MODIFICAÇÃO DE COMPORTAMENTO EM CAMPONOTUS RENGGERI INDUZIDA PELO FUNGO OPHIOCORDYCEPS SP. E MACROPHYES PACOTI N. SP. PELO FUNGO GIBELLULA SP.

Emily Oliveira Fonseca [1], Joedson Castro Pires [2], Francisco Ageu de Sousa NÓbrega [3], Italo Diego Paiva Arruda [4], Jober Fernando Sobczak [5]

RESUMO

Fungos entomopatogênicos dos gêneros *Ophiocordyceps* e *Gibellula*, parasitam e modificam o comportamento de seus hospedeiros sendo espécies de formigas do gênero *Camponotus* e aranhas do gênero *Macrophyes*, respectivamente. São entomopatógenos importantes para o equilíbrio das populações de artrópodes. Apesar de serem gêneros de fungos diferentes e parasitarem táxons distintos, ambos os fungos utilizam estratégias similares favorecendo sua aptidão. O conhecimento sobre essas interações ainda é pouco explorado, e raros são os registros, principalmente para nordeste brasileiro. O objetivo deste projeto, foi aumentar o conhecimento científico sobre a interação entre fungos entomopatogênicos *Ophiocordyceps* sp.e *Gibellula* sp.e seus hospedeiros, descrevendo sua história natural e a manipulação comportamental. O projeto foi desenvolvido na Serra de Baturité, durante 1 ano. Feita a frequência de parasitismo de *Ophiocordyceps* sp. e *Gibellula* sp. em seus hospedeiros, e coletamos dados ambientais das zonas de epizootias. Além disso, o cultivo do fungo e preparo de lâminas histológicas para identificação taxonômica. Ampliamos o conhecimento sobre essas interações e prospectamos mais ainda.

Palavras-chave:

Fungos entomopatogênicos. Maciço de Baturité. Mata Atlântica.

[1] UNILAB, ICEN, Discente, e-mail: emilyfonsec@gmail.com
[2] UNILAB, ICEN, Discente, e-mail: joedson.pires@hotmail.com
[3] UNILAB, ICEN, Discente, e-mail: ageunobrega@gmail.com
[4] UFC, PPGERN, Discente, e-mail: italodiego17@gmail.com
[5] UNILAB, ICEN, Docente, e-mail: jobczak@unilab.edu.br

INTRODUÇÃO

Algumas espécies de parasitas e parasitoides, muitas vezes apresentam a habilidade de manipular o fenótipo dos hospedeiros, incluindo sua morfologia, fisiologia e comportamento para o seu próprio benefício (Moore, 2002). Os primeiros estudos sobre fenótipos alterados focaram nos detalhes das mudanças de comportamento e observaram que elas representavam adaptações para os parasitas como subprodutos da infecção (Poulin, R. 1994 e Dawkins, R. 1990). O parasitismo em Formicidae causadas por fungos entomopatógenos do gênero *Ophiocordyceps* (Ophiocordycipitaceae, Hypocreales, Ascomycota), ocorrem muitas vezes como epizootias, contaminando um grande número de espécimes de formigas em pequenas regiões de floresta (Andersen et al., 2009). Estes fungos são conhecidos a muito tempo pela ciência por serem capazes de manipular o comportamento de suas formigas hospedeiras, induzindo-os a subirem na vegetação e, só então, os matam (Evans, H.C. 1982; Evans, H.C. e Samson, R.A. 1984). O processo de parasitismo em formigas por *Ophiocordyceps* inicia-se quando o hospedeiro está forrageando e é infectado por um esporo do fungo. Uma vez parasitada, a formiga não consegue se livrar do fungo, este por sua vez desenvolve-se dentro do corpo do hospedeiro e antes de matar induz a formiga a subir na vegetação. A altura que a formiga irá morrer é importante, pois isso está diretamente relacionado com a eficiência na dispersão dos esporos. Após a formiga subir na vegetação, o fungo induz ela a se fixar, através da mandíbula, nas nervuras da planta (Evans, H.C. e Samson, R.A. 1984). Após a fixação do hospedeiro na folha, ele é morto e inicia-se o processo de reprodução de fungo. Assim, com a liberação dos esporos, cria-se a chamada zona de morte, uma área onde as formigas que estão forrageando embaixo do local onde está ocorrendo a liberação dos esporos, apresentam uma alta probabilidade de serem parasitadas. Em termos de estratégia evolutiva, quando o fungo induz a formiga a subir na vegetação está maximizando as suas chances de reprodução, pois permite com que os esporos do fungo sejam liberados numa área maior do que se o hospedeiro morresse no solo, onde normalmente vive, sendo, portanto, adaptativo para o fungo, Andersen et al., (2009). O presente projeto, contribuiu para o conhecimento das interações entre formigas e fungos, em uma região pouca amostrada do Brasil, ele está de acordo com as diretrizes da UNILAB.

METODOLOGIA

As atividades foram desenvolvidas em várias áreas da Apa da Serra de Baturité localizada na região nordeste do Brasil, estado do Ceará, e possui os maiores remanescentes preservados em fragmentos da Mata Atlântica no Ceará. A grande relevância ecológica da Serra de Baturité está ligada a alta biodiversidade que tornam possíveis interações ecológicas importantes para populações de várias espécies como plantas, animais e fungos, que por sua vez, realizam serviços ecossistêmicos importantes para o equilíbrio e a manutenção destes ecossistemas. (CAVALCANTE, 2005). As áreas dentro da Apa da Serra de Baturité que foram feitas a pesquisa: Área 1: Sítio Gameleira, (4o19.057’S, 38o56.059’W) em Mulungu com altitude média de 800 m acima do nível do mar. Área 2: Trilha do Purgatório, localizada no Sítio São Luis (4 ° 13'84''S; 38 ° 53'39''W), município de Pacoti-CE. Para a avaliação da frequência de parasitismo na espécie *Camponotus renggeri* foi feita por busca ativa na vegetação e feita a coleta das formigas parasitadas pelo fungo *Ophiocordyceps* sp. No parasitismo de aranhas Macrophyes pacoti, foram feitas frequências mensais em dez parcelas contendo 10 m^2 além da busca ativa na vegetação seguida de coletas de alguns espécimes. Todas as formigas da espécie *C. renggeri* e aranhas *Macrophyes pacoti* foram procuradas ao longo de dois transectos de 1 km cada nas áreas amostradas. As coletas que foram realizadas aconteceram em ambos os lados de cada transecto, nas folhagens com média de 1m de altura, geralmente na parte abaxial da folha ou em galhos, apenas para formigas e aranhas que estavam parasitadas, apresentando o corpo de frutificação. Foram quantificadas e levadas para o laboratório de Ecologia e Evolução da Unilab. No laboratório, as formigas e aranhas parasitadas foram mantidas em recipientes plásticos contendo algodão e sílica gel para secagem. Foi feita a identificação taxonômica dos fungos e hospedeiros e parte do material coletado foi encaminhado para o laboratório de microbiologia da Unilab para o cultivo e isolamento fúngico feito em meio BDA para visualização de estruturas. Para a observação do desenvolvimento fúngico no interior de aranhas parasitadas, foram utilizados métodos de processamento histológico. Também foram observadas a posição e altura em que

estes hospedeiros foram encontrados parasitados e não parasitados em relação ao solo com auxílio de uma fita métrica dentro de 10 parcelas de 10m² na mata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos referentes a frequência do parasitismo para *Gibellula* em *Macrophyes pacoti*, foi obtido um total de 351 aranhas parasitas e 253 aranhas não parasitadas dentro de uma parcela de 10m² durante o período de setembro de 2018 a janeiro de 2019 na vegetação da Trilha do Purgatório no no Sítio São Luiz (4°13'84''S;38°53'39''W), município de Pacoti-CE. Os dados de altura das aranhas parasitadas foram comparados com os dados de altura das aranhas não parasitadas, e mostram claramente a presença de aranhas parasitadas nas porções da vegetação de maior altura quando comparadas a altura das aranhas não parasitadas que se encontravam nas porções de menor altura, com uma média total de 96 cm de altura para aranhas parasitadas e 65,6 cm de altura para aranhas não parasitadas (Figura 1). Dando continuidade à frequência das aranhas parasitadas e não parasitadas de todas as 10 parcelas espalhadas pela área amostrada, obtivemos um total de 2325 de indivíduos não parasitados, representando 52% do total de aranhas amostradas. Já para as aranhas parasitadas foram encontradas 2158, representando 48% do total de aranhas amostradas em todas as parcelas durante o período de um ano. O gráfico apresenta nitidamente um equilíbrio entre as populações de aranhas parasitadas e não parasitadas, apesar do número de aranhas não parasitadas ter se destacado um pouco maior que a de aranhas parasitadas. Levando em consideração que além do fungo *Gibellula*, existem outros inimigos naturais de aranhas, podemos inferir que o total de aranhas parasitadas se apresenta em um quantitativo elevado. Durante o período de setembro de 2018 a agosto de 2019 pudemos observar o quantitativo de aranhas parasitadas e de aranhas não parasitadas em todas as dez parcelas da área amostrada. É notável que essas populações flutuam de acordo com os meses. E isso se deve ao fato de estarem relacionadas aos períodos chuvosos e mais secos característicos da região, sendo as quadras chuvosas os períodos e que a mata se encontra com maior umidade entre alguns meses do primeiro semestre do ano, que apresentaram maior quantidade de aranhas parasitadas por *Gibellula* quando comparadas ao período mais seco do ano, onde as populações de aranhas parasitadas vão se mantendo até se inverterem observado entre o mês de setembro a dezembro (figura 2). No parasitismo envolvendo formigas, durante o período do primeiro semestre deste ano, foram coletados um total de 122 espécimes de formigas parasitadas por *Ophiocordyceps unilateralis*, também nos pontos mais úmidos e sombreados da trilha do Sítio Gameleira, (4º19.057’S, 38º56.059’W) no município de Mulungu-CE. Já no período do segundo semestre, devido à sazonalidade climática típica para a região, foi observada um mudança considerável na fisionomia da vegetação do local, apresentando aspectos mais secos, com vegetação mais aberta e menos sombreada, devido a isso, não foi observado a presença considerável do número de espécimes de formigas parasitadas. Já as coletas de formigas parasitadas feitas na Trilha do Purgatório, localizada no Sítio São Luiz (4 ° 13'84''S; 38 ° 53'39''W), município de Pacoti-CE, resultaram em 137 espécimes sendo classificadas de acordo com o estado de desenvolvimento do fungo, sendo 14 como "Fresh", 42 "Stroma", 42 "Mature", e 39 "Hyper-parasitized", mostrando que as populações de *Ophiocordyceps unilateralis* estão bem equilibradas devido ao hiperparasitismo observado nos dados obtidos. Desta forma, este projeto avançou os conhecimentos sobre tais interações, trazendo uma ampliação na área de distribuição geográfica destes fungos para a região nordeste através dos novos registros que estão sendo feitos. O trabalho até então revela a ocorrência dos fungos entomopatogênicos dos gêneros *Ophiocordyceps* e *Gibellula* em formigas e aranhas e suas relações ecológicas de parasitismo nas matas da região do maciço de Baturité-CE, mostrando que há uma manipulação no comportamento desses hospedeiros, no qual a umidade, sombreamento e a posição que estas formigas e aranhas parasitadas foram encontradas favorece a dispersão de esporos para novas formigas e aranha hospedeiras dos gêneros *Camponotus renggeri* e *Macrophyes pacoti*, respectivamente. Isso sugere que a manipulação do comportamento causado por estes fungos, faça parte intrinsecamente de seus ciclo. Os resultados do material processado para lâminas de histologia, apresentaram o desenvolvimento do fungo distribuídos por todas as partes internas do corpo das aranhas parasitadas. Além disso, para os resultados dos cultivos em placa, observamos que em diferentes substratos, os meios nutrientes, para fungos do gênero *Gibellula* crescem de forma modificada em relação a que encontramos em seus hospedeiros naturais, as

aranhas *Macrophyes pacoti*. Já para o crescimento dos cultivos em placa de *Ophiocordyceps*, não apresentou crescimento de estruturas reprodutivas. Confirmando que fungos como *Ophiocordyceps unilateralis* possuem uma alta especificidade em relação ao seu substrato, por necessitarem de fatores ambientais peculiares como temperatura, luz, umidade. Assim, o substrato e condições ambientais específicas para o seu desenvolvimento, são fatores determinantes para o seu crescimento. Foi observado que *Gibellula* sp. se desenvolve também em condições não naturais, mesmo apresentando apenas o crescimento de sua forma anamórfica. Contudo, se faz importante o aprimoramento destes protocolos de procedimento para o cultivo, desde a coleta até as análises finais, que deem continuidade da pesquisa devido a suas prospecções para aplicabilidade em novas tecnologias.

Figura 1: Altura (cm) em relação ao solo/meses. Fonte: Próprio autor.

Figura 2: Comparativo de aranhas encontradas em 10 parcelas durante 12 meses. Fonte: Próprio autor.

CONCLUSÕES

No Brasil, fungos como estes podem ser encontrados em florestas úmidas como, Mata Atlântica e Amazônia. Para o Nordeste, a ocorrência desses fungos raramente é documentada. Sendo o Ceará característico pela predominância de clima semiárido, tendo o bioma Caatinga em predominância, apresentam-se algumas zonas úmidas nas porções de maior altitude que se contrastam, destacando os brejos de altitude que concentram fragmentos de Mata Atlântica como a Região do Maciço de Baturité, onde apresentam recursos favoráveis para o desenvolvimento destes fungos. Este trabalho alcançou o seu objetivo, pois foi possível aumentar o conhecimento científico sobre a ocorrência da interação entre fungos e artrópodes relacionados a modificação de comportamento para o Nordeste do Ceará e descrever aspectos sobre sua história natural e fenótipos estendidos. Apesar deste conhecimento, interações entre fungos e artrópodes permanecem uma área ainda pouco estudada da biodiversidade dos fungos e provavelmente, os fungos abrigam um dos maiores reservatórios de diversidade taxonômica, funcional e genética pouco documentada. Trabalhos como estes são fundamentais para a conservação de áreas ameaçadas como a Mata Atlântica, mais ainda se tratando de remanescentes deste bioma no nordeste brasileiro, pois enaltecem sua riqueza importância ecológica. É importante que novos estudos sejam realizados para detalhar melhor essa interação e também outras interações envolvendo fungos e artrópodes na região do Maciço de Baturité. Desta forma, esperamos contribuir para os avanços nos estudos ecológicos e micológicos das interações entre esses dois importantes organismos que são fundamentais no estabelecimento das redes ecológicas e desempenham um papel crucial no bom funcionamento dos ecossistemas em hotspots de biodiversidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador professor Dr. Jober Sobczak e ao Grupo de Pesquisa em Ecologia e Recursos Naturais (Ecolab). À Funcap pela bolsa de iniciação científica, e aos proprietários do Sítio São Luís e Sítio Gameleira.

REFERÊNCIAS

Andersen, S., Hughes, D.A. Host specificity of parasite manipulation. Communicative & Integrative Biology, 5:2, 163-165, DOI:10.4161/cib.18712.2012.

Araújo J.P.M, Evans H.C, Geiser D.M, Mackay W.P, Hughes D.P. Unravelling the diversity behind the Ophiocordyceps unilateralis complex: Three new species of zombie-ant fungi from the BrazilianAmazon. 2014.
CAVALCANTE. Jardins suspensos no sertão. No alto de elevações abastecidas por chuvas que vêm do litoral. Rev. Scientific American, ed. 32 - Janeiro 2005.
Evans, H.C. Entomogenous fungi in the tropical forest ecosystems: an appraisal. Ecological Entomology. 7, 47 60. 1982.
Evans,H.C., S.L Elliot, D.P Hughes. Hidden diversity behind the Zombie-ant fungus Ophiocordyceps unilateralis: Four new species described from Carpenter ants in Minas Gerais, Brazil. PLoS ONE. 2011.
Hughes, D.P., Evans, H.C. Novel fungal disease in complex leaf-cutting ant societies. Ecological Entomology. 34(2):214220. 2009.
Van Pelt, A. The occurrence of a Cordyceps on the ant Camponotus pennsylvanicus (De Geer) in the Highlands, N.C. region. Journal of the Tennesee Academy of Sciences. 33(120-122). 1958