequívoca que los hongos facilitan el acceso a la pulpa a frugívoros tan distintos como conejos, roedores y diversas aves, por lo que es altamente probable que tenga un efecto similar, al menos, en varios de los frugívoros de áreas donde los cítricos son originales.

Conclusión

Janzen (1977) afirmó que los vertebrados frugívoros prefieren los frutos sanos frente a los infectados por hongos y bacterias dado que los microbios producen compuestos tóxicos y reducen el valor nutritivo de los frutos infectados. Para evaluar dicha hipótesis realizamos una serie de experimentos de campo ofreciendo frutos cítricos infectados y sanos por *P. digitatum*. Nuestros resultados en un sistema agrícola contradicen a Janzen dado que los frugívoros (conejos, roedores, y aves) prefirieron consumir los frutos infectados por *P. digitatum*. Proponemos que la infección por *P. digitatum* puede transformar algunas sustancias de los frutos aumentando su atractivo. No obstante, más estudios experimentales en otros ecosistemas y contexto ecológicos son ciertamente necesarios para poder evaluar la generalidad de nuestros resultados.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a Anna Traveset y a un revisor anónimo por sus comentarios positivos a la primera versión del manuscrito que lo mejoraron claramente.

Referencias

- Achilea, O., Fuchc, Y., Chalutz, E., Rot, I. 1985. The contribution of host and pathogen to ethylene biosynthesis in *Penicillium digitatum*-infected citrus fruit. *Physiological Plant Pathology* 27:55-63.
- Baker, M. 1996. Fur Rubbing: Use of Medicinal Plants by Capuchin Monkeys (*Cebus capucinus*). *American Journal of Primatology* 38:263-270.
- Baskaran, N., Desai, A.A. 2013. Frugivory and seed dispersal by the asian elephant *Elephas maximus* in the tropical forests of Nilgiri Biosphere Reserve, Southern India. *Journal of Threatened Taxa* 5(14):4893-4897.
- Bolker, B.M., Brooks, M.E., Clark, C.J., Geange, S.W., Poulsen, J.R., Stevens, M.H.H., White, J.S.S. 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in ecology and evolution* 24(3):127-135.
- Borowicz, V.A. 1988. Fruit consumption by birds in relation to fat content of pulp. *American Midland Naturalist* 119:121-127.
- Brock, K.M., Donihue, C.M., Pafilis, P. 2014. New records of frugivory and ovophagy in *Podarcis* (Lacertidae) lizards from East Mediterranean Islands. *North-Western Journal of Zoology* 10:223-225.
- Brueggen, J.D. 2002. Cocodrilians: Fact or Fiction. *Proceedings of the 16th Working Meeting of Cocodriles Specialist Group of the Species Survival Commission of the IUCN, Gainesville, FL, US, 7-10 October 2002*. IUCN, Gland, Suiza.
- Buchholz, R., Levey, D.J. 1990. The evolutionary triad of microbes, fruits, and seed dispersers: an experiment in fruit choice by cedar waxwings, *Bombycilla cedrorum*. *Oikos* 59:200-204.
- Caccioni, D.R., Guizzardi, M., Biondi, D.M., Renda, A., Ruberto, G. 1998. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology* 43:73-79.
- Cáceres, N.C. 2002. Food habits and seed dispersal by the White-Eared Opossum *Didelphis albiventris* in Southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. Vol. 37.
- Campos-Arceiz, A., Traeholt, C., Jaffar, R., Santamaria, L., Corlett, R.T. 2012. Asian tapirs are no elephants when it comes to seed dispersal. *Biotropica* 44(2):220-227.
- Cayot, L. 1987. *Ecology of giant tortoises (Geochelone elephantopus) in the Galápagos Islands (PhD thesis)*. The Graduate School of Syracuse University, New York, USA.
- Chambé S.M. 2012. *Manejo de Dasyprocta mexicana*. Monografía. Universidad Veracruzana, Córdoba, México.
- Cipollini M.L., Levey D.J. 1997. Secondary metabolites of fleshy vertebrate-dispersed fruits: adaptive hypotheses and implications for seed dispersal. *The American Naturalist* 150:346 - 372.
- Cipollini, M.L., Stiles, E.W. 1993. Fungi as biotic defense agents of fleshy fruits: Alternative hypotheses, predictions, and evidence. *American Naturalist* 141:663-673.
- Clevenger, A.P. 1996. Frugivory of *Martes martes* and *Genetta genetta* in a Insular Mediterranean Habitat. *Review of Ecology (Terre Vie)* 51:19-28.
- Dalponete, J.C., Tavares-Filho, J.A. 2004. Diet of the Yellow Armadillo, *Euphractus sexcinctus*, in South-Central Brazil. *Edentata* 6:37-41.
- Demittenaere, J.C.R., Belleghem, K.V., Kimpe, N.D. 2001. Biotransformation of (R)-(+)- and (S)-(-)-limonene by fungi and the use of solid phase microextraction for screening. *Phytochemistry* 57:199-208.
- Dominy, N.J., Lucas, P.W. 2004. Significance of color, calories, and climate to the visual ecology of catarrhines. *American Journal of Primatology* 62:189-207.
- Dominy, N.J. 2004. Fruits, fingers, and fermentation: the sensory cues available to foraging primates. *Integrative and Comparative Biology* 44:295-303.
- Douglas, L.R., Winkel, G., Sherry, T.W. 2013. Does the Bananaquit Benefit Commensally from Parrot Frugivory? An Assessment Using Habitat Quality. *Biotropica* 45(4):457-464.
- Drew, R.A.I. 1987. Reduction in fruit fly (Tephritidae: Dacinae) populations in their endemic rainforest habitat by frugivorous vertebrates. *Australian Journal of Zoology* 35:283-288.

- Dudley, R. 2000. Evolutionary origins of human alcoholism in primate frugivory. *Quarterly Review of Biology* 75:3-15.
- Dudley, R. 2004. Ethanol, fruit ripening, and the historical origins of human alcoholism in primate frugivory. *Integrative and Comparative Biology* 44:315-323.
- Dugo, G., Di Giacomo, A. 2002. *Citrus: the genus Citrus. Medicinal and aromatic plants – industrial profiles series*. Taylor and Francis Group, CRC Press. New York, NY, Estados Unidos.
- Esmaili, A., Tavassoli, A. 2010. Microbial transformation of citral by *Penicillium* sp. *Acta Biochimica Polonica* 57(3):265-268.
- FAO 2012. Frutos cítricos: estadísticas anuales 2012. [Consultado 08-10-2014]. <http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/citricos/es/>.
- Fedriani, J.M., Fuller, TK, Sauvajot, R. 2001. Does availability of anthropogenic food enhance densities of omnivorous mammals? An example with coyotes in southern California. *Ecography* 24:325-311.
- Fedriani, J.M., Delibes, M. 2009. Seed dispersal in the Iberian pear *Pyrus bourgaeana*: a role for infrequent mutualists. *Ecoscience* 16: 311-321.
- Fedriani, J.M., Delibes, M. 2013. Pulp feeders alter plant interactions with subsequent animal associates. *Journal of Ecology* 101:1581-1588.
- Fitzgerald, S.D., Sullivan, J.M., Everson, R.J. 1990. Suspected ethanol toxicosis in two wild cedar waxwings. *Avian Diseases* 34:488-490.
- García, D., Zamora, R., Gómez, J. M., Hódar, J. A. 1999. Bird rejection of unhealthy fruits reinforces the mutualism between juniper and its avian dispersers. *Oikos* 85:536-544.
- García-Morales, R., Chapa-Vargas, L., Galindo-González, J., Badano, E.I. 2012. Seed dispersal among three different vegetation communities in the Huasteca region, Mexico, analyzed from bat feces. *Acta Chiropterologica* 14(2):357-367.
- Herrera, C.M. 1982. Defense of ripe fruit from pests: its significance in relation to plant – disperser interactions. *American Naturalist* 120: 219-241.
- Herrera, C.M. 1984a. Avian interference of insect frugivory: an exploration into the plant-bird-fruit pest evolutionary triad. *Oikos* 42:203-210.
- Herrera, C.M. 1984b. A study of avian frugivores, bird-dispersed plants, and their interaction in Mediterranean scrublands. *Ecological Monographs* 54:1-23.
- IVIA 2015. Fichas de varietales comerciales de cítricos. [Consultado 04- 02-2014]. http://www.ivia.es/variedades/clementinos_y_satsumas/CLEMENULES.pdf http://www.ivia.es/variedades/clementinos_y_satsumas/OWARI.pdf
- Janos, D.P., Sahley, C.T. 1995. Rodent dispersal of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in Amazonian Peru. *Ecology* 76(6):1852-1858.
- Janzen, D.H. 1977. Why fruits rot, seeds mold, and meat spoils. *American Naturalist* 111:691–713.
- Johnson, C.N. 1994. Mycophagy and spore dispersal by a rat-kangaroo: consumption of ectomycorrhizal taxa in relation to their abundance. *Functional Ecology* 8:464-468.
- Kaunda, S.K.K., Skinner, J.D. 2003. Black-backed jackal diet at Monkolodi Nature Reserve, Botswana. *African Journal of Ecology* 41:39-46.
- Kitamura, S., Yumoto, T., Poonswad, P., Chuailua, P, Plongmai, K., Maruhashi, T., Noma, N. 2002. Interactions between fleshy fruits and frugivores in a tropical seasonal forest in Thailand. *Oecologia* 133:559-572.
- Krief, S., Hladik, C.M., Haxaire, C. 2005. Ethnomedicinal and bioactive properties of plants ingested by wild chimpanzees in Uganda. *Journal of Ethnopharmacology* 101:1-15.
- Krischik, V., McCloud, E.S., Davidson, J.A. 1989. Selective avoidance by vertebrate frugivores of green holly berries infested with Cecidomyiid fly (Diptera: Cecidomyiidae). *American Midland Naturalist* 121:350-354.
- Leck, C.F. 1972. Seasonal changes in feeding pressures of fruit- and nectar-eating birds in Panamá. *The Condor* 74:54-60.
- Littell, R.C, Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D., Schabenberger, O. 2006. SAS for Mixed Models, 2nd Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Long, J. 2003. Introduced Mammals of the World: Their History, Distribution and Influence. *Csiro Publishing* 612 pp.
- Manzur, M.I., Courtney, S.P. 1994. Influence of insect damage in fruits of hawthorn on bird foraging and seed dispersal. *Oikos* 43:265-270.
- Marcet-Houben, M., Ballester, A.R., de la Fuente, B., Harries, E., Marcos, J.F., González-Candelas, F., Gabaldón, T. 2012. Genome sequence of the necrotrophic fungus *Penicillium digitatum*, the main postharvest pathogen of *Citrus*. *Genomics* 13:646-663.
- Maser, C., Trappe, J.M., Nussbaum, R. 1978. Fungal-small mammal interrelationships with emphasis on Oregon coniferous forests. *Ecology* 59(4):799-809.
- Milton, K. 2004. Ferment in the family tree: does a frugivorous dietary heritage influence contemporary patterns of human ethanol use? *Integrative and Comparative Biology* 44:304-314.
- Milton, K. 2008. Macronutrient patterns of 19 species of panamanian fruits from Barro Colorado Islands. *Neotropical Primates* 15(1):1-7.
- Monroy, V.O., Ortega, A.M., Velázquez, A. 2003. Dieta y abundancia relativa del coyote: un dispersor potencial de semillas. Pp. 565-591 En: Velázquez, A., Torres, A., Bocco, G. (comps.). *Las enseñanzas de San Juan*. SEMARNAT-INE y Gobierno de Michoacán. México, Distrito Federal.
- Montaldo, N.H. 1993. Dispersión por aves y éxito reproductivo de dos especies de *Ligustrum* (Oleaceae) en un relicto de selva subtropical en la Argentina. *Revista Chilena de Historia Natural* 66:75-85.
- Motta-Junior, J.C., Martins, K. 2002. Frugivorous Diet of the Maned Wolf. Seed Dispersal and Frugivory: Ecology, *Evolution and Conservation* 19:291-303.
- Olmos, F. 1997. Tapirs – Status Survey and Conservation Action Plan: Tapirs as Seed Dispersers and Predators. *IUCN/SSC Tapir Specialist Group* 164 pp.
- Otani, T., Shibata, E. 2000. Seed dispersal and predation by Yakushima macaques, *Macaca fuscata yakui*, in a warm temperate forest of Yakushima Island, Japan. *Ecological Research* 15:133-144.
- Palou, L., Smilanick, J.L., Usall, J., Viñas, I. 2002. Hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate for the control of postharvest green molds of clementine mandarins. *Postharvest Biology and Technology* 24:93-96.
- Piper, J.K. 1986. Seasonality of fruit characters and seed removal by birds. *Oikos* 46:303-310.
- Platt, S.G., Elsey, R.M., Liu, H., Rainwater, T.R., Nifong, J.C., Rosenblatt, A.E., Heithaus, M.R., Mazzotti, F.J. 2013. Frugivory and seed dispersal by cocodrilians: an overlooked form of saurochory? *Journal of Zoology* 291:87-99.
- Poveda, K., Sánchez-Palomino, P. 2004. Habitat use by the White-footed tamarin, *Saguinus leucopus*: a comparison between a forest-dwelling group and a urban group in Mariquita, Colombia. *Neotropical Primates* 12:6-9.
- Rana, V.S., Blazquez, M.A. 2012. Compositions of the volatile oils of *Citrus macroptera* and *C. maxima*. *Nat. Prod. Commun* 7(10):1371-1372.
- Redford, K.H., Bouchardet da Fonseca, G.A., Lacher, T.E.Jr. 1984. The relationships between frugivory and insectivory in primates. *Primates* 25:433-440.
- Richards, G.C. 1990. The Spectacled Flying-fox, *Pteropus conspicillatus* (Chiroptera: Pteropodidae), in north Queensland. 2. Diet, seed dispersal and feeding ecology. *Australian Mammalogy* 13:25-31.
- Rodríguez, A., San Andrés, V., Cervera, M., Redondo, A., Alquézar, B., Shimada, T., Gadea, J., Rodrigo, M. J., Zacarías, L., Palou, L. 2011. Terpene down regulation in orange reveals the role of fruit aromas in mediating interactions with insect, herbivores and pathogens. *Plant Physiology* 156:793-802.
- Rodríguez, A., Alquézar, B., Peña, L. 2013. Fruit aromas in mature fleshy fruits as signals of readiness for predation and seed dispersal. *New Phytologist* 197:36–48.
- Rosalino, L.M., Santos-Reis, M. 2009. Fruit consumption by carnivores in Mediterranean Europe. *Mammal Review* 39:67–78.
- Sawamura, M., Sun, S.H., Ozaki, K., Ishikawa, J., Ukeda, H. 1999. Inhibitory effects of *Citrus* essential oils and their components on the formation of N-Nitrosodimethylamine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47:4868-4872.
- Sherratt, T.N., Wilkinson, D.M., Bain, R.S. 2006. Why fruits rot, seeds mold and meat spoils: a reappraisal. *Ecological Modelling* 192:618-626.
- Siegel, R.K. 2005. Intoxication: the universal drive for mind-altering substances. *Inner Traditions / Bear and Co. Los Angeles Times Book Review* 384 pp.
- Silverstein, R.P. 2005. Germination of native and exotic plant seeds dispersed by coyotes (*Canis latrans*) in Southern California. *The Southwestern Naturalist* 50:472-478.
- Soler, J., Soler, G. 2006. *Cítricos. Variedades y técnicas de cultivo*. Fundación Ruralcaja. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.

- Takahata, Y., Hiraiwa-Hasegawa, M., Takasaki, H., Nyundo, R., 1986. Newly acquired feeding habits among the chimpanzees of the Mahale Mountains National Park, Tanzania. *Journal of Human Evolution* 1:227-284.
- Tan, Q., Day, D.F., Cadwallader, K.R. 1998. Bioconversion of (R)-(+)-limonene by *P. digitatum* (NRRL 1202). *Process Biochemistry* 33(1):29-37.
- Tewksbury, J.J. 2002. Fruits, frugivores and the evolutionary arms race. *New Phytologist* 156:137-139.
- Thompson, J.N. 2013. *Relentless evolution*. University of Chicago Press. Chicago, Estados Unidos.
- Traveset, A., Willson, M.F., Gaither, J.C. 1995. Avoidance by birds of insect-infested fruits of *Vaccinium ovalifolium*. *Oikos* 73:381-386.
- Tsuji, Y., Tatewaki, T., Kanda, E. 2011. Endozoochory seed dispersal by sympatric mustelids, *Martes melampus* and *Mustela itatsi*, in western Tokyo, Central Japan. *Mammal Biology* 76:628-633.
- Tuset, J.A. 1987. *Podredumbres de los frutos cítricos*. Generalitat Valenciana. Valencia, España. 206 pp.
- Verea, C., Araujo, M.A., Parra, L., Solórzano, A. 2009. *Estructura de la comunidad de aves de un monocultivo frutícola (naranja) y su valor de conservación para la avifauna: estudio comparativo con un cultivo agroforestal (cacao)*. Fundación La Salle, *Ciencias Naturales* 172:51-68.
- White, T.C.R. 2011. The significance of unripe seeds and animal tissues in the protein nutrition of herbivores. *Biological Reviews* 86:217-224.
- Wood, J, Dickie, I., Moeller, H.V., Peltzer, D., Boot, K., Rattray, G., Wilmshurst, J.M. 2015. Novel interactions between non-native mammals and fungi facilitate establishment of invasive pines. *Journal of Ecology* 103:121-129.
- Zuracatto, R., Carrara, R., Franco, B.K.S. 2010. Dieta da paca (*Cuniculus paca*) usando métodos indiretos numa área de cultura agrícola na Floresta Atlântica brasileira. *Biosistemas* 23:235-239.