



1. Identificação do Projeto

Título do Projeto PIBIC/PAIC

Influência do efeito de borda sobre a abundância e composição de formigas infectadas por fungos *Ophiocordyceps*

Orientador

Dr. Fabricio Beggiato Baccaro

Aluno

Emerson Luis Carneiro Merkel

2. Informações de Acesso ao Documento

1.1 Este documento é confidencial?

SIM

NÃO

1.2 Este trabalho ocasionará registro de patente?

SIM

NÃO

1.3 Este trabalho pode ser liberado para reprodução?

SIM

NÃO

3. Introdução

Durante o processo de urbanização, grandes extensões de florestas são devastadas resultando na formação de fragmentos florestais (Laurance *et al.*, 2002). A fragmentação geralmente resulta em fragmentos de habitats naturais imersos em uma matriz antropogênica circundante, resultado de atividades como fogo ou desmatamento. Na interação entre esses dois habitats existe uma zona de contato comumente definido como “borda”, que no caso de fragmentos florestais, pode ser facilmente delimitada (Foggo *et al.*, 2001).



Nas bordas de fragmentos florestais ocorre o processo chamado de “efeito de borda”, onde o ambiente é afetado mais intensamente por mudanças abióticas resultante da matriz circundante (Laurance *et al.*, 2002). As bordas de fragmentos florestais são mais secas mais iluminadas que o interior do fragmento (Kapos, 1989; Camargo *et al.*, 1995), evidenciando a influência direta que a incidência luminosa tem sobre o microclima nesses locais. A umidade, que é menor nas áreas da borda, retorna a padrões normais de acordo com o aumento da distância no sentido borda-interior do fragmento (Rodrigues, 1993). Essas alterações ambientais normalmente altera a distribuição da fauna podendo diminuir a abundância de algumas espécies, além de modificar as interações entre espécies (Murcia, 1995).

O ciclo de vida dos fungos saprófitos é particularmente influenciado por fatores como a pluviosidade, umidade e temperatura, resultando em maior diversidade e abundância em áreas mais úmidas e durante a estação mais chuvosa (Braga-Neto, 2006). Mas nem todos os fungos são exclusivamente saprófitos, e conseqüentemente podem ser afetados de forma diferente pela variação de umidade. Um exemplo interessante são as espécies de fungo do gênero *Ophiocordyceps* (Ascomycota: Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) que são parasitas obrigatórios de formigas (Evans *et al.*, 2011). Esses fungos manipulam o comportamento de seus hospedeiros e os utiliza como um meio de transporte para a dispersão de esporos (Andersen *et al.*, 2009). Esse tipo de comportamento onde o hospedeiro age de forma anormal é chamado de fenótipo estendido (Dawkins, 1983). Nesses casos o fenótipo do fungo é expressado pelo fenótipo do hospedeiro. Grupos de fungos como: *Ophiocordyceps unilateralis*, *O. australis*, *O. kniphofioides* e *O. lloydii*, infectam diferentes espécies de formigas e cada um possui diferentes síndromes de manipulação comportamental (Baccaro *et al.*, 2014). Alguns fungos induzem as formigas a morrerem no folhíço, enterradas em musgos, agarradas em galhos, mordendo folhas, ou mordendo pequenos gravetos (Evans *et al.*, 2011, Hughes *et al.*, 2011).

O grupo *unilateralis*, infecta somente formigas do gênero *Camponotus*, fazendo com que seus hospedeiros morram mordendo folhas de arbustos ou ervas (Hughes *et al.*, 2011). O grupo *kniphofioides* infectam formigas do gênero *Cephalotes* e *Dolichoderus* fazendo com que seus hospedeiros morram no meio de musgos que crescem em troncos de árvores (Evans *et al.*, 2011; Baccaro *et al.*; 2014). Já os fungos do grupo *australis*



induzem formigas dos gêneros *Pachycondyla*, *Pseudoponera* e *Odontomachus* a morrerem no folhíço ou presas a pequenos gravetos (Evans *et al.*, 2011; Baccaro *et al.*; 2014). Mesmo cada fungo realizando diferentes síndromes comportamentais, todas as formigas infectadas morrem, dando início aos processos de formação do corpo de frutificação do parasita que leva pelo menos duas semanas para liberar seus esporos (Andersen *et al.*, 2012). O fungo consegue assegurar o cadáver da formiga de forma tão eficiente que o possibilita fazer liberação de esporos por varias vezes sem que a formiga se desprenda ou quebre de seu local de fixação (Andersen *et al.*, 2012). Além disso, a manipulação do fungo leva o hospedeiro a morrer em locais onde o microclima é favorável para a infecção e posterior formação do corpo de frutificação do parasita, favorecendo a produção de esporos e contaminação de novos hospedeiros (Andersen *et al.*, 2009). Porém os esporos quando liberados, por terem uma parede hialina fina, os tornam suscetíveis à dissecação e danos causados pela radiação ultra violeta, tornando inviável sua permanência a longos períodos no ambiente (Evans *et al.*, 2011).

Apesar de serem parasitas altamente especializados os fungos entomopatogênicos do gênero *Ophiocordyceps* também são influenciados por fatores ambientais (Andersen *et al.*, 2009), mas ainda não está claro como a modificação antrópica afeta a distribuição desses parasitas. Este projeto tem como finalidade investigar o efeito de borda na abundância e composição de formigas infectadas pelos fungos *Ophiocordyceps* (*unilateralis*, *australis* e *kniphofioides*) em um fragmento florestal.

4. Justificativa

Cada vez mais o papel de parasitas nos ecossistemas está sendo reconhecido, mostrando como eles são essenciais para conexão das teias tróficas (Hudson *et al.*, 2002), para o fluxo de energia entre sistemas (Dobson *et al.*, 2008) ou mesmo para a manutenção da biodiversidade através de seus efeitos dependentes da densidade (Hudson *et al.*, 2006). Esta proposta irá contribuir para o entendimento dos processos que geram e mantém a dinâmica temporal e espacial de assembleias de parasitas e o efeito de alterações antrópicas neste sistema.



5. Objetivo

Investigar a influência do efeito de borda na composição e abundância de formigas infectadas por fungos do gênero *Ophiocordyceps* em um fragmento florestal urbano na cidade de Manaus.

6. Metodologia

Área de estudo

O estudo foi realizado no campus universitário da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, localizado na cidade de Manaus. O campus da UFAM possui uma área de aproximadamente 600 hectares e é considerada como um dos maiores fragmentos de floresta nativa do mundo. A paisagem do campus é formada por platôs, vertentes e baixios sendo coberta por floresta tropical de terra-firme, por florestas de crescimento secundário, por campinaranas e áreas desmatadas (Nery *et al.*, 2004; Borges & Guilherme, 2000).

Nesse estudo amostramos 10 parcelas permanentes, mantidas pelo Programa de Pesquisas em Biodiversidade (PPBio) no campus da UFAM (Figura 1). As parcelas são transectos de 250 m de comprimento que seguem a curva de nível do terreno e com largura variável dependendo do organismo de interesse. As parcelas foram instaladas adjacente a pequenos corpos d'água. Amostramos as 10 parcelas a cada dois meses, durante o período de 10 meses.

Além da distância da borda/área antropizada, estimamos a largura média do igarapé adjacente as parcelas em cada evento de coleta. Essas medidas foram realizadas para controlar possíveis efeitos da umidade local (estimado pela largura do igarapé) no gradiente de distância da borda. Estimamos a largura a cada 50 m ao longo do igarapé adjacente a parcela usando uma trena, totalizando 6 medidas em cada parcela. A largura do igarapé é uma estimativa do total de água disponível no solo, uma vez que as parcelas ficam muito próximas as margens dos igarapés (1-2 m).



Figura 1. Localização geográfica do campus da Universidade Federal do Amazonas e identificação das parcelas instaladas (P1 a P10). Fonte: Tsuji-Nishikido & Menin, 2012.

Coleta das formigas infectadas

Amostramos as formigas infectadas ao longo dos 250 m da trilha principal das parcelas, cobrindo uma área de 1 m de largura e 2 m de altura nos dois lados (direito e esquerdo). Utilizamos uma fita métrica e todas as plantas que estavam dentro dessa área foram cuidadosamente observadas. Procuramos ativamente por cadáveres de formigas infectadas mordendo tecido foliar, enterrada no musgo/casca de árvores, abraçadas em gravetos, ou simplesmente sobre o solo/folhicho. Uma das vantagens de estudar esse sistema, é que os cadáveres das formigas podem ser facilmente encontrados, resultando em um histórico da infecção. 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 se mostrou muito eficiente, resultando em mais de 28 espécies distribuídas em 7 gêneros de formigas infectadas (Araújo, 2012; Baccaro *et al.*, 2014).

O material coletado foi devidamente etiquetado e transportado para o laboratório de Zoologia da UFAM onde foram montados a seco em alfinete entomológico para



identificação. O material examinado foi depositado na Coleção Zoológica Prof. Paulo Bührnheim - CZPB, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM.

Análises dos dados

O número total de formigas infectadas por parcela ao longo de todos os eventos de coleta foi a variável dependente e a distância da borda/área antropizada e a largura média do igarapé foram as variáveis preditoras em uma análise de regressão múltipla. A composição de espécies de formigas infectadas foi estimada através do primeiro eixo de ordenação de um NMDS (Escalonamento Multidimensional Não-Métrico). O NMDS foi calculado usando distância de Sorensen com dados de presença e ausência das espécies por parcela. Da mesma forma, uma regressão múltipla foi utilizada para comparar a composição de espécies de formigas por parcela (eixo 1 do NMDS) em função da distância da borda do fragmento/área antropizada e a largura média do igarapé adjacente as parcelas.

7. Resultados

Encontramos 418 formigas infectadas, pertencentes a seis espécies de formigas. A espécie infectada mais abundante foi *Camponotus atriceps* com 391 espécimes, seguido por *Camponotus senex* (9 espécimes), *Camponotus* sp.1 (8 espécimes), *Cephalotes atratus* (3 espécimes), *Camponotus rectangulares* (5 espécimes), *Camponotus bidens* (1 espécime) e *Neoponera cavinodis* (1 espécime), figura 2. Além dessas espécies existem pelo menos 2 morfotipos que precisam ser identificados. Encontramos formigas infectadas em todas as parcelas ao longo dos quatro eventos de coleta (julho, setembro, novembro e março de 2015/2016) realizados (tabela 1), mas comente *C. atriceps* foi encontrada infectada em todas as parcelas.

A distância entre as parcelas e a borda do fragmento ou alguma construção ou área antropizada, variou entre 93 a 572 metros. A largura média dos igarapés adjacentes as parcelas, estimados nos seis pontos de medida variou entre “zero”, quando o igarapé estava completamente seco à ~ 8 m. Todos os igarapés são rasos, mesmo aqueles mais largos, e não apresentaram grande fluxo de água.



Figura 2. Exemplos as síndromes de manipulação comportamental mais comuns causados pelo fungo parasita *Ophiocordyceps* em *Odontomachus hastatus* (A), *Neoponera villosa* (B), *Cephalotes atratus* (C) e *Camponotus atriceps* (D).

O modelo de regressão múltipla explicou ~60% da variação do número de formigas infectadas por fungos *Ophiocordyceps* ($p = 0.016$). Tanto a distância da borda/área atropizada quanto a largura do igarapé contribuíram para a variação explicada pelo modelo geral. O número de formigas infectadas foi maior nas parcelas mais distantes da borda/área antropizada ($r^2 = 0.46$, $p = 0.03$), como nas parcelas situadas ao lado de igarapés maiores ($r^2 = 0.64$; $p = 0.005$), figura 3. A correlação entre a distância da borda/área antropizada e a largura do igarapé (r Pearson = 0.20; $p = 0.56$) foi pequena, sugerindo que cada variável preditora está operando independentemente sobre o número de formigas infectadas.

O NMDS em um eixo capturou ~42% da variação na composição de formigas infectadas nas 10 parcelas amostradas. No entanto, a composição das formigas infectadas não foi afetada por nenhuma variável preditora ($R^2 = 0.05$, $p = 0.826$).



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



Tabela 1 – Número de formigas infectadas por fungos entomopatogênicos (*Ophiocordyceps*) por parcela no fragmento do Campus da UFAM, Manaus, Amazonas.

Parcela	Espécie	Coletas			
		Julho/2015	Setembro/2015	Novembro/2015	Março/2016
P1	<i>Camponotus atriceps</i>	53	14	15	13
	<i>Camponotus senex</i>	2	3	0	0
	<i>Camponotus</i> sp.1	2	0	0	0
	<i>Cephalotes atratus</i>	1	0	0	0
	<i>Neoponera cavinodis</i>	1	0	0	0
P2	<i>Camponotus atriceps</i>	17	9	6	0
	<i>Camponotus senex</i>	1	0	0	0
P3	<i>Camponotus atriceps</i>	55	5	7	20
	<i>Camponotus</i> sp.1	1	0	0	1
	<i>Cephalotes atratus</i>	0	0	1	0
P4	<i>Camponotus atriceps</i>	36	10	16	14
P5	<i>Camponotus atriceps</i>	10	2	2	10
	<i>Camponotus bidens</i>	1	0	0	0
	<i>Camponotus</i> sp.1	1	0	1	0
	<i>Camponotus rectangulares</i>	0	0	0	5
P6	<i>Camponotus atriceps</i>	6	4	2	0
	<i>Camponotus</i> sp.1	1	0	1	0
	<i>Cephalotes atratus</i>	1	0	0	0
P7	<i>Camponotus atriceps</i>	12	13	3	10
P8	<i>Camponotus atriceps</i>	5	1	0	0
	<i>Camponotus senex</i>	0	0	2	0
P9	<i>Camponotus atriceps</i>	6	1	0	0
P10	<i>Camponotus atriceps</i>	5	2	5	2
	<i>Camponotus senex</i>	1	0	0	0

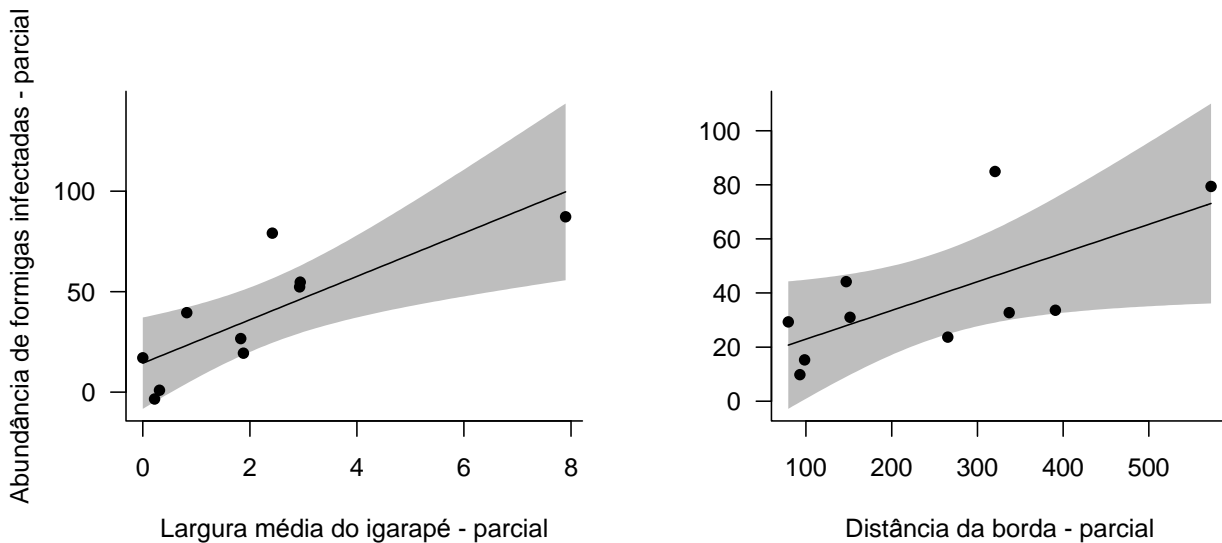


Figura 3 – Gráficos de parciais do modelo de regressão múltipla entre a abundância de formigas infectadas e a largura do igarapé e a distância da borda. Os valores reais das variáveis foram superimpostos nos valores parciais do modelo de regressão múltipla (resíduos do modelo) para visualização das relações entre as variáveis predictoras e variável dependente. Cada gráfico, mostra o efeito de uma variável, controlando o efeito da outra variável predictor. A área em cinza representa o intervalo de confiança de 95%.

8. Discussão

O fragmento da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) apresenta além da matriz urbana circundante, grande degradação antrópica no seu interior proveniente de construções de prédios e vias pavimentadas que dão acesso às localidades da UFAM. Essa antropização favorece a entrada de luz e de massas de ar quente para pontos dentro do fragmento provavelmente aumentando a temperatura e diminuindo a umidade nesses locais (Camargo *et al.*, 1995, Laurance *et al.*, 2002). Desta forma, utilizamos neste trabalho a distância entre as parcelas e pontos antropizados mais próximos, como uma medida do “efeito de borda”. As parcelas mais distantes da borda/área antropizada apresentaram mais formiga infectadas. Porém a influência de outro fator, a disponibilidade de água ou umidade, também apresentou relação positiva com a abundância de formigas infectadas. Parcelas situadas ao lado de igarapé mais largos apresentaram maior abundância de formigas infectadas.



A água é um requisito fundamental para o desenvolvimento de fungos (Braga Neto, 2006), e a presença de igarapés nas parcelas contribuíram para o aumento da umidade local. Quanto mais largo o igarapé, maior é a evaporação superficial e assim maior a umidade local. Mesmo em parcelas relativamente distantes da borda/área antropizada (P9 e P10), a abundância das formigas infectadas foi menor, provavelmente acompanhando menor umidade local (medida aqui pela largura dos igarapés). O mesmo processo, de forma inversa, explica a grande abundância de formigas infectadas em parcelas próximas a borda/área antropizada (P4 e P7). Essas parcelas se situam ao lado de igarapés relativamente largos. Porém além da umidade, a radiação também interfere no desenvolvimento e propagação dos esporos. Os esporos de *Ophiocordyceps* são hialinos com parede relativamente fina tornando-se inviáveis se expostos por longos períodos a luz (Evans *et al.*, 2011). Como a incidência luminosa normalmente esta positivamente correlacionada com a umidade em fragmentos florestais (Laurance *et al.*, 2008), tanto umidade como entrada de luz podem estar moldando a abundância desses fungos.

Sanjuán *et al.*, (2001) realizaram um trabalho sobre a distribuição espacial de *Ophiocordyceps* em florestas da Amazônia Colombiana com níveis de perturbações distintos: floresta pouco perturbada, floresta com perturbações antrópicas e florestas com perturbações naturais. Seus resultados mostraram que a abundância desses fungos foi mais evidente na floresta com perturbações naturais e menos evidente na floresta pouco perturbada. No entanto, o número de infecções nas três florestas pode ter sido influenciada pelas comunidades de formigas, já que a abundância de infecção foi maior nas florestas onde o gênero *Camponotus* estava presente. No nosso trabalho, o gênero foi encontrado em todas as parcelas, minimizando possíveis efeitos da estrutura da comunidade de formigas na ocorrência do parasita. Outro fator que deve ser levado em consideração, é que o nível do lençol freático foi mais superficial na floresta com perturbação natural e mais profundo na floresta pouco perturbada (Sanjuán *et al.*, 2001). Desta forma maior abundancia de formigas em locais com lençol superficial (mais umidade) corroboram com nossos resultados. Segundo Laurance *et al.*, (2008), as comunidades de fungos são mais afetadas pelo efeito de borda principalmente nos primeiros 25 m de distância. Nenhuma de nossas parcelas foram instaladas a menos de 25 m de distância da borda/área antropizada. Sendo assim, nossos resultados em conjunto com os resultados de Sanjuán *et al.*, (2001) sugerem que a umidade (medida



aqui pela largura dos igarapés) pode ser o fator primordial para a propagação desses fungos parasitas.

Neste trabalho, tanto a distância da borda/área antropizada esteve relacionada com a abundância dos fungos parasitas do gênero *Ophiocordyceps*. No entanto, as evidências sugerem que a umidade pode ser mais importantes para o estabelecimento e desenvolvimentos desses parasitas. No entanto, um fator ainda não explorado, é a abundância local das formigas não infectadas. A composição, riqueza e abundância das assembleias de formigas são afetadas tanto pela umidade (Baccaro *et al.* 2013) como pelo efeito de borda (Carvalho e Vasconcelos 2002). Futuros estudos poderiam investigar concomitantemente a composição das assembleias de formigas não infectadas e infectadas ao longo dos gradientes de umidade e de distância da borda/áreas antropizadas para aprofundar nosso entendimento sobre a dinâmica de infecção desses fungos parasitas.

9. Referências

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. 424–33, 2009.

ANDERSEN, S.B.; FERRARI M.; EVANS, H.C.; ELLIOT, S.L.; BOOMSMA, J.J.; *et al.* Disease Dynamics in a Specialized Parasite of Ant Societies. *PLoS ONE* 7(5): e36352. doi:10.1371/journal.pone.0036352, 2012.

ARAÚJO, J. P. M. Variação temporal e espacial de infecção de *Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato (Ascomycota, Hypocreales) em *Camponotus* (Hymenoptera, Formicinae) em três áreas da Amazônia. , 2012.

BACCARO, F.; ARAÚJO, J.; EVANS, H.; SOUZA, J., HUGHES, D. P. Complex behavioral manipulation drives mismatch between host and parasite diversity. *bioRxiv*, p. 1–13, 2014.

BORGES, S. H. & GUILHERME, E. Comunidade de aves em um fragmento florestal urbano em Manaus, Amazonas, Brasil. *Ararajuba*. 8(1):17-23, 2000.

BRAGA-NETO, R. Diversidade e padrões de distribuição espacial de fungos de liteira sobre o solo em florestas de terra firme na Amazônia Central. , p. 217, 2006.

CAMARGO, J.L.C.; KAPOS, V. Complex edge effects on soil moisture and microclimate in Central Amazonian forest. *Journal of Tropical Ecology* 11 205-221, 1995.



DAWKINS, R. The Extended Phenotype. *Interdisciplinary Science Reviews*, v. 8, n. 3, p. 288–288, 1983.

DOBSON, A.; LAFFERTY, K. D.; KURIS, A. M.; HECHINGER, R. F.; JETZ, W. Homage to Linnaeus: how many parasites? How many hosts? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 105 Suppl , p. 11482–11489, 2008.

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* 6(3): e17024. doi:10.1371/journal.pone.0017024, 2011.

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. *Ophiocordyceps unilateralis* A keystone species for unraveling ecosystem functioning and biodiversity of fungi in tropical forests? *Communicative & Integrative Biology*, v. 4, n. 5, p. 598–602, 2011.

FOGGO, A; OZANNE, C.M.P.; SPEIGHT, M.R.; HAMBLER, C. Edge effects and tropical forest canopy invertebrates. *Plant Ecology* 153:347 – 359, 2001.

HUDSON, P. J.; DOBSON, A. P.; LAFFERTY, K. D. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in ecology & evolution*, v. 21, n. 7, p. 381–5, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16713014>>. Acesso em: 13/1/2015.

HUDSON, P. J.; RIZZOLI, A.; GRENFELL, B. T.; HEESTERBEEK, H.; DOBSON, A. P. *The Ecology of Wildlife Diseases*, 2002.

HUGHES, D. P., WAPPLER, T. & LABANDEIRA, C. C. Ancient death-grip leaf scars reveal ant-fungal parasitism. *Biology letters* 7, 67–70, 2011.

KAPOS. V. Effects of isolation on the water status of forest patches in the Brazilian Amazon. *Journal of Tropical Ecology* 5:173-185, 1989.

LAURANCE, W. F.; LOVEJOY, T. E.; VASCONCELOS, H. L.; BRUNA, E. M.; DIDHAM, R.K.; STOUFFER, P. C.; GASCON, C.; BIERREGAARD, R.O.; LAURANCE, S. G.; SAMPAIO, E. Ecosystem decay of Amazonian forest fragments: a 22-year investigation. *Cons. Biol.*, New York, v. 16, p. 605-618, 2002.

LAURANCE, W. L. Theory meets reality: how habitat fragmentation research has transcended island biogeographic theory. *Biological Conservation*, 41: 1731-1744, 2008.

MURCIA, C. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 10(2), p.58-62, 1995.

NERY, L. C.; LOROSA, E. S. & FRANCO, A. M. Feeding Preference of the Sand Flies *Lutzomya umbratilis* and *L. spathotrichia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in an



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



Urban Forest Patch in the City of Manaus, Amazonas, Brazil. 2004. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 99(6): 571–574, 2004.

RODRIGUES, E. Ecologia de fragmentos florestais ao longo de um gradiente de urbanização em Londrina-PR. Dissertação. Universidade de São Paulo, São Carlos - SP, p.110, 1993.

SANJUÁN, T.; HENAO, L. G.; AMAT, G. *Revista de Biología Tropical/International Journal of Tropical Biology and Conservation*. Rev. Biol. Trop. 49(3-4): 945-955, 2001.

