

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIVERSIDADE BIOLÓGICA**

O efeito da umidade e de fatores edáficos na dinâmica de infecção e na manipulação comportamental de formigas infectadas por fungos entomopatogênicos em uma floresta de terra firme da Amazônia Central

**MANAUS-AM**

**2016**

# **JOSÉ ARAGÃO CARDOSO NETO**

O efeito da umidade e de fatores edáficos na dinâmica de infecção e na manipulação comportamental de formigas infectadas por fungos entomopatogênicos em uma floresta de terra firme da Amazônia Central

**ORIENTADOR: Dr. Fabricio Beggiato Baccaro - UFAM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Diversidade Biológica, área de concentração Caracterização da Biota Amazônica.

**Apoio Financeiro: Pesquisas Ecológicas de Longa Duração – (CNPq)**  
**Coordenadora: Flávia Capellotto Costa**

**MANAUS-AM**

**2016**

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C268e Cardoso Neto, José Aragão  
O efeito da umidade e de fatores edáficos na dinâmica de infecção e na manipulação comportamental de formigas infectadas por fungos entomopatogênicos em uma floresta de terra firme da Amazônia Central / José Aragão Cardoso Neto. 2016  
46 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Fabricio Beggiato Baccaro  
Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Formiga zumbi. 2. Fungos parasitas . 3. Hypocreales . 4. Ophiocordyceps. I. Baccaro, Fabricio Beggiato II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Esta segue as normas de formatação propostas pela Coordenação Geral do Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica da Universidade Federal do Amazonas, versão de junho de 2016, sendo apresentado na forma de capítulo único, que correspondem aos resultados gerados pelo projeto de dissertação. O Capítulo único segue as normas sugeridas pela coordenação.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu queria agradecer aos meus pais Juracy e Suely, por sempre me darem apoio total nos estudos e em tudo que faço, por sempre me ajudarem nas horas de necessidade, pelas palavras sábias nos momentos de incerteza e tristeza, sei que preciso melhorar muito como filho e homem, mas grande parte do que eu me tronei hoje, foi graças aos seus conselhos e ensinamentos, amo vocês. A minha irmã Camila, apesar de todas as diferenças e discussões, eu te amo. Ao meu irmão Lucas, que me ajudou na reta final das coletas na reserva Ducke, também te amo. A minha querida avó Ana, a qual eu amo de paixão e sempre me incentiva em tudo que faço. Aos meus eternos avós: Elza, Pedro e José Cardoso que hoje estão alegrando o céu, eu sempre irei lembrar dos bons momentos e guardar as boas lembranças que tive ao lado de vocês. A todos os meus tios e tias que indiretamente me ajudaram a concluir mais uma etapa na minha vida. As minhas Tias (primas) Luana, Liliana e Leida, por me acolherem quando vim para Manaus, me dando moradia e apoio nos estudos, sou eternamente grato por tudo. Ao seu Luiz (manteiga) pelo imenso amor e preocupação que sempre teve comigo, amo todos vocês.

Aos meus amigos e irmãos que construí ao longo do tempo, Jeff, Davi, Fabio e Léo vocês vão sempre estar no meu coração. A Talitha, Paula, Marta, Andrea e Marcelle que me aturaram esse tempo todo no laboratório, ou eu aturei, isso eu não sei ao certo. A Ayra que sempre me ajudou em muitos momentos difíceis, apesar dela não saber o quanto foi importante, me dando sempre apoio, força, carinho e incentivo para concluir mais essa etapa da vida, obrigado pelo companheirismo em grande parte desse trabalho. A todos os meus amigos biólogos e afins que sempre me ajudaram quando precisei.

Ao seu Zé e seu Paulo que foram meus companheiros de campo me ensinando um pouco mais sobre a Amazônia, obrigado pela amizade e pelas inúmeras brincadeiras e risadas, isso com certeza tornou meu trabalho mais agradável.

Ao meu querido orientador Fabricio Baccaro que me apresentou ao mundo das formigas zumbis, e sempre teve uma imensa paciência comigo, além de sempre ser muito confiante dizendo “tudo vai dar certo”, apesar de muitas vezes eu duvidar. Obrigado por todos os ensinamentos e pela imensa paciência ao corrigir e me ajudar na elaboração da dissertação. A Laura Leal pela paciência ao corrigir o trabalho e pelas sugestões que ajudaram a melhorar a estrutura da dissertação.

Ao João Araújo que me ensinou um pouco mais sobre fungo e formiga zumbi, obrigado pelos ensinamentos genéticos, onde aprendi que ao seguir protocolos de extração não se deve jogar fora a “água”, pois nela contém o DNA que você passou o dia extraíndo. Ao David Hughes pelo convite para visitar seu laboratório e aprender um pouco mais sobre a parte laboratorial, agradeço pelas ideias discutidas com o intuito de melhorar o trabalho.

A coordenação do curso de pós-graduação na pessoa da Gal, que sempre foi uma pessoa maravilhosa, buscando ajudar e compreender as necessidades de cada pessoa dentro do programa. Aos amigos do programa de pós-graduação em Diversidade Biológica que direta ou indiretamente me ajudaram ao longo desses 2 anos.

Ao INPA e aos responsáveis pela reserva Ducke, Rubenildo, Cássio e Jacson que sempre foram solícitos e compreensivos. Aos amigos que conquistei na reserva Ducke, Arnoldo, Valdo, Naldo, Dona Maria, Juliana, Flávia Santana, Mariazinha, Pedrinho, Ronaldo, Muvido, Lorival e Edilson, obrigado por todo o carinho e pelas inúmeras risadas.

Ao PPBIO, PELD, CNPq e FAPEAM que financiaram o projeto, queria agradecer especialmente a Flávia Costa que sempre ajudou de inúmeras formas a realização do

projeto, a Gisele que me ajudou a organizar todos os documentos e os inúmeros tramites burocráticos. A UFAM e CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, o meu muito obrigado.

## RESUMO

Os fungos do gênero *Ophiocordyceps* parasitam diversas espécies de formigas, manipulando o comportamento (fenótipo estendido) de seus hospedeiros. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da umidade do ar e do HAND (distância vertical da drenagem mais próxima), na ocorrência e expressão do fenótipo estendido das formigas parasitadas pelos complexos mais abundantes de fungos entomopatogênicos, *Ophiocordyceps unilateralis s.l.*, *O. kniphofioides s.l.* e *O. australis s.l.* Foram monitoradas 15 parcelas de 250 m de comprimento por sete vezes ao longo de 14 meses, buscando ativamente os cadáveres de formigas parasitadas mordendo tecido foliar, enterradas em musgos de árvores, abraçadas em gravetos, ou sobre o solo. Foram encontradas 4.277 formigas parasitadas, distribuídas em 26 espécies e 4 morfotipos. O complexo de fungo *O. unilateralis s.l.* foi o mais abundante, com 3.811 formigas parasitadas e a espécie de formiga *Camponotus atriceps* foi a mais abundante, representando 2.599 formigas parasitadas. A ocorrência e o fenótipo estendido das espécies de formigas parasitadas por *O. australis s.l.* e *O. kniphofioides s.l.* não tiveram relação com a umidade do ar e HAND. Já as espécies de formigas *C. atriceps* e *C. bispinosus* parasitadas por *O. unilateralis s.l.* tiveram mais indivíduos parasitados quando a umidade do ar era maior, além dessas formigas morrem em alturas maiores após períodos de maior umidade do ar. Contrariamente, a abundância e a altura de *C. senex* parasitados foi maior quando o HAND era elevado, consequentemente, mais secos. Esses resultados sugerem que a umidade do ar e o HAND podem controlar tanto a ocorrência como a expressão do fenótipo de alguns parasitas. Além disso, a resposta ao mesmo gradiente ambiental depende da espécie de parasita em questão.

Palavras-chave: Formiga zumbi, *Camponotus*, Fungos parasitas, Hypocreales, *Ophiocordyceps*.

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVO .....	4
3. HIPÓTESES .....	4
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	5
4.1. Área de estudo .....	5
4.2. Desenho Amostral .....	6
4.3. Coleta das formigas infectadas.....	8
4.4. Identificação de formigas e fungos.....	11
4.5. Variáveis ambientais .....	11
4.6. Análise dos dados .....	12
5. RESULTADOS.....	13
5.1. Resultados abióticos .....	13
5.2. Ocorrência de fungos e formigas parasitadas.....	14
5.3. Fenótipo estendido em fungo e formigas parasitadas .....	21
6. DISCUSSÃO .....	26
6.1. Ocorrência de formigas parasitadas.....	27
6.2. Relação do fenótipo estendido com a umidade .....	31
7. CONCLUSÃO .....	33
8. REFERÊNCIAS .....	34
9. APÊNDICE A - Ciclo de infecção entre <i>Ophiocordyceps unilateralis s.l.</i> e formigas ..	39
10. FINANCIAMENTO.....	41

## 1. INTRODUÇÃO

As interações antagônicas consumidor-recurso, onde um indivíduo consome ou parasita outros organismos (i.e. predador-presa, herbívoro-planta e parasita-hospedeiro) figuram entre as interações mais comuns na natureza (MOORE, 2002; NEVES, 2005; POULIN, 2010; RICKLEFS, 2010). As interações parasita-hospedeiro podem, ao longo do tempo evolutivo, selecionar diversas adaptações nos parasitas que maximizam o processo de parasitismo (NEVES, 2005; FRANK & SCHMID-HEMPEL, 2008), em muitos casos os hospedeiros desenvolvem adaptações ocasionadas pelo processo de parasitismo (POULIN, 1998; EBERHARD, 2000; THOMAS et al., 2002; BIRON et al., 2006; YANOVIK et al., 2008; MAURE et al., 2011). A manipulação ou modificação comportamental do hospedeiro, causado pela atividade de um parasita, também chamada de fenótipo estendido, é um exemplo dessas adaptações entre parasitas e hospedeiros. O termo fenótipo estendido se aplica porque o genótipo do parasita é expressado através de uma modificação comportamental ou fenotípica do hospedeiro (DAWKINS, 1982). No entanto, a maioria dos estudos sobre parasitismo tem foco nos sintomas que os parasitas causam nos seus hospedeiros e em padrões de coocorrência entre parasitas e hospedeiros em larga escala (COMBES, 2001). Poucos trabalhos buscaram avaliar como condições ambientais podem afetar a ocorrência e a manipulação comportamental da população de parasita que expressa o fenótipo estendido.

Interações que resultam na modificação comportamental do hospedeiro são casos únicos, onde a mesma variável ambiental pode afetar direta ou indiretamente o hospedeiro, o parasita e a expressão do fenótipo estendido. Por exemplo, as formigas infectadas pelo complexo *Ophiocordyceps* (Hypocreales, Ophiocordycipitaceae) morrem em locais fora do formigueiro onde, presume-se, seja um microambiente propício para esporulação e dispersão do fungo (ANDERSEN et al., 2012; LORETO et al., 2014). A

umidade, por sua vez, afeta a ocorrência e composição das assembleias de formigas (KASPARI & WEISER, 2000; OLIVEIRA et al., 2009; BACCARO et al., 2013), e possivelmente pode afetar a expressão do fenótipo estendido de fungos parasitas de formigas (ANDERSEN et al., 2012), onde formigas parasitadas podem morrer em locais diferentes dependendo da variação de umidade.

ANDERSEN et al. (2009) demonstraram, baseados na relocação experimental de formigas, que a altura ideal para o desenvolvimento e esporulação de *O. unilateralis sensu lato* (*s.l.*) que infecta *Camponotus leonardi* na Tailândia é 25 cm. Essa altura provavelmente apresenta os fatores microclimáticos de umidade e temperatura que maximizam as chances do fungo completar seu ciclo de vida (ANDERSEN et al., 2009). SANJUÁN et al. (2001) encontraram que formigas do gênero *Camponotus* infectadas por *O. unilateralis s.l.* na Amazônia colombiana tendem a localizar-se abaixo de 50 cm de altura, presas a folhas e raízes. Dessa forma, a altura em que formigas mortas são encontradas pode ser um indicativo das condições ambientais requeridas para o desenvolvimento e esporulação do fungo parasita. No entanto, o efeito da umidade no desenvolvimento e manipulação comportamental do fungo deve depender não só de atributos dos parasitas, mas também de características dos hospedeiros.

Os fungos do complexo *O. unilateralis s.l.*, induzem as formigas a morder as folhas e só infectam formigas do gênero *Camponotus* (PONTOPPIDAN et al., 2009; EVANS et al., 2011; ARAÚJO et al., 2015). Outros complexos de fungos, como *O. australis s.l.*, *O. kniphofioides s.l.* e *O. lloydii s.l.*, todos representantes do clado Hypocreales: Ophiocordycipitaceae, infectam diversos gêneros de formigas (e.g. *Pachycondyla*, *Neoponera*, *Dolichoderus*, *Paraponera*, *Cephalotes*, *Daceton*, *Odontomachus* e *Crematogaster*) promovendo diferentes alterações comportamentais (EVANS & SAMSON, 1982; HUGHES et al., 2011; EVANS et al., 2011). Dependendo

da espécie de fungo, formigas infectadas podem morrer enterradas no folhiço ou no solo, presas em pequenos gravetos ou agarradas à casca de árvores, aumentando as chances dos esporos do fungo parasitar novas formigas (EVANS & SAMSON, 1982; HUGHES et al., 2011; EVANS et al., 2011). A maioria das informações sobre a biologia e distribuição dos parasitas estão disponíveis apenas para poucas espécies de *Camponotus* infectadas pelo complexo *O. unilateralis s.l.* (Apêndice A). No entanto, como as demais espécies de formigas infectadas (principalmente as formigas infectadas pelos complexos menos estudados *O. australis s.l.* e *O. kniphofioides s.l.*) estão distribuídas nesse gradiente microclimático ainda permanece desconhecido. Por exemplo, é possível que a expressão do fenótipo estendido (altura em relação ao solo que as formigas morrem) seja afetada pelas características ambientais locais. Nesse caso, em áreas mais secas mais formigas parasitadas seriam encontradas em alturas mais baixas em relação ao nível do solo, onde a umidade é maior. Já locais mais úmidos, seriam menos seletivos e formigas parasitadas poderiam ser encontradas em alturas maiores em relação ao nível do solo.

Na Amazônia central a topografia favorece a manutenção de alta heterogeneidade microclimática, onde locais menos elevados (baixios) apresentam umidade mais estável ao longo do ano comparado com áreas mais elevadas (platôs) (OLIVEIRA et al., 2008). Como os baixios tendem a permanecer mais úmidos devido aos padrões de drenagem e à proximidade dos corpos d'água, a atividade micelial e a produção de basidiomas é maior nessas áreas quando comparadas com os platôs (BRAGA-NETO, 2006, 2008; BRAGA-NETO et al., 2008). De fato, mais *Camponotus atriceps* infectadas pelo fungo *Ophiocordyceps* foram encontradas durante a estação chuvosa na Amazônia Central, sugerindo que a falta de umidade pode restringir o desenvolvimento do parasita (SANJUÁN et al., 2001; SÁNCHEZ et al., 2002; ARAÚJO, 2012).

Este projeto teve como objetivo monitorar formigas infectadas pelos complexos mais abundantes de fungos entomopatogênicos (*O. unilateralis s.l.*, *O. kniphofioides s.l.* e *O. australis s.l.*) em escala local (250 m) e em mesoescala (15 km<sup>2</sup>) em uma floresta da Amazônia Central. Mais especificamente, investigar os efeitos da variação da umidade climática e da topografia (i) na distribuição das espécies de formigas infectadas em mesoescala, e na (ii) altura dos cadáveres das formigas em relação ao nível do solo.

## **2. OBJETIVO**

Avaliar o efeito da umidade climática e da topografia na ocorrência e expressão do fenótipo estendido de fungos do gênero *Ophiocordyceps* que parasitam espécies de formigas.

## **3. HIPÓTESES**

H1. Períodos onde há maior umidade e locais com menor elevação favorecerão a ocorrência de cadáveres de formigas infectadas por fungos do gênero *Ophiocordyceps*.

H2. Formigas infectadas serão encontradas em alturas maiores em períodos com maior umidade e locais com menor elevação.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Área de estudo

O estudo foi realizado na Reserva Florestal Adolpho Ducke, situada na rodovia AM-010, km 26 - Manaus, Amazonas, Brasil (3° 05' S, 60° 00' W) (Figura 1). A reserva foi criada em 1963 e pertence ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, com área total de aproximadamente 100 km<sup>2</sup>.

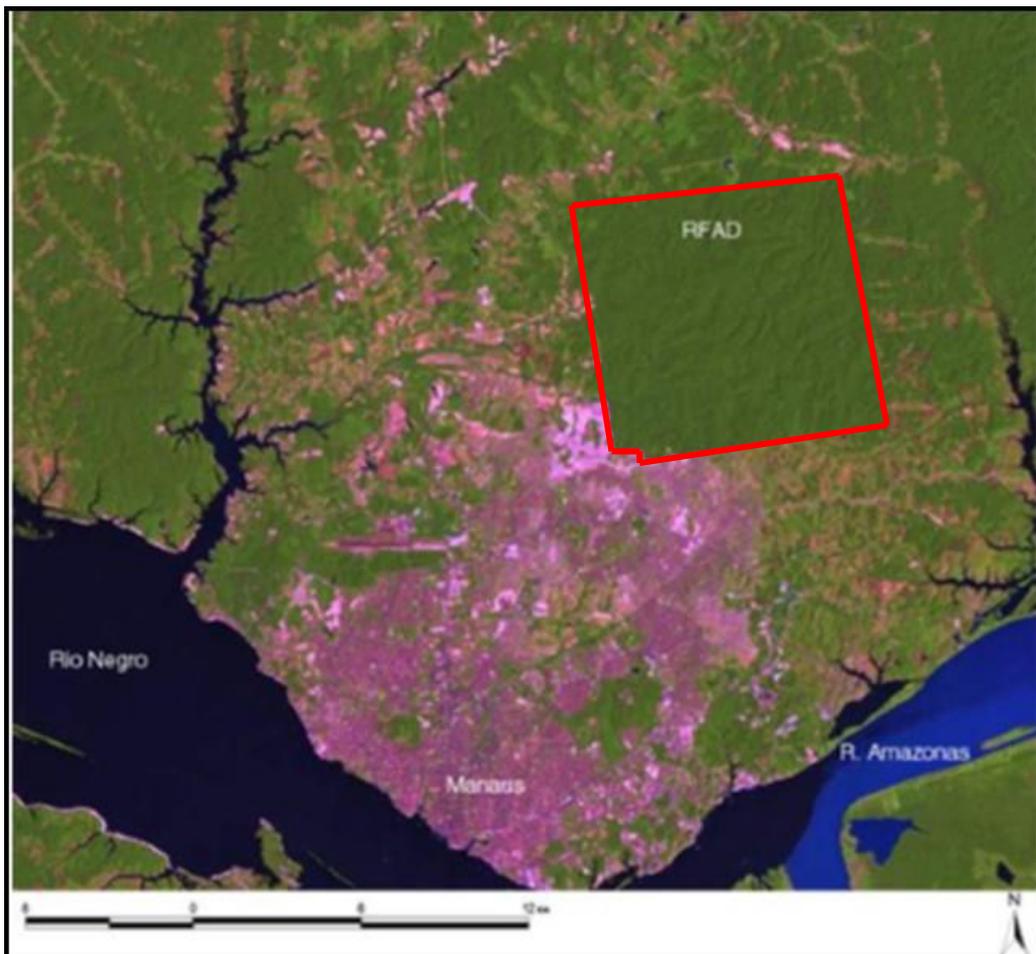


Figura 1 – Localização da Reserva Adolpho Ducke (RFAD) em Manaus – AM, a linha vermelha representa os limites da reserva. Fonte: <http://peld.inpa.gov.br>.

O relevo na reserva é ondulado, com variação altitudinal de aproximadamente 80 m entre platôs e baixios (RIBEIRO et al., 1999; HOPKINS, 2005). Os ambientes na reserva Ducke podem ser classificados grosseiramente em quatro tipos: florestas de

platôs, de vertente, de baixio e alguns locais ocorrem as florestas de campinarana (RIBEIRO et al., 1999; HOPKINS, 2005). As florestas de platô estão situadas nas áreas mais altas e planas, onde normalmente o solo é argiloso, bem drenado e considerado pobre em nutrientes. Nessas áreas o dossel tem entre 30-40 m de altura, mas algumas árvores emergentes podem chegar entre 50-60 m de altura. O sub-bosque é caracterizado pela presença de palmeiras acaule (RIBEIRO et al., 1999; HOPKINS, 2005). As florestas de vertentes ocorrem nas inclinações entre platôs e baixios, e apresentam um gradiente granulométrico, com solos arenosos na porção mais baixa e solo argiloso na parte mais alta. As florestas de campinarana ocorrem nas planícies próximas aos igarapés sobre solos arenosos e pobres em nutrientes. O sub-bosque dessas florestas é mais denso, o dossel mais baixo, entre 20-25 m de altura, e a densidade de árvores é maior (RIBEIRO et al., 1999; HOPKINS, 2005). As florestas de baixio estão situadas nas áreas mais baixas e próximas aos igarapés. Nesses locais o solo é mais arenoso, úmido e encharcado principalmente na época mais chuvosa. O sub-bosque dessas florestas é caracterizado por palmeiras acaule e ervas de ambientes encharcados (RIBEIRO et al., 1999; HOPKINS, 2005). A média de precipitação anual na reserva Adolpho Ducke é de aproximadamente 2.400 mm, sendo que a maior parte da precipitação anual concentra entre março e abril (estação chuvosa) e os meses com menor precipitação são de agosto a setembro (estação menos chuvosa) (MARQUES-FILHO et al., 1981).

#### **4.2. Desenho Amostral**

A Reserva Ducke conta com um sistema de trilhas perpendiculares e parcelas permanentes regularmente distribuídas a cada 1 km, mantidas pelo Programa de Pesquisas em Biodiversidade (PPBio) e pelo Projeto Ecológico de Longa-Duração, PELD-sítio 1 (COSTA & MAGNUSSON, 2010). As parcelas permanentes do PPBio possuem 250 m de comprimento por 1 metro de largura e seguem a curva de nível do terreno. Nesse estudo

foram amostradas 15 parcelas permanentes distribuídos em 3 trilhas perpendiculares: Leste Oeste 3 (LO 3), LO 4 e LO 5. As parcelas selecionadas situam-se a 500 m, 1.500 m, 2.500 m, 3.500 m e 4.500 m em cada uma das trilhas (Figura 2). As 15 parcelas foram amostradas a cada dois meses no período entre novembro de 2014 a dezembro de 2015, totalizando 7 eventos de coletas.

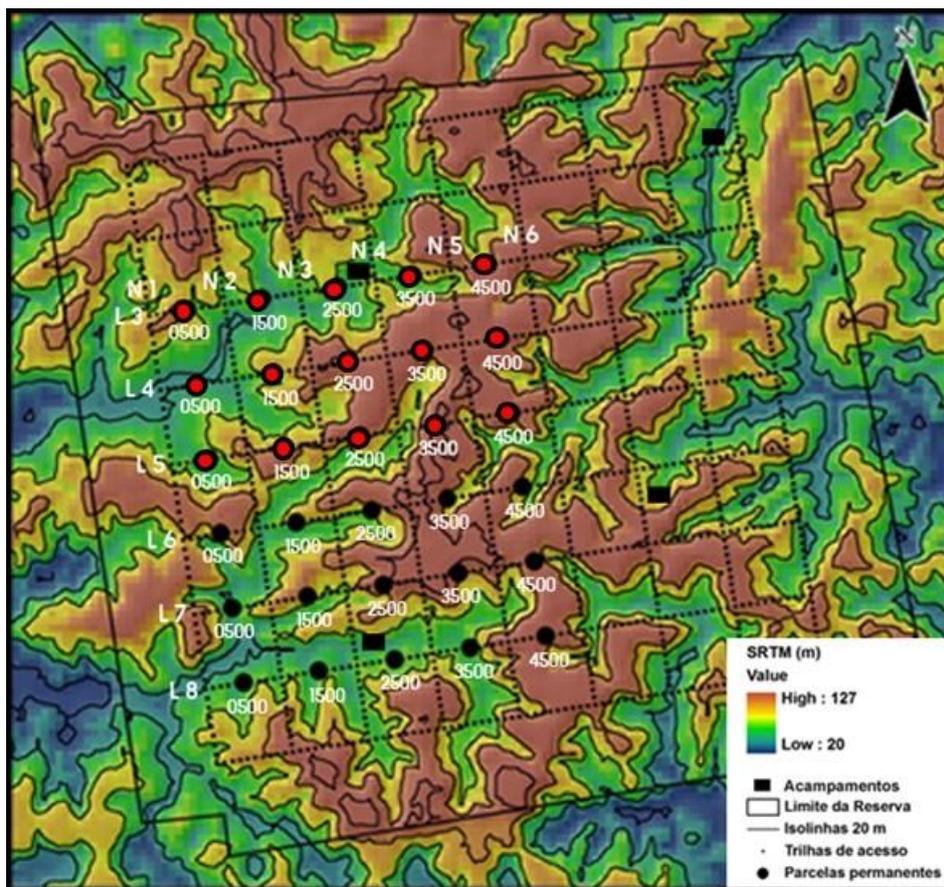


Figura 2 - Sistema de trilhas (linhas pontilhadas) na Reserva Ducke. Parcelas permanentes estão representadas por círculos pretos e as parcelas que foram amostradas neste estudo por círculos vermelhos. Fonte: <http://peld.inpa.gov.br>.

### **4.3. Coleta das formigas infectadas**

Como algumas espécies formigas ficam presas nas folhas através da mandíbula e o fungo rapidamente desenvolve hifas para manter seus hospedeiros fortemente presos ao substrato após a morte (ANDERSEN et al., 2009; HUGHES et al., 2011), os cadáveres das formigas podem ser usados para estimar o histórico e a taxa de infecção, facilitando o estudo e monitoramento desses parasitas em populações naturais. Desse modo, a coleta baseou-se na busca ativa de cadáveres de formigas infectadas mordendo tecido foliar, enterradas no musgo/casca de árvores, abraçadas em gravetos, ou simplesmente sobre o solo/folhiço (Figura 3). Para a procura de formigas infectadas foi percorrido parcelas de 250 m seguindo pela linha central observando atentamente 1 metro de largura por 2 metros de altura para os dois lados (Figura 4). Para padronizar as coletas, foi utilizado uma fita métrica e todas as plantas e folhiço que estavam dentro dessa área foram observadas cuidadosamente. Em cada parcela, todas as formigas infectadas encontradas foram numeradas, marcadas com fitas coloridas e mapeadas medindo a distância a partir do ponto inicial da parcela e a altura em relação ao nível do solo. Esse método de coleta é eficiente, resultando em mais de 28 espécies de formigas parasitadas (ARAÚJO, 2012; BACCARO et al., 2014).

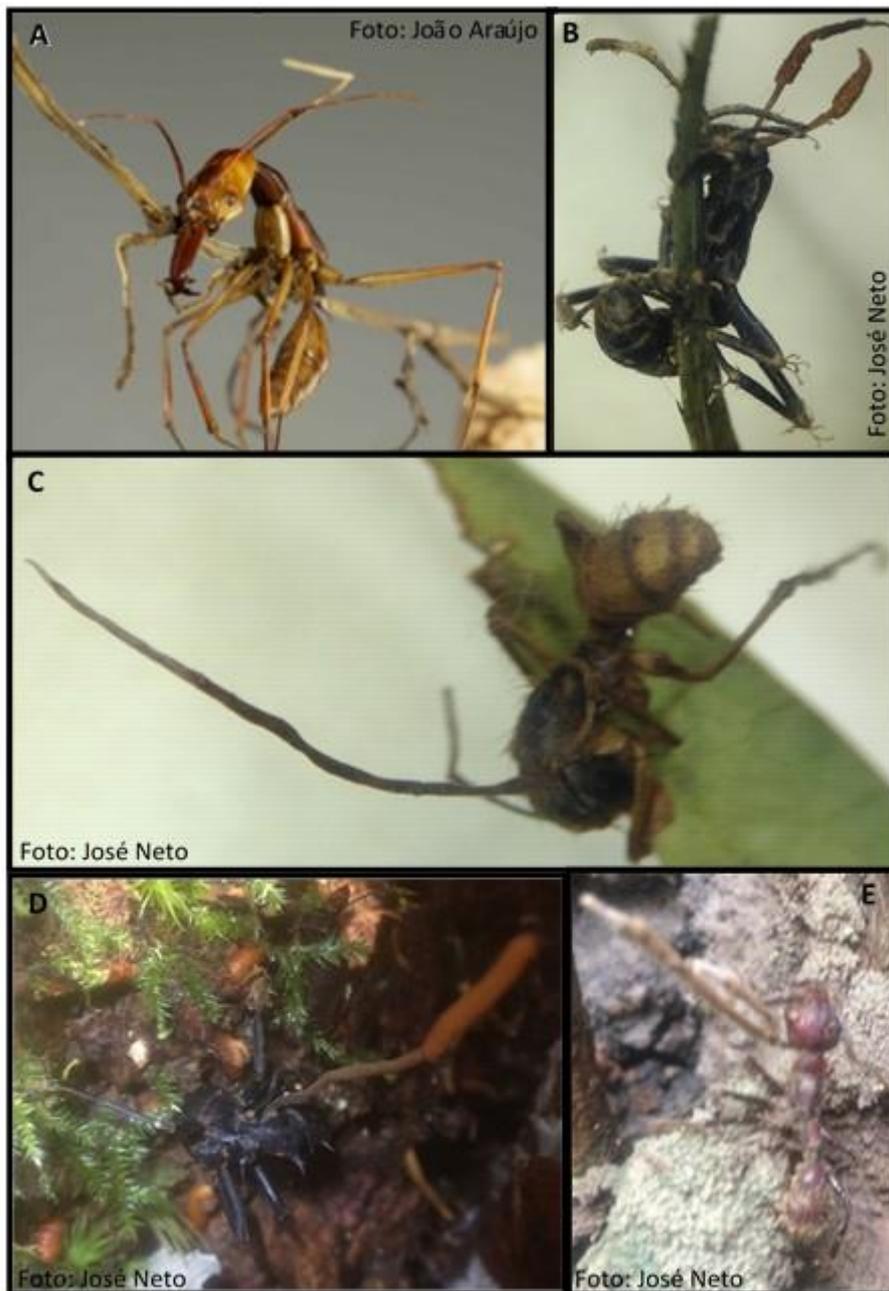


Figura 3 - Exemplos das manipulações comportamentais mais comuns causados pelo fungo parasita do gênero *Ophiocordyceps*. (A) *Odontomachus hastatus* infectada, encontrada morta enterrada no folhíço, (B) *Neoponera villosa* infectada encontrada “abraçada” em pequeno graveto, (C) *Camponotus atriceps* mordendo tecido vegetal, (D) *Cephalotes atratus* normalmente encontrada agarrada/mordendo à casca de árvores e (E) *Paraponera clavata* infectada, encontrada morta sobre o solo.



Figura 4. Esquema representativo do início da parcela, indicando a largura e altura onde foram realizadas as amostragens por meio de busca ativa por cadáveres de formigas infectadas.

Na primeira amostragem, algumas formigas parasitadas foram coletadas e identificadas para criar uma coleção de referência. Foi coletado formigas com fungos velhos para minimizar o efeito da manipulação na dinâmica de infecção. Ao longo de todo o monitoramento, foi coletado somente as espécies de formigas que não estavam presentes na coleção de referência. Na última excursão foi realizada uma coletada detalhada com o intuito de aumentar a coleção de referência. Todo o material coletado foi devidamente etiquetado e transportado para o laboratório presente na Reserva Ducke onde as formigas foram montadas a seco e posteriormente identificados. Após o término do trabalho, o material examinado foi depositado na Coleção Zoológica Prof. Paulo Bührnheim - CZPB, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM.

#### **4.4. Identificação de formigas e fungos**

As formigas foram identificadas em nível genérico com chaves disponível na literatura (BACCARO et al., 2015) e posteriormente identificadas em nível específico com auxílio de especialistas no grupo. Os fungos foram identificados pela morfologia externa de acordo com a literatura específica e com auxílio de um especialista, sendo possível diferenciar morfologicamente *Ophiocordyceps australis s.l.*, *O. kniphofioides s.l.* e *O. unilateralis s.l.* (EVANS, 1982; EVANS & SAMSON, 1984; HUGHES et al., 2011; ARAÚJO et al., 2015). É possível diferenciar os complexos de fungos através da morfologia externa, porém para confirmação a nível de espécie dos fungos é necessário trabalhos morfológicos e genéticos mais detalhados.

#### **4.5. Variáveis ambientais**

A umidade relativa do ar foi estimada diariamente pela estação meteorológica localizada na base da Reserva Ducke e os dados foram disponibilizados pela Coordenação de Pesquisas em Clima e Recursos Hídricos/CPCR localizada no Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA). Os valores de umidade do ar foram estimados para toda a reserva, não foram obtidos dados pluviométricos para cada parcela.

Foi utilizado as medidas de distância vertical da drenagem mais próxima (HAND) de cada parcela como estimativa para disponibilidade de umidade relacionada com a topografia. Os valores de HAND para cada parcela foram mensurados através de imagens de modelos digitais de elevação (Digital Elevation Models-DEM) do Shuttle Radar Topography Mission (SRTM), segundo o algoritmo criado por RENNO et al. (2008). O algoritmo HAND normaliza a altitude conforme as distâncias verticais dos pontos em relação à rede de drenagem mais próxima resultando em estimativas com alta correlação com a profundidade do lençol freático e, conseqüentemente, com a umidade disponível

resultante da topografia do terreno. Os dados sobre HAND de cada parcela estão disponíveis no sítio do PPBio na internet (<http://ppbio.inpa.gov.br/knb/metacat>).

#### **4.6. Análise dos dados**

Foi utilizado modelos mistos generalizados para testar as duas hipóteses levantadas neste trabalho (ZUUR et al., 2009). Para responder a primeira hipótese (H1: Períodos onde há maior umidade e locais com menor elevação favorecerão a ocorrência de cadáveres de formigas infectadas por fungos do gênero *Ophiocordyceps*) foi usando modelos mistos generalizados utilizando o número de indivíduos das quatro espécies de formigas mais abundantes (*Camponotus atriceps*, *C. bispinosus*, *C. senex*) infectadas por fungos do complexo *Ophiocordyceps unilateralis s.l.* e *Cephalotes atratus* infectada por fungos do complexo *O. kiniphofioides s.l.*, como variáveis dependentes e a média da umidade relativa do período de 60 dias que antecedeu cada coleta e o HAND de cada parcela como variáveis independentes fixas. Nesta análise, somente novos registros, ou seja, novas formigas infectadas foram consideradas. Para controlar a autocorrelação espacial e temporal, a parcela foi incluída como variável aleatória no modelo. Esta análise permite que a dependência das informações que foram coletadas em uma concepção espacial e temporal aninhada (indivíduos dentro de parcelas ao longo do tempo) seja considerada (ZUUR et al., 2009). A segunda hipótese (H2: Formigas infectadas serão encontradas em alturas maiores em períodos com maior umidade e locais com menor elevação) seguiu o mesmo arcabouço analítico, onde a altura média de todas as novas formigas encontradas infectadas foi utilizada como variável dependente, a média da umidade relativa do período de 60 dias que antecedeu as coletas e o HAND de cada parcela como variáveis independentes fixas e as parcelas como variáveis aleatórias. Foi utilizado gráficos de parciais para representar as relações encontradas em cada modelo.

Todas as análises foram realizadas no ambiente R (R TEAM CORE, 2015), com os pacotes, vegan (OKSANEN et al., 2016), lme4 (BATES et al., 2014) e visreg (BREHENY & BURCHETT, 2016).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Resultados abióticos

A umidade do ar foi monitorada a partir de setembro de 2014 a janeiro de 2016. Dentro dessa janela temporal, foi observado que em os meses março e abril de 2015 foram os mais úmidos, com 90 e 91 % de umidade do ar respectivamente, já agosto e setembro de 2015 em média, foram os meses menos úmidos, com 63 e 73% de umidade do ar respectivamente (Figura 5).

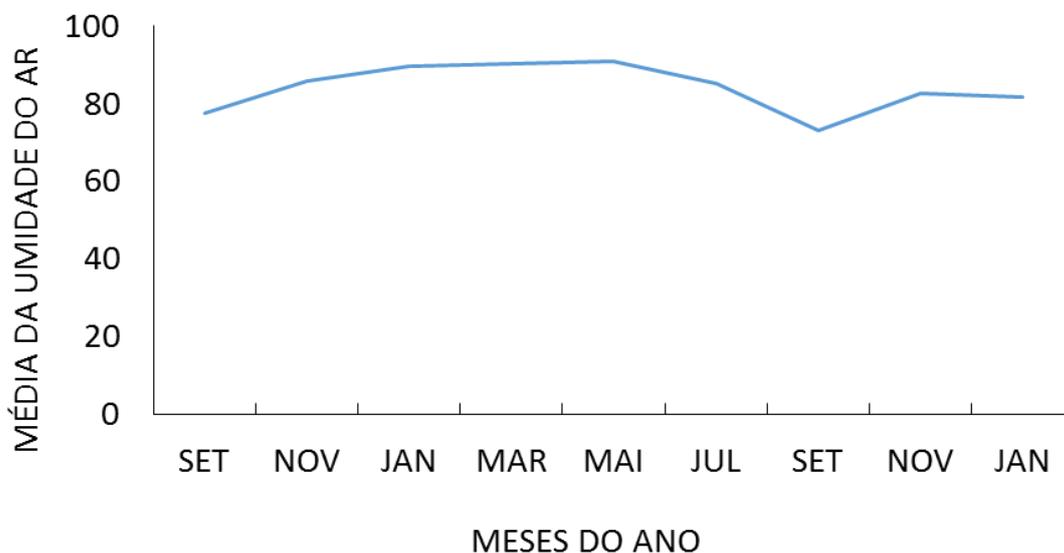


Figura 5: Valores médios da umidade do ar em porcentagem, referente aos meses entre setembro de 2014 e janeiro de 2016.

A média do HAND de todas as 15 parcelas estudadas foi de 78 metros, sugerindo que em média o lençol freático está a ~78 m da superfície do solo. A parcela com o menor

valor de HAND foi LO4-500, com 47 metros. Já a parcela com maior valor de HAND foi LO4-3500, com 105 metros.

## **5.2. Ocorrência de fungos e formigas parasitadas**

Foram encontradas e identificadas 4.277 formigas parasitadas, divididas em 26 espécies e 4 morfotipos. As quatro espécies de formigas parasitadas mais abundantes foram: *Camponotus atriceps* com 2.599 indivíduos (60,7 %) encontradas em todas as 15 parcelas, *Camponotus bispinosus* (766 indivíduos; 17,9 %) encontradas nas 15 parcelas, *Cephalotes atratus* (398 indivíduos; 9,3 %) presentes em 14 parcelas e *Camponotus senex* (158 indivíduos; 3,6 %) presentes em apenas 13 parcelas. Já as espécies menos abundantes com apenas 1 (uma) formiga infectada (0,02 %) encontrada foram: *Neoponera cavinodis*, *Dolichoderus bispinosus*, *Cephalotes pusillus*, *Camponotus* sp1, *Camponotus* sp2 e *Camponotus* sp3 (Tabela 1).

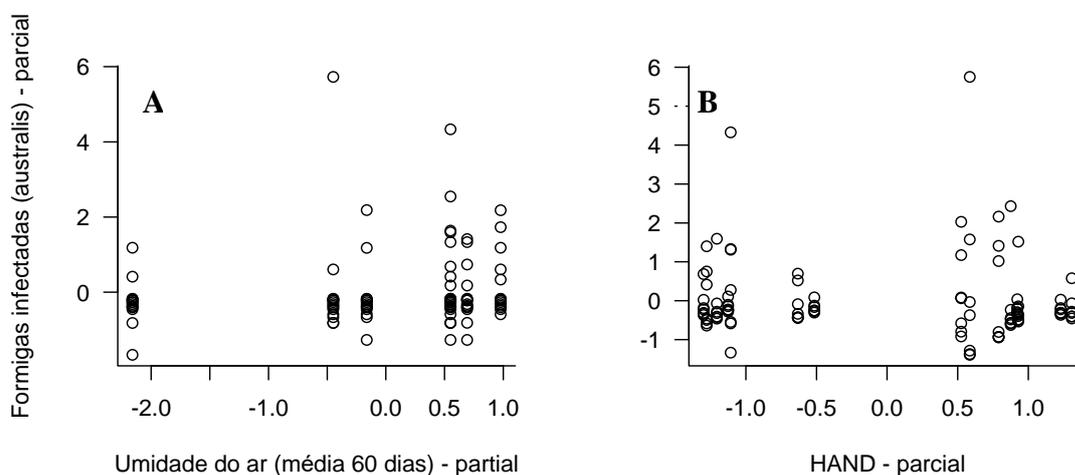
Tabela 1: Espécies de formigas parasitadas e seus respectivos fungos entomopatogênicos em uma área de Floresta Amazônica no Brasil. Para cada espécie de formiga, fornecemos o número de parcelas onde a formiga foi encontrada (n total = 15) e número total de indivíduos coletados.

<b>Grupos de fungos</b>	<b>Espécies de formigas</b>	<b>Número de parcelas encontrado</b>	<b>Total de formigas</b>
<b><i>Ophiocordyceps unilateralis</i> (3.811 indivíduos)</b>	<i>Camponotus ager</i>	3	8
	<i>Camponotus atriceps</i>	15	2599
	<i>Camponotus balzani</i>	3	5
	<i>Camponotus bispinosus</i>	15	766
	<i>Camponotus cacticus</i>	2	2
	<i>Camponotus chartifex</i>	10	54
	<i>Camponotus fastigatus</i>	2	2
	<i>Camponotus femoratus</i>	5	39
	<i>Camponotus hippocrepis</i>	7	95
	<i>Camponotus latangulus</i>	3	7
	<i>Camponotus nidulans</i>	5	65
	<i>Camponotus senex</i>	13	158
	<i>Camponotus sexgutattus</i>	4	8
	<i>Camponotus</i> sp. 1	1	1
<i>Camponotus</i> sp. 2	1	1	
<i>Camponotus</i> sp. 3	1	1	
<b><i>Ophiocordyceps kniphofioides</i> (418 indivíduos)</b>	<i>Cephalotes atratus</i>	14	398
	<i>Cephalotes pusillus</i>	1	1
	<i>Daceton armigerum</i>	1	3
	<i>Dolichoderus bispinosus</i>	1	1
	<i>Dolichoderus diversus</i>	2	6
	<i>Paraponera clavata</i>	4	9
<b><i>Ophiocordyceps australis</i> (48 indivíduos)</b>	<i>Neoponera cavinodis</i>	1	1
	<i>Neoponera crenata</i>	3	4
	<i>Neoponera foetida</i>	2	4
	<i>Neoponera unidentata</i>	2	2
	<i>Neoponera villosa</i>	5	20
	<i>Odontomachus hastatus</i>	4	4
	<i>Pachycondyla impressa</i>	4	11
	<i>Pachycondyla</i> sp.	2	2

O fungo mais abundante encontrado parasitando formigas foi *Ophiocordyceps unilateralis* s.l., totalizando 3.811 indivíduos (89%) e a espécie de formiga parasitada mais abundante parasitada por esse fungo foi *Camponotus atriceps* (Tabela 1), com 2.599

indivíduos, representando 68% de todas as *Camponotus* parasitadas. O fungo *Ophiocordyceps kniphofioides s.l.* parasitou 418 indivíduos (9,7%) e a espécie de formiga parasitada mais abundante parasitada por esse grupo foi *Cephalotes atratus* com 398 indivíduos, representando 95% de todas as formigas parasitadas por este fungos. *Ophiocordyceps australis s.l.* foi o fungo parasitas menos frequente com 48 indivíduos parasitado (1,1%) e a espécie de formiga mais parasitada por esse fungo foi *Neoponera villosa* com 20 indivíduos, representando 42% de formigas parasitadas.

As abundâncias de formigas parasitadas por fungos *Ophiocordyceps australis s.l.* (Figura 6A e 6B) e *Ophiocordyceps kniphofioides s.l.* (Figura 6C e 6D) não estiveram correlacionadas com a umidade média do ar dos 60 dias antes das amostragens e com o HAND ( $R^2 = 0,20$ ;  $p = 0,511$ ; e  $R^2 = 0,19$ ;  $p = 0,197$ , respectivamente). No entanto, no complexo *O. unilateralis s.l.* foi encontrado em média 25 indivíduos de formigas parasitadas quando a umidade era menor, quando a umidade aumentava foi encontrado em média 35 indivíduos de formigas parasitadas, demonstrando que mais formigas parasitadas pelo complexo *O. unilateralis s.l.* foram encontradas nos períodos com maior umidade ( $p = 0,002$ , Figura 6E). Para esse complexo o HAND não influenciou o número de formigas parasitadas ( $p = 0,75$ , Figura 6F), e o modelo misto com as duas variáveis predictoras explicou ~48% da variação total dos dados ( $p < 0,001$ ).



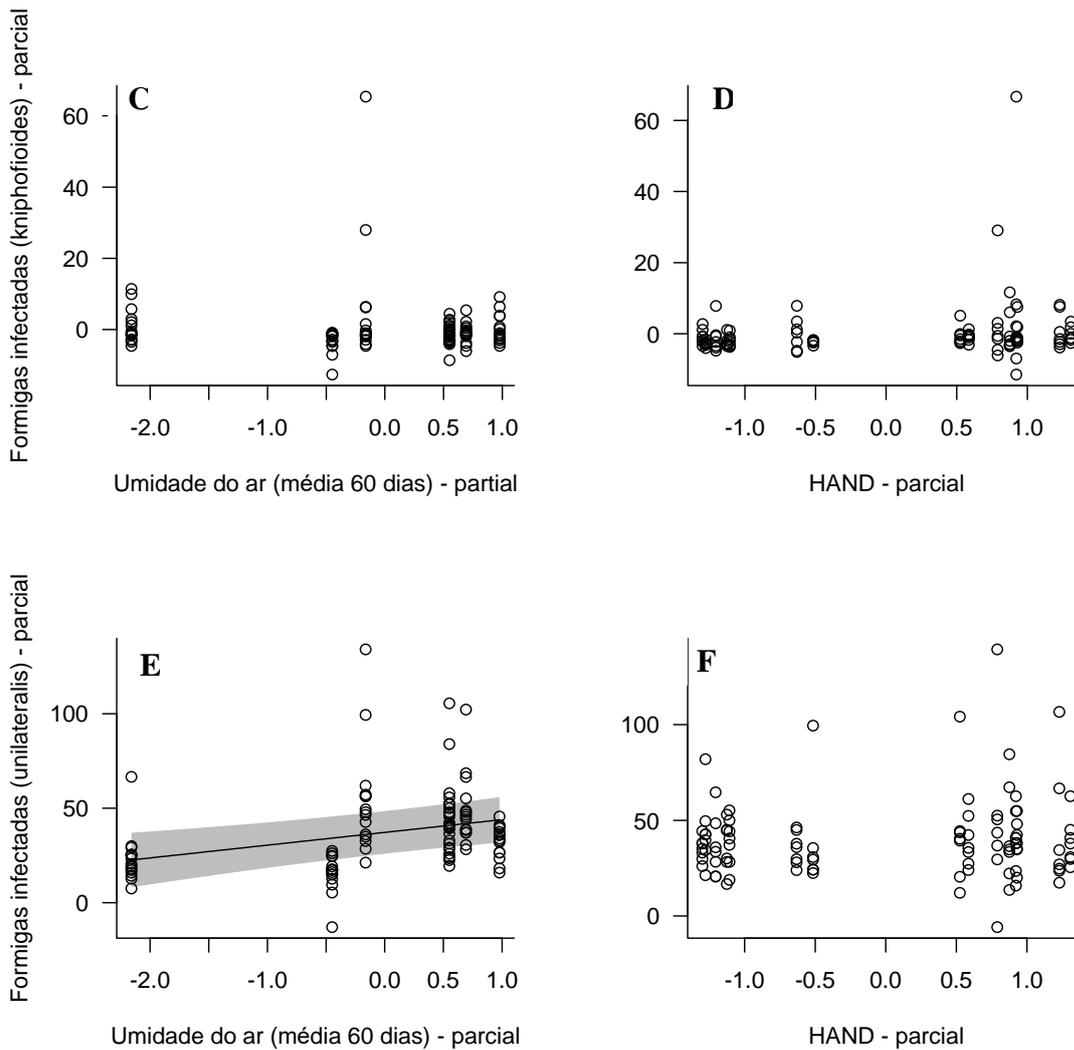


Figura 6: Número de formigas parasitadas por *Ophiocordyceps australis* s.l., *Ophiocordyceps kniphofioides* s.l. e *Ophiocordyceps unilateralis* s.l. em relação a umidade do ar, média dos 60 dias anteriores as coletas e o HAND. Os círculos referem-se ao total de formigas parasitadas encontradas em cada parcela por evento de coleta. A zona em cinza no gráfico (E) representa o intervalo de confiança de 95%.

O padrão entre umidade do ar, HAND e abundância de formigas parasitadas variou quando as espécies de formigas foram analisadas isoladamente. Seguindo o padrão dos fungos parasitas, foi encontrado em média 20 indivíduos de *Camponotus atriceps* quando a umidade do ar foi menor, quando a umidade do ar foi maior a média de *C. atriceps* encontrados aumentou para 25 indivíduos, demonstrando que mais *C. atriceps*

parasitadas foram encontrados no período onde a umidade do ar foi maior ( $R^2 = 0,63$ ;  $p < 0,001$ ) (Figura 7A). *Camponotus bispinosus* também seguiu esse padrão, encontramos em média 1 indivíduos de *C. bispinosus* parasitado quando a umidade do ar foi menor e em média 10 indivíduos de *C. bispinosus* parasitados quando a umidade do ar foi maior ( $R^2 = 0,43$ ;  $p < 0,001$ ) (Figura 8A). Para essas duas espécies (*C. atriceps* e *C. bispinosus*) o HAND não foi importante (Figura 7B e 8B). No entanto, *Camponotus senex* que também são parasitadas por *O. unilateralis s.l.*, foi encontrado em média 1 indivíduo de *C. senex* parasitado quando a altura do HAND foi menor, e em média 3 indivíduos parasitados quando a altura do HAND foi maior, apesar da variação média ser baixa (em média 1 à 3 indivíduos parasitados), foi encontrado uma relação significativa para essa espécie ( $R^2 = 0,28$ ;  $p = 0,012$ ) (Figura 9 B), isso demonstra que a abundância de *C. senex* esteve correlacionada com as áreas onde o HAND era maior e para essa espécie a abundância de formigas parasitadas não apresentou relação com a umidade do ar (Figura 9A). A abundância de *Cephalotes atratus* parasitados por *O. kniphofioides s.l.* não apresentou relação com a umidade do ar e com o HAND, nesse caso, a média de *C. atratus* parasitadas não variou ao longo do tempo e espaço ( $R^2 = 0,01$ ;  $p = 0,191$ ; Figura 10 A e B). Devido à baixa abundância de indivíduos parasitados por *O. australis s.l.*, nenhuma espécie de formiga parasitada foi analisada para esse complexo de fungo.

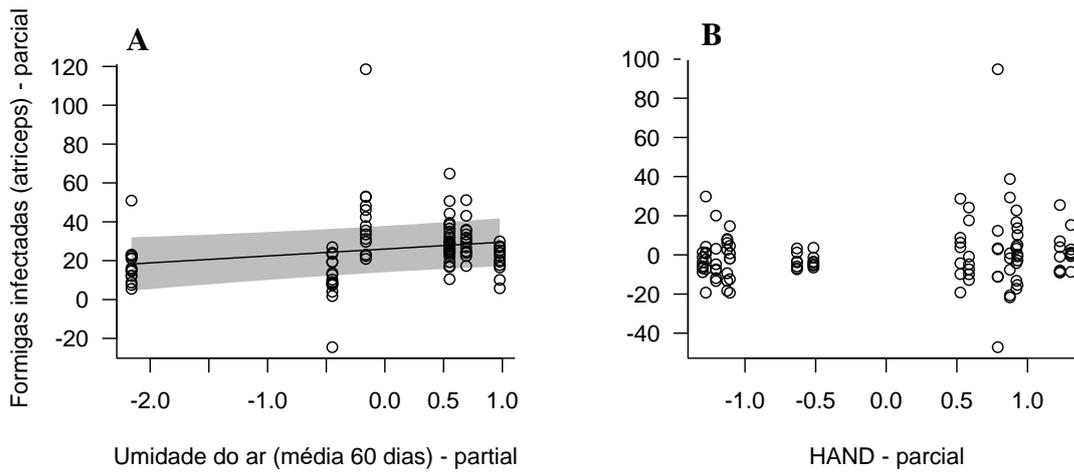


Figura 7: Gráficos de parciais representando o número de formigas parasitadas da espécie *Camponotus atriceps* em relação a umidade do ar média dos 60 dias anteriores as coletas e umidade relacionada com a topografia (HAND). Os círculos referem-se ao total de formigas parasitadas encontradas por parcela em cada evento de coleta. A faixa em cinza representa o intervalo de confiança de 95%.

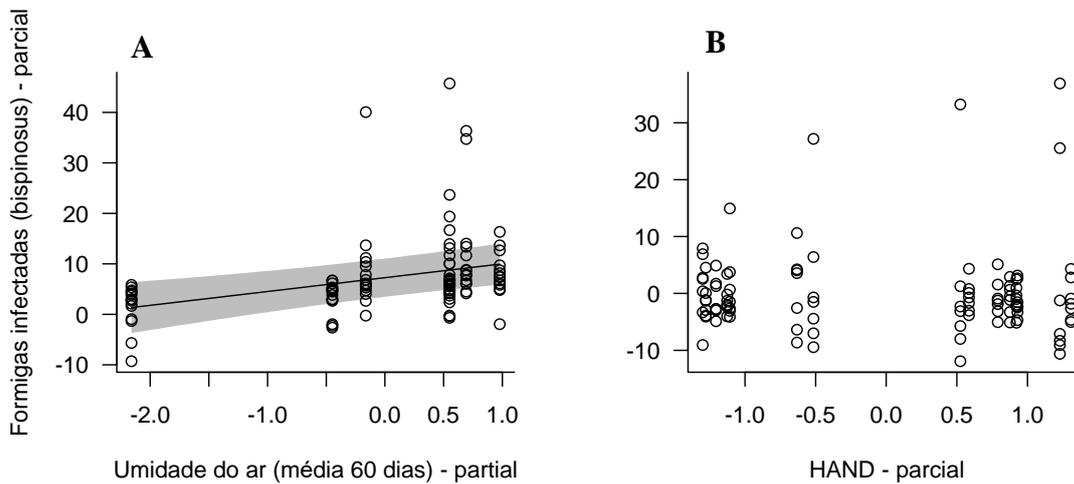


Figura 8: Gráficos de parciais representando o número de formigas parasitadas da espécie *Camponotus bispinosus* em relação a umidade do ar média dos 60 dias anteriores as coletas e umidade relacionada com a topografia (HAND). Os círculos referem-se ao total de formigas

parasitadas encontradas por parcela em cada evento de coleta. A faixa em cinza representa o intervalo de confiança de 95%.

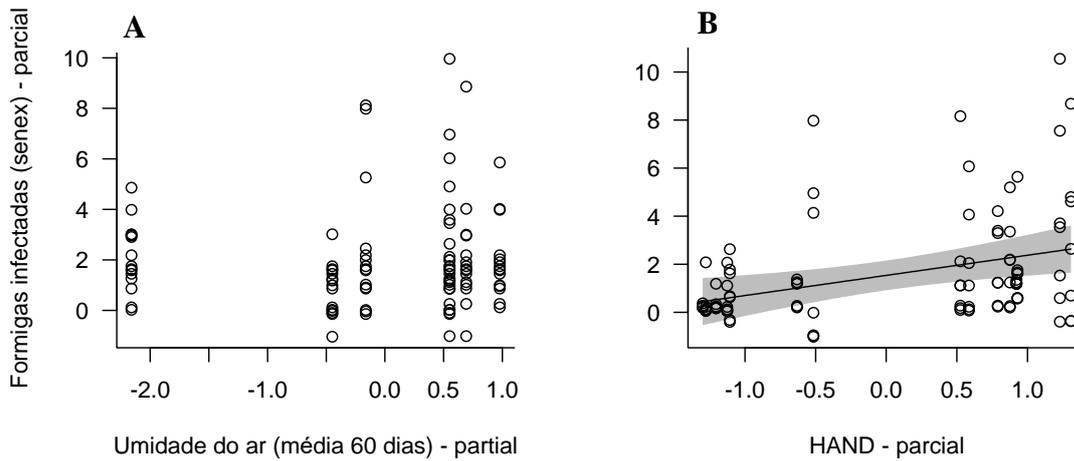


Figura 9: Gráficos de parciais representando o número de formigas parasitadas da espécie *Camponotus senex* em relação a umidade do ar média dos 60 dias anteriores as coletas e umidade relacionada com a topografia (HAND). Os círculos referem-se ao total das formigas parasitadas encontradas em cada parcela por evento de coleta. A faixa em cinza representa o intervalo de confiança de 95%.

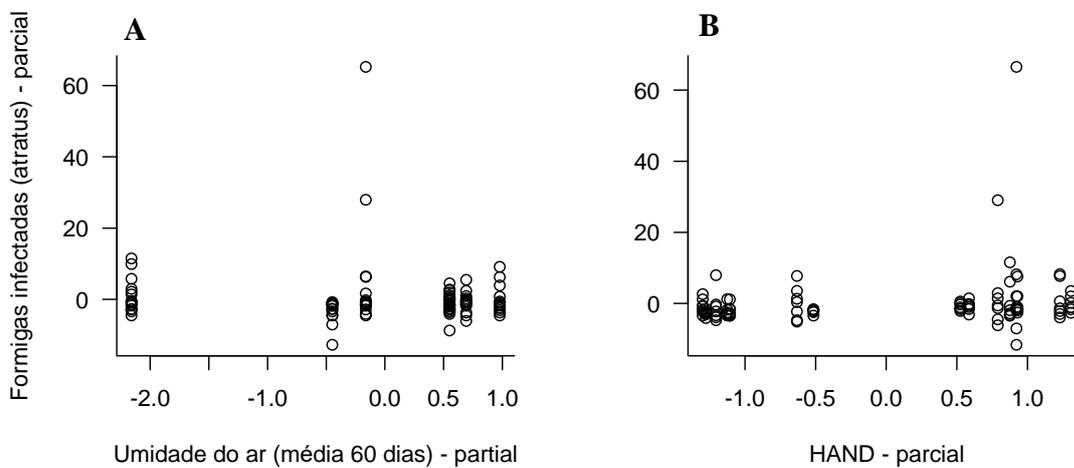
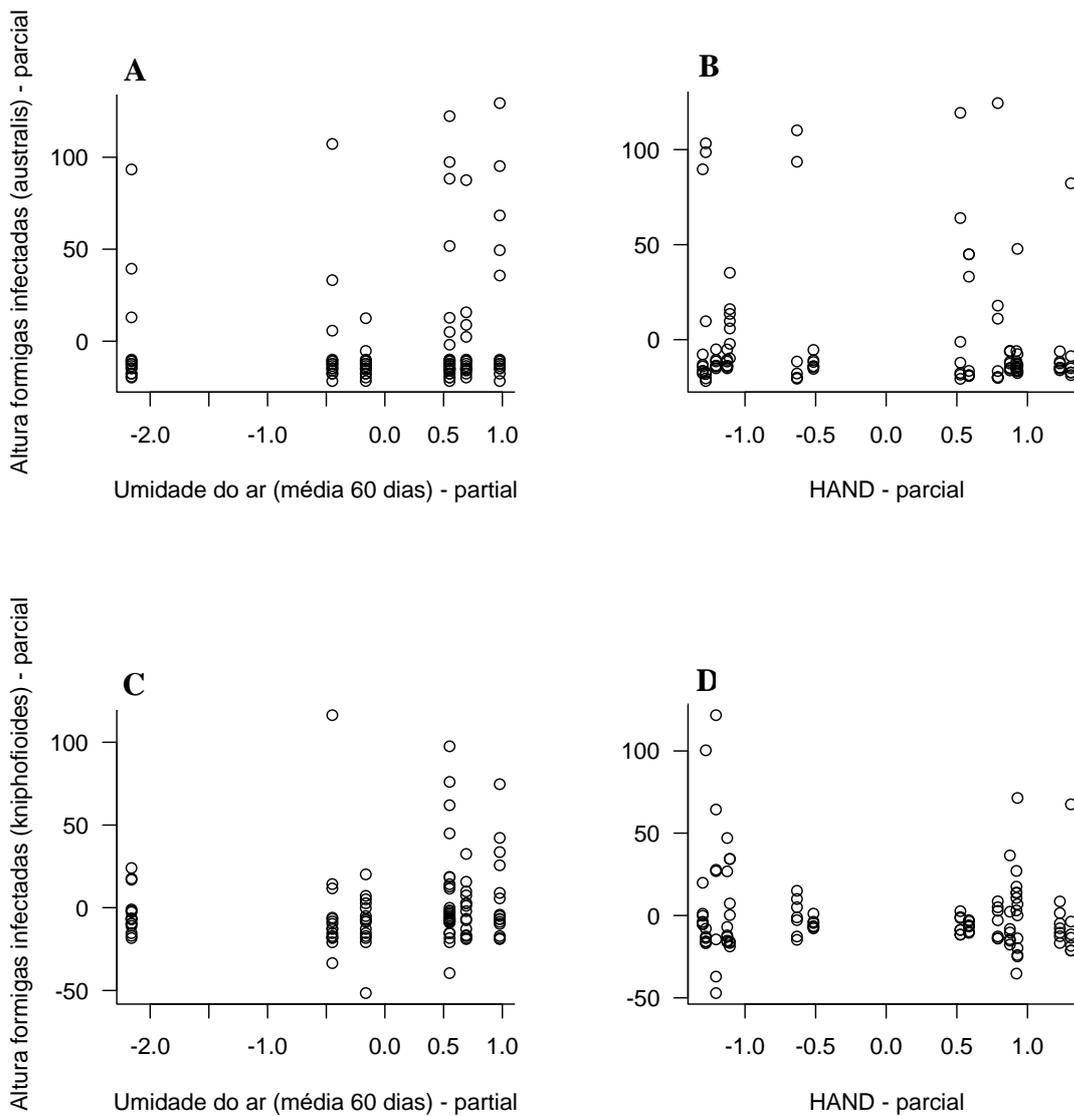


Figura 10: Gráficos de parciais representando o número de formigas parasitadas da espécie *Cephalotes atratus* em relação a umidade do ar média dos 60 dias anteriores as coletas e umidade relacionada com a topografia (HAND). Os círculos referem-se ao total de formigas parasitadas encontradas por parcela em cada evento de coleta.

### 5.3. Fenótipo estendido em fungo e formigas parasitadas

As relações entre o fenótipo estendido de cada espécie (altura onde a formiga morreu) e as variáveis ambientais, de maneira geral refletiram os padrões observados para abundância. A altura das formigas parasitadas por *Ophiocordyceps australis s.l.* (Figura 11 A e B), *Ophiocordyceps kniphofioides s.l.* (Figura 11 C e D) e *Ophiocordyceps unilateralis s.l.* (Figura 11 E e F) não estiveram relacionadas com a umidade do ar e com o HAND ( $R^2 = 0,01$ ;  $p = 0,511$ ; e  $R^2 = 0,02$ ;  $p = 0,318$  e  $R^2 = 0,04$ ;  $p = 0,112$ , respectivamente). Somente o fenótipo estendido de formigas parasitadas pelo complexo *O. unilateralis s.l.* apresentaram relação com umidade do ar e HAND. Os indivíduos parasitados de *Camponotus atriceps* foram encontrados em média a 55 cm de altura em relação ao nível do solo quando a umidade do ar foi mais baixa, e a 100 cm de altura quando a umidade do ar foi alta ( $R^2 = 0,32$ ;  $p < 0,001$ ) (Figura 12 A). Para os indivíduos parasitados de *Camponotus bispinosus* foi encontrado em média a 48 cm de altura quando a umidade do ar foi baixa, e em média a 100 cm de altura quando a umidade do ar foi alta ( $R^2 = 0,22$ ;  $p < 0,001$ ) (Figura 13 A). O fenótipo estendido dessas duas espécies (*C. atriceps* e *C. bispinosus*) não apresentaram relação entre altura e o HAND (Figura 12 B e 13 B). Contrariamente, a altura em relação ao nível do solo dos indivíduos parasitados de *Camponotus senex* não esteve relacionada com a umidade do ar (Figura 14 A), porém os indivíduos parasitados foram encontrados em média a 40 cm de altura quando o HAND

foi menor, e em média foi encontrado a 90 cm de altura quando o HAND foi maior ( $R^2 = 0,26$ ;  $p < 0,001$ , Figura 14 B). Nesse caso, encontramos formigas parasitadas em menores alturas quando a altitude das parcelas foi menor e alturas maiores quando a altitude das parcelas foi maior. A altura de *Cephalotes atratus* parasitado por *O. kniphofioides* s.l. não esteve relacionada com a umidade do ar nem com o HAND ( $R^2 = 0,02$ ;  $p < 0,367$ , Figura 15 A e B), nessa espécie a altura dos indivíduos parasitados não variou ao longo do tempo e espaço. A tabela 2 resume as relações entre HAND, umidade do ar e abundância e altura em relação ao nível do solo das formigas parasitadas.



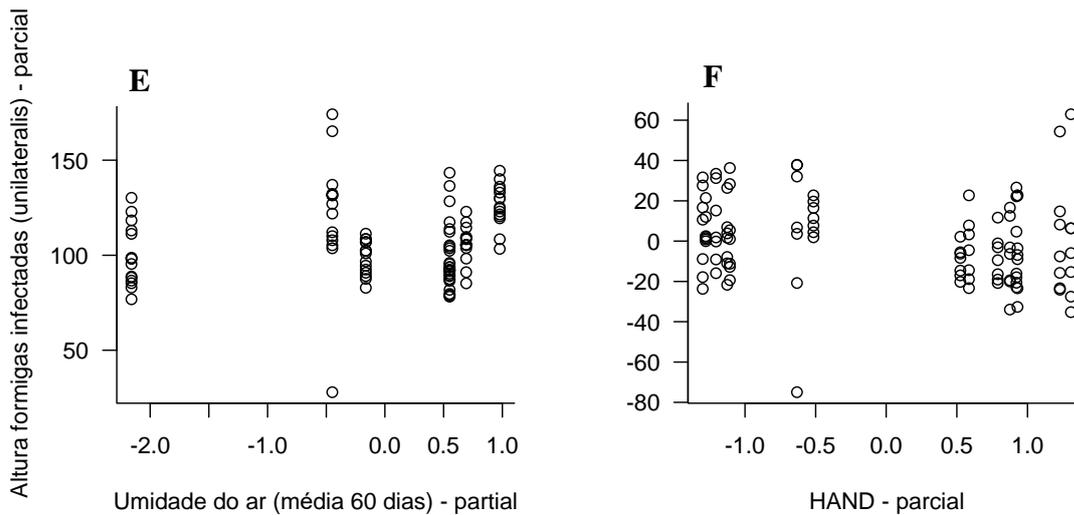


Figura 11: Altura das formigas parasitadas pelo complexo de fungo *Ophiocordyceps australis s.l.* (Figura A e B), *Ophiocordyceps kniphofioides s.l.* (Figura C e D) e *Ophiocordyceps unilateralis s.l.* (Figura E e F), em relação a umidade do ar média dos 60 dias anteriores as coletas e umidade relacionada com a topografia (HAND). Os círculos referem-se a média das alturas das formigas parasitadas encontradas em cada evento de coleta.

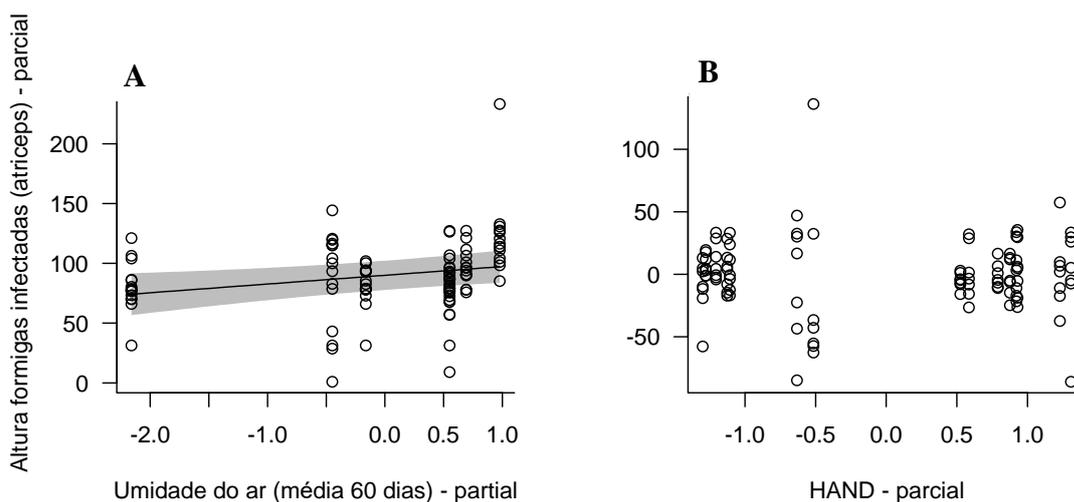


Figura 12: Gráficos de parciais representando a altura das formigas parasitadas da espécie *Camponotus atriceps*, em relação a umidade do ar média dos 60 dias anteriores as coletas e umidade relacionada com a topografia (HAND). Os círculos referem-se a média das alturas das

formigas parasitadas encontradas em cada evento de coleta. A faixa em cinza representa o intervalo de confiança de 95%.

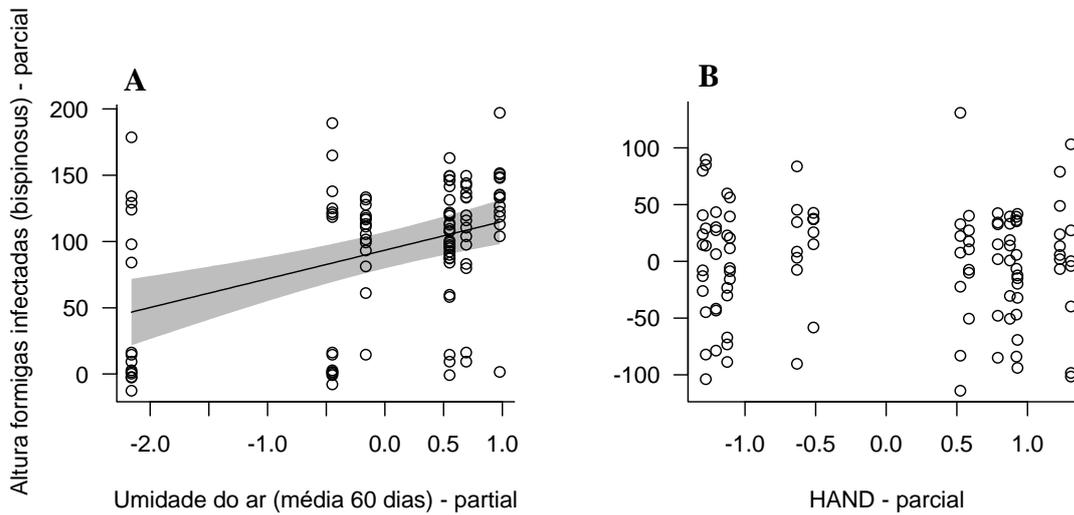


Figura 13: Gráficos de parciais representando a altura das formigas parasitadas da espécie *Camponotus bispinosus*, em relação a umidade do ar média dos 60 dias anteriores as coletas e umidade relacionada com a topografia (HAND). Os círculos referem-se a média das alturas das formigas parasitadas encontradas em cada evento de coleta. A faixa em cinza representa o intervalo de confiança de 95%.

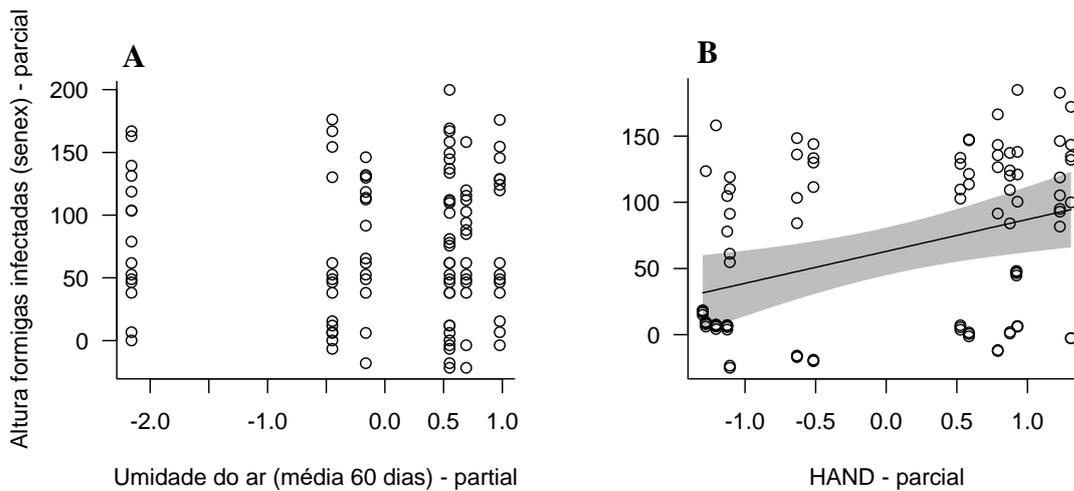


Figura 14: Gráficos de parciais representando a altura das formigas parasitadas da espécie *Camponotus senex*, em relação a umidade do ar média dos 60 dias anteriores as coletas e umidade relacionada com a topografia (HAND). Os círculos referem-se a média das alturas das formigas parasitadas encontradas em cada evento de coleta. A faixa em cinza representa o intervalo de confiança de 95%.

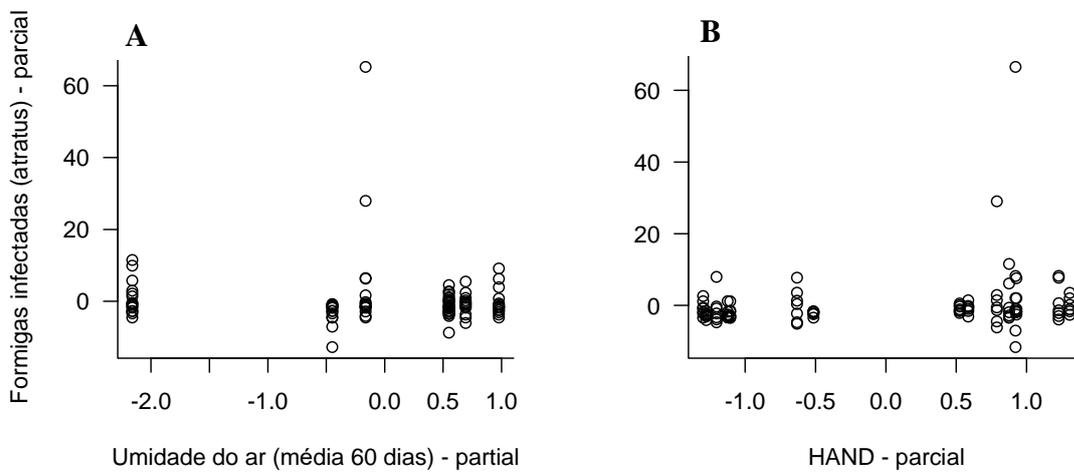


Figura 15: Gráficos de parciais representando a altura das formigas parasitadas da espécie *Cephalotes atratus*, em relação a umidade do ar média dos 60 dias anteriores as coletas e umidade relacionada com a topografia (HAND). Os círculos referem-se a média das alturas das formigas parasitadas encontradas em cada evento de coleta.

Tabela 2: Sumario dos resultados dos modelos entre ocorrência e fenótipo estendido dos complexos de fungos e espécies de formigas em função da umidade do ar e HAND. Destacado em negrito estão os complexos de fungos, logo abaixo estão as espécies de formigas que são parasitadas por cada complexo. Zero representa a ausência de relação entre as variáveis ambientais e o sinal “+” representa uma relação positiva entre as variáveis ambientais, os complexos de fungos e as espécies de formigas. Os resultados dos modelos estão descritos ao longo do texto.

Complexos de fungos e espécies de formiga	Ocorrência		Fenótipo estendido	
	Umidade do ar	HAND	Umidade do ar	HAND
<b><i>Ophiocordyceps unilateralis s.l.</i></b>	+	0	0	0
<i>Camponotus atriceps</i>	+	0	+	0
<i>Camponotus bispinosus</i>	+	0	+	0
<i>Camponotus senex</i>	0	+	0	+
<b><i>Ophiocordyceps kniphofioides s.l.</i></b>	0	0	0	0
<i>Cephalotes atratus</i>	0	0	0	0
<b><i>Ophiocordyceps australis s.l.</i></b>	0	0	0	0

## 6. DISCUSSÃO

Somente formigas parasitadas pelo complexo *O. unilateralis s.l.* apresentaram relação com a umidade do ar e HAND. Os outros dois complexos de fungos entomopatogênicos estudados (*O. australis s.l.* e *O. kniphofioides s.l.*) foram menos abundantes e não estiveram correlacionados com a variação da umidade do ar e HAND. De maneira em geral, a umidade gerada pela variação temporal (umidade do ar), parece ser mais importante que o gradiente de umidade criado pela variação espacial (HAND) para a maioria das espécies de fungos entomopatogênicos. A direção da relação coincidiu com o esperado para *Camponotus atriceps* e *C. bispinosus*, onde mais formigas parasitadas foram encontradas em épocas mais úmidas. Porém, a umidade relacionada

com o HAND esteve correlacionada de forma inversa ao esperado, para *Camponotus senex*. A altura em relação ao solo, que é um dos fenótipos estendidos de formigas zumbis parasitadas por *O. unilateralis s.l.*, também foram modificados pela umidade do ar. As espécies parasitadas *C. atriceps* e *C. bispinosus* foram encontradas em lugares mais altos em períodos com maior umidade. Contrariamente, a altura dos cadáveres de *Camponotus senex*, que também é parasitada por *O. unilateralis s.l.*, foram maiores em áreas mais elevadas (platôs), que estão mais distantes verticalmente do lençol freático e consequentemente são menos úmidas.

### **6.1.Ocorrência de formigas parasitadas**

A ocorrência de formigas parasitadas por *O. australis s.l.* representou apenas 1,1% do total das formigas parasitadas encontradas nesse trabalho e não esteve relacionada com umidade do ar ou HAND. Um estudo avaliando a ocorrência desse complexo na Amazônia Colombiana observou que *O. australis s.l.* também foi o complexo menos abundante (SANJUÁN et al., 2001). A menor quantidade de formigas parasitadas por *O. australis s.l.* pode estar relacionada ao modo de forrageio das formigas que são parasitadas, o tamanho das colônias e a resistência dos esporos ao dessecação. Todas as espécies de formigas parasitadas por *O. australis s.l.* encontradas neste estudo (*Neoponera cavinodis*, *N. crenata*, *N. foetida*, *N. unidentata*, *N. villosa*, *Odontomachus hastatus* e *Pachycondyla impressa*), forrageiam de forma isolada ou em tandem (pequenos grupos de operárias) (MEDEIROS, 1997; SILVA-MELO, 2008; LANAN, 2014). Forrageamento isolado ou em pequenos grupos, provavelmente diminui as chances de contato entre esporos e formigas, diminuindo assim as chances de novas formigas serem parasitadas, isso pode refletir na menor abundância de indivíduos parasitados. Informações sobre tamanho das colônias são escassas na literatura (MEDEIROS, 1997; SILVA-MELO, 2008; LANAN, 2014; DELABIE et al., 2015), mas todas as espécies de

formigas parasitadas por *O. australis s.l.*, formam colônias relativamente pequenas (< 500 operárias) e geralmente nidificam em bromélias, na serapilheira e em buracos de árvore (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990; MEDEIROS, 1997; SILVA-MELO, 2008; HARADA & KETELHUT, 2009; DELABIE et al., 2015). Em conjunto, essas duas características (forrageio isolado e colônias pequenas), podem explicar porque as formigas parasitadas por *O. australis s.l.* são encontradas de forma dispersa e em baixa quantidade no ambiente (EVANS & SAMSON, 1982; EVANS & SAMSON, 1984), mas não fornece uma explicação convincente de porque os fungos que parasitam essas espécies não respondem ao gradiente de umidade.

É possível que a umidade do ar e HAND não esteja relacionado com a ocorrência dos fungos do complexo *O. australis s.l.* pelo fato dos esporos desse fungo serem resistentes ao dessecação. Esporos de fungos podem ser resistentes a temperatura (PALOP et al., 1999; BEUCHAT & PITT, 2001; PEAY et al., 2009; ZIMMERMANN, 2012) quando esta não é ideal para o desenvolvimento do fungo. Além disso a idade dos esporos, definido como o tempo em que o esporo permanece no ambiente, também é importante para que o esporo desenvolva resistência (ZIMMERMANN, 2012). Dessa forma, é possível que a baixa frequência de encontros entre formigas e esporos de *O. australis s.l.* funcione como mais um *feedback* positivo favorecendo linhagens que apresentem mais resistência quando o ambiente for desfavorável. A resistência dos esporos, juntamente com o modo de forrageio e o baixo número de operárias nas colônias podem explicar a baixa quantidade de formigas parasitadas por esses grupos de fungos e porque eles não estão relacionadas com os gradientes de umidade do ar e HAND.

O número de formigas parasitadas por *O. kniphofioides s.l.* também não esteve correlacionado com a umidade do ar e HAND. Apesar das formigas parasitadas por *O. kniphofioides s.l.* serem mais abundantes que *O. australis s.l.*, a abundância desse grupo

representou apenas 9,7 % do total das formigas parasitadas encontrado nesse trabalho. Esse padrão de abundância coincide com o reportado em outros locais da Amazônia (SANJUÁN et al., 2001). Formigas parasitadas por *O. kniphofioides s.l.* formam agregados em pequenas áreas, geralmente apenas em um tronco de árvore (EVANS & SAMSON, 1982; EVANS & SAMSON, 1984), refletindo o modo de forrageamento das espécies parasitadas e o nicho ocupado por essas espécies (MEDEIROS, 1997; LANAN, 2014). *Cephalotes atratus*, *C. pusillus*, *Daceton armigerum*, *Dolichoderus bispinosus*, *D. diversus* e *Paraponera clavata*, que foram parasitadas por fungos do complexo *O. kniphofioides s.l.*, formam colônias relativamente grandes (> 1.000 indivíduos) e nidificam no dossel ou na base de árvores (HÖLLDOBER & WILSON, 1990; HARADA & KETELHUT, 2009). Essas espécies usam o tronco da árvore onde o ninho está instalado como trilha de acesso principal ao solo no caso das espécies arborícolas, ou como trilha de acesso principal ao dossel no caso de *P. clavata* que nidifica no solo (MEDEIROS, 1997; LANAN, 2014). Desta forma, a chances de esporos entrarem em contato com novas formigas da mesma colônia é maior (LORETO et al., 2014), porém os indivíduos parasitados ficam concentrados nos musgos da base do troco das árvores, próximos a trilha de forrageio usada pelas formigas. *Cephalotes atratus* parasitada por *O. kniphofioides s.l.* vivem ou forrageiam no dossel durante o dia, onde a amplitude de variação da umidade e temperatura é maior em relação ao nível do solo (KANG et al., 2000; PAUL et al., 2004; HARADA & KETELHUT, 2009; LANAN, 2014). Essas características sugerem que essas espécies de formigas podem ser menos sensíveis a variações na umidade do ar e HAND, explicando porque os agregados de formigas parasitadas não estão correlacionados com os gradientes de umidade investigados neste trabalho. Além disso, é possível que os esporos não desenvolvam resistências ao

ambiente, pois a temperatura e a umidade ocasionada pelos musgos, possa propiciar um ambiente favorável para o desenvolvimento dos esporos.

O complexo *Ophiocordyceps unilateralis s.l.* foi o mais abundante, representando 89% de todas as formigas parasitadas. Resultados similares foram encontrados em trabalhos realizados com fungos entomopatogênicos em outras áreas na Amazônia (SANJUÁN et al., 2001; SÁNCHEZ et al., 2002; ARAÚJO, 2012). Essa elevada abundância de indivíduos encontrados para *O. unilateralis s.l.* pode ser resposta ao modo de forrageamento exercido pelas formigas parasitadas, todas do gênero *Camponotus*. As espécies de *Camponotus* que apresentaram operárias parasitadas formam colônias numerosas no dossel (TOBIN, 1991). Essas espécies formam trilhas de forrageamento que abrangem áreas relativamente grandes (~ 10 m<sup>2</sup>) e que persistem por longos períodos de tempo, podendo chegar a vários anos em alguns casos (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990; HARADA & KETELHUT, 2009; LANAN, 2014). Conseqüentemente, a presença de esporos do fungo *O. unilateralis s.l.* próxima às trilhas de forrageio, aumenta as chances dos esporos entrarem em contato com as formigas, aumentando assim a quantidade de formigas parasitadas ao longo do tempo (LORETO et al., 2014). A maior abundância de formigas associadas com uma estabilidade temporal das trilhas de forrageio podem explicar o fato de encontramos formigas parasitadas pelo complexo *O. unilateralis s.l.*, concentradas em adensamentos. Em alguns casos, esses cemitérios (*graveyards*) de formigas podem cobrir áreas de 10 m<sup>2</sup> (EVANS & SAMSON, 1982; EVANS & SAMSON, 1984; PONTOPPIDAN et al., 2009).

De maneira geral, as formigas parasitadas por *O. unilateralis s.l.* estiveram positivamente correlacionadas com o gradiente de umidade do ar, mas não com o HAND. Ao contrário das espécies parasitadas por *O. kniphofioides s.l.*, as espécies parasitadas por *O. unilateralis s.l.* forrageiam durante a noite, o que sugere que são mais sensíveis a

variações de umidade (TOBIN, 1991), além de seus esporos possivelmente formarem estruturas de resistência quando a umidade e temperatura não são ideais. As espécies *Camponotus atriceps* e *Camponotus bispinosus* foram as únicas formigas infectadas presentes nas 15 parcelas estudadas e ambas apresentaram relação positiva com o gradiente de umidade do ar. Umidade mais elevada favorece o crescimento dos fungos (LUZ & FARGUES, 1997; FARGUES & LUZ, 1998; SANJUÁN et al., 2001; STEVEN & THOMAS, 2001; SÁNCHEZ et al., 2002; BRAGA-NETO, 2006; ARAÚJO, 2012; BRAGA-NETO et al., 2013), aumentando as chances de *O. unilateralis s.l.* parasitarem um maior número de formigas próximos às trilhas de forrageio (EVANS & SAMSON, 1982; EVANS & SAMSON, 1984; PONTOPPIDAN et al., 2009). No entanto, a quantidade de *Camponotus senex* parasitada por *O. unilateralis s.l.* foi maior em áreas mais distantes do lençol freático (HAND) que são relativamente menos úmidas. O mais curioso é que *C. senex* está entre as menores espécies de *Camponotus* encontradas parasitadas, com apenas 0,3 cm de comprimento entre a cabeça e o gaster (MAYR, 1877). Menor massa corporal pode favorecer o dessecamento (HOOD & TSCHINKEL, 1990; KASPARI & WEISER, 2000), o que provavelmente dificulta o crescimento e desenvolvimento do fungo. É provável que o fungo associado a *C. senex* necessitam de condições ambientais diferentes das demais espécies de fungos que parasitam as formigas do gênero *Camponotus* e deveriam ser estudadas no futuro.

## **6.2. Relação do fenótipo estendido com a umidade**

De maneira em geral, a relação entre umidade e uma das facetas da manipulação comportamental (altura do cadáver em relação ao nível do solo), foi similar a relação entre umidade e abundância de formigas parasitadas. A altura dos cadáveres de formigas parasitadas por *O. australis s.l.* e *O. kniphofioides s.l.* não estiveram relacionadas com a

umidade do ar e com o HAND. No entanto, a altura dos cadáveres das espécies de formigas mais abundantes, que são parasitadas por *O. unilateralis s.l.*, estiveram relacionadas com o gradiente de umidade.

A altura em relação ao nível do solo de cadáveres de *Camponotus atriceps* e *Camponotus bispinosus* foi menor em períodos com menor umidade. A realocação manual dos cadáveres de *Camponotus leonardi* em diferentes alturas, demonstrou que o crescimento do fungo que parasita *C. leonardi* na Tailândia, é melhor até 25 cm do solo, onde possivelmente é a altura ótima para o crescimento e desenvolvimento do fungo (ANDERSEN et al., 2009). Nossos resultados corroboram esse padrão e adicionam uma faceta temporal à influência da umidade na manipulação comportamental. Em épocas ou locais mais secos, o local mais favorável para o crescimento e desenvolvimento do fungo pode ser mais próximo ao solo, que normalmente é mais úmido (HEDGER, 1985; LODGE & CANTRELL, 1995). Durante o período chuvoso a umidade provavelmente não é um fator limitante, e os cadáveres de formigas parasitadas são encontrados em alturas maiores. A vantagem ecológica de posicionar a formiga em locais mais altos está provavelmente relacionada com a dispersão dos esporos (EVANS et al., 2011).

A umidade do ar é uma variável importante e que pode afetar a manipulação comportamental desses parasitas. No entanto, a umidade não afeta a altura dos cadáveres de forma similar entre as espécies, pois cada espécie de formiga tem uma espécie de fungo parasita (EVANS et al., 2011) e possivelmente cada espécie de fungo parasita tem uma altura ideal para o crescimento e desenvolvimento do corpo de frutificação (ANDERSEN et al. 2009). Nossos resultados corroboram essa hipótese, porque ao combinarmos os dados de todas as espécies parasitadas por *O. unilateralis s.l.*, as relações com a umidade do ar e HAND desaparecem. Além disso, os cadáveres de *Camponotus senex* foram encontrados em alturas maiores quando os locais foram mais distantes verticalmente do

lençol freático, sugerindo que a umidade não é um fator limitante para o desenvolvimento dessa espécie de fungo ou que outros fatores estão operando.

## 7. CONCLUSÃO

A umidade do ar gerada pela variação climática ao longo do ano e pela topografia (HAND) pode modificar tanto a ocorrência, como a expressão do fenótipo estendido de fungos parasitas de formigas. No entanto, a relação com a umidade é idiossincrática e depende do fungo em questão. Fungos evolutivamente mais basais, como *Ophiocordyceps australis s.l.* e *O. kniphofioides s.l.* não apresentaram relações com umidade do ar, refletindo os hábitos e modo de forrageio de seus hospedeiros. Já *O. unilateralis s.l.* que infectam *Camponotus atriceps* e *C. bispinosus* responderam positivamente a umidade do ar, porém a ocorrência e o fenótipo estendido de *C. senex* foi positivamente relacionado com o HAND.

Poucos estudos avaliaram a ocorrência ou o tipo de manipulação comportamental de todos os grupos de parasitas simultaneamente, talvez porque *O. australis s.l.* e *O. kniphofioides s.l.* normalmente são menos abundantes no ambiente. No entanto, estudar as relações ecológicas de todos os grupos podem revelar padrões interessantes entre hábitos do hospedeiro e requerimentos do parasita, como foram discutidos aqui.

## 8. REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, S. B.; FERRARI, M.; EVANS, H. C.; et al. Disease dynamics in a specialized parasite of ant societies. **PloS one**, v. 7, n. 5, p. 8, 2012.
- ANDERSEN, S. B.; GERRITSMAN, S.; YUSAH, K. M.; et al. The life of a dead ant: the expression of an adaptive extended phenotype. **The American naturalist**, v. 174, n. 3, p. 424–433, 2009.
- ARAÚJO, J. P. M. Variação temporal e espacial de infecção de *Ophiocordyceps unilateralis sensu lato* (Ascomycota, Hypocreales) em *Camponotus* (Hymenoptera, Formicidae) em três áreas da Amazônia. Manaus, 2012. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) Coordenação de Pós-graduação em Diversidade Biológica, Universidade Federal do Amazonas.
- ARAÚJO, J. P. M.; EVANS, H. C.; GEISER, D. M.; MACKAY, W. P.; HUGHES, D. P. Unravelling the diversity behind the *Ophiocordyceps unilateralis* (Ophiocordycipitaceae) complex: Three new species of zombie-ant fungi from the Brazilian Amazon. **Phytotaxa**, v. 220, n. 3, p. 224–238, 2015.
- BACCARO, F. B.; ARAÚJO, J. M.; EVANS, H. C.; SOUZA, J. L. P.; MAGNUSSON, W. E.; HUGHES, D. P. Complex behavioral manipulation drives mismatch between host and parasite diversity. **bioRxiv**, p. 1–13, 2014.
- BACCARO, F. B.; FEITOSA, R. M.; FERNANDEZ, F.; FERNANDES, I. O.; IZZO, T. J.; SOUZA, J. L. P.; SOLAR, R. **Guia para os gêneros de formigas do Brasil**. 1º ed. MANAUS, 2015.
- BACCARO, F. B.; ROCHA, I. F.; AGUILA, B. E. G.; SCHIETTI, J.; EMILIO, T. Changes in Ground-dwelling Ant Functional Diversity are Correlated with Water-Table Level in an Amazonian Terra Firme Forest. **Biotropica**, v. 45, n. 6, p. 755–763, 2013.
- BATES, D.; MÄCHLER, M.; BOLKER, B. M.; WALKER, S. C. Fitting linear mixed-effects models using lme4. **Journal of Statistical Software**, v. 67(1), p. 1 – 51, 2014.
- BEUCHAT, L. R.; PITT, J. I. Detection and Enumeration of Heat-Resistant Molds. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. p.217–222, 2001.
- BIRON, D. G.; PONTON, F.; MARCH, L.; et al. “Suicide” of crickets harbouring hairworms: A proteomics investigation. **Insect Molecular Biology**, v. 15, n. 6, p. 731–742, 2006.
- BRAGA-NETO, R. Diversidade e padrões de distribuição espacial de fungos de liteira sobre o solo em florestas de terra firme na Amazônia Central. Manaus, 2006. Dissertação (Mestrado em Biologia Tropical e Recursos Naturais) Coordenação de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia.
- BRAGA-NETO, R. Guia de morfoespécies de fungos de liteira da Reserva Ducke. **Programa de Pesquisa em Biodiversidade**, v.1, p. 185, 2008.
- BRAGA-NETO, R.; GIOVANNI, R. DE; ANN, D.; et al. Spatial data for fungal specimens: retrospective georeferencing and practical recommendations for mycologists. **Mycotaxon**, v. 125, p. 289–301, 2013.

- BRAGA-NETO, R.; LUIZÃO, R. C. C.; MAGNUSSON, W. E.; ZUQUIM, G.; CASTILHO, C. V. Leaf litter fungi in a Central Amazonian forest: the influence of rainfall, soil and topography on the distribution of fruiting bodies. **Biodiversity and Conservation**, v. 17, p. 2701–2712, 2008.
- BREHENY, P.; BURCHETT, W. visreg: Visualization of Regression Models. , 2016.
- COMBES, C. **Parasitism: The ecology and evolution of intimate interactions**. 1 ed. Chicago: University of Chicago. 2001.
- COSTA, F. R. C.; MAGNUSSON, W. E. The Need for Large-Scale, Integrated Studies of Biodiversity - the Experience of the Program for Biodiversity Research in Brazilian Amazonia. **Natureza & Conservação**, v. 08, n. 01, p. 3–12, 2010.
- DE BEKKER, C. DE; QUEVILLON, L. E.; SMITH, P. B.; et al. Species-specific ant brain manipulation by a specialized fungal parasite. **BMC Evolutionary Biology**, v. 14, n. 1, p. 1–12, 2014a.
- DE BEKKER, C. DE; MERROW, M.; HUGHES, D. P. From behavior to mechanisms: An integrative approach to the manipulation by a parasitic fungus (*Ophiocordyceps unilateralis* s.l.) of its host ants (*Camponotus* spp.). **Integrative and Comparative Biology**, v. 54, n. 2, p. 166–176, 2014b.
- DAWKINS, R. **The Extended Phenotype**. 1 ed. Oxford University. 1982.
- DELABIE, J. H. C.; FEITOSA, R. M.; SERRÃO, J. E.; MARIANO, C. S. F.; MAJER, J. D. **As formigas poneromorfas do Brasil**. 1 ed. Ilhéus: Editus. 2015.
- EBERHARD, W. G. Spider manipulation by a wasp larva. **Nature**, v. 406, p. 255–256, 2000.
- EVANS, H. C. Entomogenous fungi in tropical forest ecosystems: an appraisal. **Ecological Entomology**, v. 7, n. 1 892, p. 47–60, 1982.
- EVANS, H. C.; ELLIOT, S. L.; HUGHES, D. P. Hidden diversity behind the zombie-ant fungus *Ophiocordyceps unilateralis*: four new species described from carpenter ants in Minas Gerais, Brazil. **PloS one**, v. 6, n. 3, p. 9, 2011.
- EVANS, H. C.; SAMSON, R. A. Cordyceps species and their anamorphs pathogenic on ants (Formicidae) in tropical forest ecosystems I. The *Cephalotes* (Formicinae) complex. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 79, n. 3, p. 431–453, 1982.
- EVANS, H. C.; SAMSON, R. A. Cordyceps species and their anamorphs pathogenic on ants (Formicidae) in tropical forest ecosystems II. The *Camponotus* (Formicinae) complex. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 82, n. 1, p. 127–150, 1984.
- FARGUES, J.; LUZ, C. Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on sporulation of *Beauveria bassiana* on cadavers of *Rhodnius prolixus*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 8, p. 323–334, 1998.
- FRANK, S.; SCHMID-HEMPEL, P. Mechanisms of pathogenesis and the evolution of parasite virulence. **Journal of evolutionary biology**, v. 21, p. 396–404, 2008.
- HARADA, A. Y.; KETELHUT, S. M. Formigas da Reserva Ducke: um grupo ainda pouco estudado? **A Fauna de artrópodes da Reserva Florestal Ducke**. 1 ed. Manaus: INPA p.231–248, 2009.

- HEDGER, J. Tropical agarics, resource relations and fruiting periodicity. **Developmental biology of higher plants**, p.41 –86, 1985.
- HÖLLDOBER, B.; WILSON, E. O. Host tree selection by the neotropical ant *Paraponera clavata* (Hymenoptera: Formicidae). **Biotropica**, v. 22, p. 213–214, 1990.
- HOOD, W. G.; TSCHINKEL, W. R. Desiccation resistance in arboreal and terrestrial ants. **Physiological Entomology**, v. 15, p. 23–35, 1990.
- HOPKINS, M. J. G. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil. **Rodriguésia**, v. 56, n. 86, p. 9–25, 2005.
- HUGHES, D. P.; ANDERSEN, S. B.; HYWEL-JONES, N. L.; HIMAMAN, W.; BILLEN, J. Behavioral mechanisms and morphological symptoms of zombie ants dying from fungal infection. **BMC Ecology**, v. 11, p. 10, 2011.
- HUGHES, D. P.; EVANS, H. C.; JONES-HYWEL, N.; BOOMSMA, J. J.; ARMITAGE, S. A. O. Novel fungal disease in complex leaf-cutting ant societies. **Ecological**, v. 34, p. 214–220, 2009.
- KANG, S.; KIM, S.; OH, S.; LEE, D. Predicting spatial and temporal patterns of soil temperature based on topography, surface cover and air temperature. **Forest Ecology and Management**, v. 136, p. 173–184, 2000.
- KASPARI, M.; WEISER, M. D. Ant Activity along Moisture Gradients in a Neotropical Forest 1. **Biotropica**, v. 32, n. 4, p. 703–711, 2000.
- LANAN, M. Spatiotemporal resource distribution and foraging strategies of ants (Hymenoptera, Formicidae). **Myrmecological News**, v. 20, p. 53–70, 2014.
- LODGE, D. J.; CANTRELL, S. Fungal communities in wet tropical forests: variation in time and space. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, n. 1, p. 11, 1995.
- LORETO, R. G.; ELLIOT, S. L.; FREITAS, M. L. R.; PEREIRA, T. M.; HUGHES, D. P. Long-term disease dynamics for a specialized parasite of ant societies: a field study. **PloS one**, v. 9, n. 8, p. 7, 2014.
- LUZ, C.; FARGUES, J. Temperature and moisture requirements for conidial germination of an isolate of *Beauveria bassiana*, pathogenic to *Rhodnius prolixus*. **Mycopathologia**, v. 138, n. 3, p. 117–25, 1997.
- MARQUES-FILHO, A. O.; RIBEIRO, M. N. G.; SANTOS, H. M.; SANTOS, J. M. Estudos climatológicos da Reserva Florestal Ducke. **Acta Amazonica**, v. 11, n. 4, p. 759–768, 1981.
- MAURE, F.; BRODEUR, J.; PONLET, N.; et al. The cost of a bodyguard. **Biology Letters**, v. 7, p. 843–846, 2011.
- MAYR, G. Formiciden. **Johrgang**, v. 1, p. 867-878. 1877.
- MEDEIROS, F. N. S. Ecologia comportamental da formiga *Pachucndyla striata* em uma floresta do sudoeste do Brasil. Campinas, 1997. Dissertação (Mestrado em Ecologia), Universidade Federal de Campinas.
- MOORE, J. **Parasites and the behavior of animals**. Oxford Uni ed. New York, 2002.

- NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11 ed. Rio de Janeiro: Athenus. 2005.
- OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; et al. **vegan: Community Ecology Package**. , 2016.
- OLIVEIRA, M. L.; BACCARO, F. B.; BRAGA-NETO, R.; MAGNUSSON, W. E. **Reserva Ducke : A biodiversidade amazônica através de uma grade**. 1 ed. Manaus: Áttema. 2008.
- OLIVEIRA, P. Y. DE; LUIZ, J.; SOUZA, P. DE; BACCARO, F. B. Ant species distribution along a topographic gradient in a “ terra - firme ” forest reserve in Central Amazonia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 8, p. 852–860, 2009.
- PALOP, A.; MAÑAS, P.; CONDÓN, S. SPORULATION TEMPERATURE AND HEAT RESISTANCE OF BACILLUS SPORES : A REVIEW. **Journal of Food Safety**, v. 19, p. 57–72, 1999.
- PAUL, K. I.; POLGLASE, P. J.; SMETHURST, P. J.; et al. Soil temperature under forests: A simple model for predicting soil temperature under a range of forest types. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 121, n. 3-4, p. 167–182, 2004.
- PEAY, K. G.; GARBELOTTO, M.; BRUNS, T. D. Spore heat resistance plays an important role in disturbance-mediated assemblage shift of ectomycorrhizal fungi colonizing *Pinus muricata* seedlings. **Journal of Ecology**, v. 97, p. 537–547, 2009.
- PONTOPPIDAN, M. B.; HIMAMAN, W.; HYWEL-JONES, N. L.; BOOMSMA, J. J.; HUGHES, D. P. Graveyards on the move: the spatio-temporal distribution of dead *Ophiocordyceps*-infected ants. **PloS one**, v. 4, n. 3, p. 1–10, 2009.
- POULIN, R. Evolution and phylogeny of behavioural manipulation of insect hosts by parasites. **Parasitology**, v. 116, p. 9, 1998.
- POULIN, R. Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions. **Advances in the Study of Behavior**, v. 41, n. 10, p. 151–186, 2010.
- R TEAM CORE. **R: A language and environment for statistical computing**. , 2015. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- RENNÓ, C. D.; NOBRE, A. D.; CUARTAS, L. A.; et al. HAND, a new terrain descriptor using SRTM-DEM: Mapping terra-firme rainforest environments in Amazonia. **Remote Sensing of Environment**, v. 112, p. 13, 2008.
- RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; et al. **Flora da Reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central**. 1999.
- RICKLEFS, R. E. **A Economia da Natureza**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan. 2010.
- SÁNCHEZ, P.; MORILLO, F.; CAETANO, F.; et al. Detección de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* ((Fr.) Link), 1833 (Ascomycotina: Pyrenomycetes) sobre hormigas del género *Camponotus* Mayr, 1861 (Hymenoptera: Formicidae) en plantaciones de cacao de Barlovento, estado Miranda, Venezuela. **Entomotropica**, v. 17, n. 2, p. 191–195, 2002.
- SANJUÁN, T.; HENAO, LUIZ, G.; AMAT, G. Distribucion espacial de *Cordyceps* spp. (Ascomycotina: Clavicipitaceae) y su impacto sobre las hormigas en selva del

pedemonte amazônico de colombia. **revista de biologia tropical**, 2001.

SILVA-MELO, A. Modelo Arquitetônico de Ninhos, Biologia e Divisão de Trabalho de *Pachycondyla striata* Fr. Smith, 1858 (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). Rio Claro, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

STEVEN, A.; THOMAS, M. B. Effects of Temperature and Relative Humidity on Sporulation of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* in Mycosed Cadavers of *Schistocerca gregaria*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 78, p. 59–65, 2001.

THOMAS, F.; SCHMIDT-RHAESA, A.; MARTIN, G.; et al. Do hairworms (Nematomorpha) manipulate the water seeking behaviour of their terrestrial hosts? **Journal of Evolutionary Biology**, v. 15, p. 356–361, 2002.

TOBIN, J. E. A Neotropical rainforest canopy ant community: some ecological considerations. **Ant-plant interactions**. Oxford Uni ed., p.536–538, 1991.

YANOVIK, S. P.; KASPARI, M.; DUDLEY, R.; POINAR, G. J. Parasite-induced fruit mimicry in a tropical canopy ant. **The American naturalist**, v. 171, n. 4, p. 536–44, 2008.

ZIMMERMANN, M. Resistência de esporos de *Byssoschlamys fulva* e *Bacillus coagulans* em polpa de tomate sob condições isotérmicas, não isotérmicas e de altas pressões hidrostáticas. Florianópolis, 2012. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina.

ZUUR, A.; IENO, E. N.; WALKER, N.; SVELIEV, A. A.; SMITH, G. M. **Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R**. Springer S ed. 2009.

## 9. APÊNDICE A - Ciclo de infecção entre *Ophiocordyceps unilateralis s.l.* e formigas

As formigas se infectam ao forragear em locais onde os esporos do fungo estão presentes. Ao entrar em contato com as regiões sensíveis do corpo da formiga, mais comumente pela região do gaster, os esporos penetram no interior do corpo da formiga e ocorre a infecção (DE BEKKER et al., 2014a). Após esse contato as formigas voltam ao ninho e continuam desenvolvendo suas atividades normais (DE BEKKER et al., 2014b). Com o passar de alguns dias, o fungo começa a retirar nutrientes de estruturas internas da formiga e atinge o sistema nervoso, a formiga então perde o controle sobre os seus sentidos, saem da colônia e começam a caminhar aleatoriamente pelo ambiente (EVANS, 1982; ANDERSEN et al., 2009; HUGHES et al., 2011; ANDERSEN et al., 2012; ARAÚJO et al., 2015). Morte fora do formigueiro é considerado adaptativo para o fungo, porque evita o comportamento de limpeza das formigas no interior da colônia que pode interromper o ciclo de vida do parasita (HUGHES et al., 2009; LORETO et al., 2014) e propicia que a formiga seja direcionada para um local em que o crescimento do fungo e dispersão dos esporos é otimizado (ANDERSEN et al., 2009; ANDERSEN et al., 2012). Próximo a morte da formiga, o fungo controla os músculos mandibulares, através da redução da abundância de mitocôndrias, e alterar o comportamento do hospedeiro nos últimos segundos antes da morte (ANDERSEN et al., 2009). Nesses casos, formigas infectadas mudam de um comportamento errante para imóvel e passam a raspar, por exemplo, as mandíbulas nas nervuras ou bordas das folhas (HUGHES et al., 2011), até morrerem mordendo o tecido foliar. Quando os cadáveres das formigas estão fixas nesses locais, estruturas externas do fungo são emitidos no corpo da formiga, essas estruturas são chamadas de estipe, posteriormente no estipe é formado o peritécio ou corpo de frutificação, que são os locais onde os esporos ficam armazenados (ANDERSEN et al.,

2009). Quando o peritécio está maduro, ou seja, os esporos estão formados e aptos a serem liberados no ambiente, o peritécio se rompe, liberando os esporos no ambiente e são desenvolvidos esporos secundários que infectam as formigas (HUGHES et al., 2011; ANDERSEN et al., 2012). Ao sair para forragear, as formigas passam nos locais onde os esporos secundários estão presentes e ocorre a infecção novamente, em aproximadamente 3 ou 4 semanas o fungo completa o ciclo de infecção (ANDERSEN et al., 2009; ANDERSEN et al., 2012; DE BEKKER et al., 2014a; DE BEKKER et al., 2014b).

## 10. FINANCIAMENTO

