
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ÁREA: MICROBIOLOGIA APLICADA)**

Jaqueline Silva Pereira

**Comunidades de fungos em jardins de formigas cortadeiras com diferentes
hábitos de forrageamento**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Área: Microbiologia Aplicada).

Rio Claro

2014

JAQUELINE SILVA PEREIRA

Comunidades de fungos em jardins de formigas cortadeiras com diferentes hábitos de forrageamento

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Área: Microbiologia Aplicada).

Orientador: Prof. Dr. André Rodrigues
Coorientador: Prof. Dr. Fernando Carlos Pagnocca

Rio Claro

2014

Dedico este trabalho a Deus, minha família e
aos amigos que conquistei nessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Muitas vezes, durante a correria entre um experimento e outro, entre a escrita de um relatório e a leitura de um artigo, pouco tempo livre sobra nas nossas vidas e nos impede de dar atenção ao que realmente vale a pena. E agradecer é uma das coisas que acabam ficando esquecidas na correria do dia-a-dia. Portanto, hoje eu gostaria de agradecer as pessoas que de alguma maneira fizeram parte da minha vida pessoal e profissional durante esses dois anos.

Agradeço primeiramente a Deus por me acompanhar, me guiar e, principalmente, me manter forte durante esta jornada.

A minha família pelo apoio nas minhas decisões, pela força nos dias difíceis e pela distância superada com palavras de carinho e amor. Agradeço a minha mãe, meu pai e meu irmão que me deram força durante esse tempo, que me ajudaram financeiramente quando necessário e que deixaram de lado os seus sonhos pra que eu pudesse conquistar o meu. Agradeço ao meu noivo, Junior, que conversou comigo todos os dias para que eu não me sentisse sozinha, me proporcionando boas risadas, que me acompanhava durante as pesquisas de final de semana e que, principalmente, soube compreender a importância que o mestrado tinha na minha vida e respeitou esse tempo de ausência. Agradeço também minha sogra, sogro, cunhada, cunhado e meus sobrinhos que estiveram ao meu lado e também ajudaram que o meu sonho se tornasse realidade.

Ao Prof. Dr. André Rodrigues pela oportunidade de trabalhar em seu laboratório e conhecer pessoas maravilhosas. Agradeço por ter me mostrado o que é ser uma boa pesquisadora, como conduzir um bom trabalho científico, a buscar o melhor pra mim e, principalmente, pelos ensinamentos na bancada e na escrita. Agradeço também ao Prof. Dr. Fernando Carlos Pagnocca pela ajuda e opiniões valiosas sobre o projeto.

Aos meus amigos e colegas, Gabriela, Juliana, Sadala, Isabela, Cecília, Mariana Barcoto, Ana Maria, Viviane, Márcio, Alexandre, Lucas, Paixão, Virginia, Silvio, Sérgio, Francisco e Samuel pela força nos momentos difíceis e pela ajuda que de alguma forma possibilitou que esse trabalho se concluísse. Gostaria de agradecer em especial, Bárbara, Rafael, Tássio, Danilo, Quimi, Renata, Mariana Barato e Paola, que se tornaram especiais em minha vida e com certeza nunca irei esquece-los.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de mestrado e pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento desse projeto.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área: Microbiologia Aplicada) e a todos os docentes e profissionais envolvidos no programa.

Ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia e todos funcionários, em especial ao Laboratório de Microbiologia Industrial e Ambiental (LAMAI) e ao Laboratório de Ecologia e Sistemática de Fungos (LESF). Ao Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS), em especial o Laboratório de Microbiologia conduzido pelo Prof. Dr. Fernando Carlos Pagnocca, ao Prof. Vanderlei que ajudou no sequenciamento de DNA dos fungos e o Laboratório de Evolução Molecular (LEM). Ao Laboratório de Insetos Sociais-Praga da UNESP de Botucatu, em especial ao Dr. Nilson Satoru Nagamoto e ao Prof. Dr. Luiz Carlos Forti pelo apoio e suporte durante as coletas. Agradeço também aos escavadores Marcos e Senhor Nelson pois sem eles esse trabalho não teria material de estudo.

[...] e que nunca falte amor,
ainda que eu sinta dor,
que nunca me falte a sua mão...

(Mensagem Antiga – Cidade Verde Sounds)

RESUMO

As formigas cortadeiras mantêm um mutualismo obrigatório com fungos, os quais são cultivados como a principal fonte de alimento da colônia. Vários estudos ressaltam a presença de outros fungos nos ninhos desses insetos, além do fungo mutualista. Na tentativa de entender os fatores que influenciam na interação desses fungos com os jardins dessas formigas, o presente estudo avaliou duas espécies de cortadeiras que apresentam diferentes hábitos de forrageamento. Utilizando método dependente de cultivo aliado a uma abordagem polifásica de identificação, fungos foram isolados de fragmentos de jardins de oito ninhos de *Atta capiguara* (cortadeira de monocotiledôneas) e oito ninhos de *Atta sexdens rubropilosa* (cortadeira de dicotiledôneas). Os ninhos foram amostrados em dois períodos (2012 e 2013), em uma fazenda próxima ao município de Botucatu, SP. Dos 1.014 fragmentos de jardins de fungo amostrados de ambas as formigas, 623 (61,4%) apresentaram fungos não cultivados por esses insetos. Após a triagem morfológica e sequenciamento de DNA das morfoespécies obtidas foi possível recuperar 624 isolados de fungos, compreendendo 61 gêneros, 135 espécies e 10 isolados não identificados. *Trichoderma spirale* (18,5%), *Trichosporon chiarellii* (12,2%) e *Penicillium citrinum* (11,7%) foram as espécies mais abundantes em relação ao número total de isolados. As demais espécies ocorreram em menor abundância, incluindo o fungo *Escovopsis* sp., considerado parasita especializado dos ninhos das formigas cortadeiras. Utilizando métricas ecológicas, foi possível verificar que a riqueza e a diversidade das comunidades de fungos de *A. capiguara* e *A. sexdens rubropilosa* foram semelhantes; entretanto, diferenças marcantes foram observadas na composição de espécies de fungos entre as formigas. A análise de ordenação das comunidades (PCoA) sugere que tais diferenças estão relacionadas ao tipo de substrato vegetal coletado pelas formigas, possivelmente, devido ao modo diferenciado como as operárias cortam e preparam o substrato antes de incorporar no jardim de fungo. Entretanto, fatores adicionais como o período de coleta também podem explicar os resultados obtidos. No geral, os fungos isolados no presente estudo são considerados ubíquos, mas alguns podem ser específicos do jardim (por exemplo, *T. chiarellii*). Vários fungos encontrados neste estudo são considerados antagonistas do fungo cultivado pelas formigas. O presente estudo demonstrou a presença de vários fungos naturalmente encontrados nos ninhos desses insetos. Trabalhos futuros poderão avaliar o potencial desses micro-organismos como possíveis agentes de controle biológico dessas formigas pragas.

Palavras-chave: *Atta*. Mutualismo. Diversidade. Microfungos. Substrato vegetal. Jardim de fungo.

ABSTRACT

Leaf-cutting ants maintain a mutualistic relationship with fungi cultivated for food. In addition to the ant fungal cultivar, several studies reported the presence of other fungi in the fungus gardens of these insects. To understand the factors that drive the interaction of such alien fungi within fungus gardens, we evaluated the fungal communities associated with two leaf-cutting ant species that exhibit distinct foraging behaviors. Using culture-dependent techniques coupled with a polyphasic approach of species identification, we isolated fungi from garden fragments of eight nests of *Atta sexdens rubropilosa* (a dicot-cutting ant) and eight nests of *Atta capiguara* (a grass-cutting ant). All nests were sampled in two consecutive periods (2012 and 2013) in a private farm near to Botucatu, SP. Of the 1,014 garden fragments sampled from both ant species, 623 (61.4 %) were positive for fungi other than the ant cultivar. After morphotyping and DNA sequencing, we obtained 624 fungal strains comprising 61 genera, 135 species and 10 unidentified fungi. *Trichoderma spirale* (18.5%), *Trichosporon chiarellii* (12.2%) and *Penicillium citrinum* (11.7%) were the prevalent species regarding the total number of isolates. The remaining species were not abundant as well, including the specialized fungal parasite *Escovopsis* sp. Based on ecological metrics our analyses revealed similar richness and diversity of fungal species in gardens of both ants, however, conspicuous differences were observed in fungal species composition between fungus gardens of *A. sexdens rubropilosa* and *A. capiguara*. Principal coordinate analysis (PCoA) suggests such differences are related to the type of substrate foraged by workers and the distinct behaviors between ant species related to substrate preparation before incorporation to the fungus garden. Besides substrate type, additional factors such as collecting period may also explain the observed variation in community structure. Overall, fungi isolated in the present study are considered ubiquitous but some may be specific to the fungus gardens (for example, *T. chiarellii*). Many of the fungal species found in our work were reported as opportunistic pathogens associated with the fungus gardens. The present study revealed the wealth of fungi naturally found in gardens of leaf-cutters. Future studies may evaluate the potential of such micro-organisms as putative agents for the biological control of these pest ants.

Keywords: *Atta*. Mutualism. Diversity. Microfungi. Plant substrate. Fungus garden.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Aspecto geral dos jardins de fungo das formigas cortadeiras.....	15
Figura 2 – Fazenda próxima ao município de Botucatu, SP, na qual foram amostrados jardins de fungo de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (região A) e <i>Atta capiguara</i> (região B).....	25
Figura 3 – Aspecto geral dos ninhos e jardim de fungo de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (cortadeira de dicotiledônea).	27
Figura 4 – Aspecto geral dos ninhos e jardim de fungo de <i>Atta capiguara</i> (cortadeira de monocotiledônea).	27
Figura 5 – Proporção de fragmentos de jardim de fungo de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> e <i>Atta capiguara</i> com a presença de fungos não cultivados pelas formigas; a) Em relação ao número total de fragmentos amostrados (n= 323 para <i>A. capiguara</i> ; n= 300 para <i>A. sexdens rubropilosa</i>). b) Em relação aos meios de cultivo utilizados.	34
Figura 6 - Aspectos morfológicos (macro e micromorfologia) do fungo <i>Trichoderma spirale</i> , isolado dos jardins de <i>Atta capiguara</i> e <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	43
Figura 7 - Aspectos morfológicos (macro e micromorfologia) do fungo <i>Penicillium citrinum</i> , isolado dos jardins de <i>Atta capiguara</i>	44
Figura 8 - Aspectos morfológicos (macro e micromorfologia) do fungo <i>Trichosporon chiarellii</i> , isolado dos jardins de <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	45
Figura 9 - Aspectos morfológicos (macro e micromorfologia) do fungo <i>Escovopsis</i> sp., isolado dos jardins de <i>Atta capiguara</i> e <i>Atta sexdens rubropilosa</i>	46
Figura 10 – Índices de diversidade e estimador de riqueza de espécies de fungos isolados de jardins de <i>Atta capiguara</i> e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> . Médias seguidas de erro padrão.	47
Figura 11 – Curvas de rarefação demonstrando a riqueza de espécies de fungos provenientes de jardins de fungo. a) entre <i>Atta capiguara</i> e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> . b) entre os anos de coleta para ambas as espécies de formigas.	48
Figura 12 – Compartilhamento de táxons de fungos encontrados nos jardins de <i>Atta capiguara</i> e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> . O número indica a quantidade de táxons por área; o número entre parênteses indica o número total de isolados.	50
Figura 13 – Análise de coordenadas principais (PCoA), demonstrando os a estrutura das comunidades de fungos encontradas nos jardins de <i>Atta capiguara</i> (n= 8 ninhos) e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (n= 8 ninhos).	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados referentes à coleta de jardins de fungo de duas espécies de formigas cortadeiras encontradas em uma fazenda próxima a Botucatu, SP. <i>Atta capiguara</i> (AC) foi amostrada no pasto, já <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (AS) foi amostrada na plantação de eucalipto.	26
Tabela 2 – Fórmula para cálculos do estimador de espécies Chao 1, dos índices de Simpson, Shannon, Bray-Curtis, Sorensen e Jaccard.	32
Tabela 3 – Distribuição dos táxons e origem dos fungos isolados de jardins de <i>Atta capiguara</i> (AC) e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> (AS) amostradas em dois períodos. Os valores representam o número de isolados obtidos, seguido da abundância (em %) em relação ao total de isolados obtidos.	36
Tabela 4 – Índices de compartilhamento de espécies de fungos isolados de jardins de <i>Atta capiguara</i> e <i>Atta sexdens rubropilosa</i> , em dois períodos de coleta.	49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 ESTADO DA ARTE	14
2.1 <i>Formigas da tribo Attini e o cultivo de fungos</i>	14
2.2 <i>O fungo parasita Escovopsis</i>	18
2.3 <i>Bactérias associadas às formigas</i>	19
2.4 <i>Fungos encontrados nos jardins das formigas da tribo Attini</i>	20
3 OBJETIVO	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 <i>Coleta dos ninhos e preparação das amostras</i>	25
4.2 <i>Isolamento e preservação dos fungos</i>	28
4.3 <i>Identificação dos isolados</i>	28
4.3.1 <i>Uso de marcadores morfológicos</i>	28
4.3.2 <i>Uso de marcadores moleculares</i>	29
4.4 <i>Análise das comunidades de fungos</i>	30
5 RESULTADOS	33
5.1 <i>Prevalência de fungos nos jardins de formigas cortadeiras</i>	33
5.2 <i>Isolamento e identificação dos fungos utilizando abordagem polifásica</i>	34
5.3 <i>Abundância de fungos isolados dos jardins de formigas cortadeiras</i>	35
5.4 <i>Riqueza, diversidade e composição das comunidades de fungos nos jardins das formigas cortadeiras</i>	47
6 DISCUSSÃO	52
7 CONCLUSÕES	59
8 PERSPECTIVAS	60
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICES	80

1 INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras pertencem à tribo Attini (Hymenoptera: Formicidae) e apresentam como principal característica o cultivo de fungos como alimento. A associação entre as formigas e o fungo *Leucoagaricus gongylophorus* (Basidiomycota: Agaricales) é considerada um mutualismo, pois ambos os organismos apresentam adaptações recíprocas que garantem a estabilidade da associação. As operárias coletam folhas e flores frescas como substrato para o crescimento do fungo e, em contrapartida, *L. gongylophorus* degrada o substrato vegetal e serve como a principal fonte de nutrientes para as formigas. O fungo mutualista é cultivado pela maioria das espécies de formigas cortadeiras no interior de câmaras subterrâneas, em uma estrutura conhecida como “jardim de fungo”, constituído por micélio fúngico e o substrato vegetal.

Vários aspectos da associação formiga-fungo foram desvendados nos últimos anos. É sabido que, além do fungo mutualista, outros micro-organismos também podem ser encontrados nos jardins de fungo desses insetos. Dentre eles, até o momento, destacam-se bactérias, fungos filamentosos e leveduras, os quais compõem uma complexa microbiota associada à matriz do jardim de fungo.

Embora essas descobertas permitiram compreender que o jardim dessas formigas abriga um consórcio microbiano, pouco é sabido sobre o papel que essas comunidades acessórias desempenham nesse ambiente. Os micro-organismos que compõem tal microbiota podem ser provenientes do solo adjacente às colônias, do substrato vegetal coletado para o cultivo do fungo ou mesmo encontrados no próprio corpo das operárias. Assim, estudos sugerem que alguns desses micro-organismos podem ser considerados antagonistas do fungo cultivado pelas formigas, como é o caso de fungos do gênero *Escovopsis*, somente encontrados associados aos jardins de fungo.

Estudos envolvendo o levantamento da biodiversidade microbiana são de grande importância por permitirem uma melhor compreensão da dinâmica de populações e das funções desempenhadas no ambiente. Vários estudos que focaram no entendimento da diversidade de fungos encontrados nos jardins colocaram em evidência diversas espécies de fungos; contudo, não avaliaram os possíveis fatores responsáveis pela dinâmica dessas comunidades. Com o intuito de entender a dinâmica da interação desses fungos com os jardins das formigas cortadeiras, o presente trabalho considerou a seguinte pergunta: Jardins de fungo de formigas cortadeiras que utilizam diferentes substratos vegetais no cultivo de *L. gongylophorus* apresentam comunidades de fungos diferentes? Para responder a esta questão, foram avaliados

oito ninhos de *Atta capiguara* (cortadeira de monocotiledôneas) e oito ninhos de *Atta sexdens rubropilosa* (cortadeira de dicotiledôneas) amostrados durante dois anos consecutivos.

O presente estudo revelou que as comunidades de fungos encontradas nos jardins de formigas cortadeiras compreendem várias espécies de origens diversas, a saber: solo, partes de plantas, ar e o próprio jardim de fungo. Além disso, a análise da estrutura da comunidade indicou que o substrato vegetal forrageado pelas operárias e o período de coleta podem influenciar na composição das comunidades de fungos.

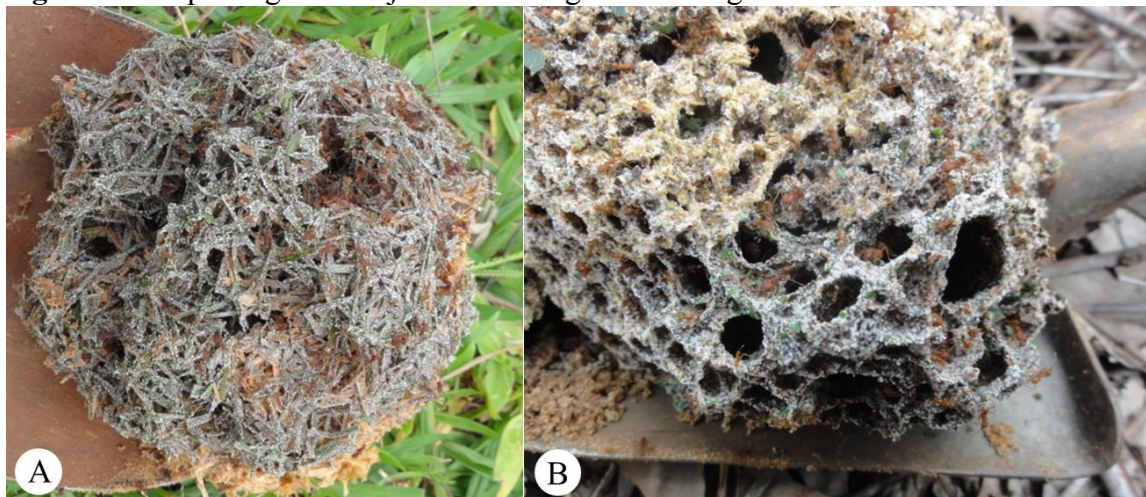
2 ESTADO DA ARTE

2.1 *Formigas da tribo Attini e o cultivo de fungos*

A tribo Attini (Hymenoptera: Formicidae: subfamília Myrmicinae) reúne formigas que dependem do cultivo de fungos para alimentação (SILVA et al., 2003; SCHULTZ; BRADY, 2008; SCHIØTT et al., 2010). É provável que esta associação tenha se originado nas florestas tropicais da América do Sul, mais especificamente na bacia Amazônica, há mais de 50 milhões de anos (MAYHÉ-NUNES; JAFFÉ, 1998; SCHULTZ; BRADY, 2008; SOLOMON et al., 2008). A tribo compreende 16 gêneros distribuídos em aproximadamente 256 espécies (BRANDÃO; MAYHÉ-NUNES; SANHUDO, 2011; SOSA-CALVO et al., 2013). Todos os membros dessa tribo, incluindo as formigas cortadeiras, ocorrem exclusivamente no continente americano, abrangendo desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina; com exceção do Chile (MAYHÉ-NUNES; JAFFÉ, 1998; FERNÁNDEZ, 2003; DELABIE et al., 2011).

O fungo mutualista é cultivado pelas formigas no “jardim de fungo”, uma estrutura composta por micélio do fungo e fragmentos de substrato vegetal forrageado pelas operárias (WEBER, 1972, Figura 1). A associação formiga-fungo é compreendida pelas bases nutricionais que mantêm os simbiossios vivendo conjuntamente. O fungo é capaz de produzir enzimas que degradam o substrato vegetal, utilizando-o no seu crescimento, além de estocar substâncias nutritivas que serão utilizadas como alimento pelas formigas. Em contrapartida, as formigas fornecem o substrato vegetal para o cultivo do fungo, promovem o seu crescimento e dispersão (WEBER, 1966; SILVA et al., 2003; 2006; RONHEDE; BOOMSMA; ROSENDHAL, 2004; DINIZ; BUENO, 2010).

Figura 1 – Aspecto geral dos jardins de fungo das formigas cortadeiras.



A) Jardim de fungo de *Atta capiguara*, cortadeira de monocotiledôneas, com a presença de operárias. B) Jardim de fungo da *Atta sexdens rubropilosa*, cortadeira de dicotiledôneas, com a presença de operárias. Note em A) a presença de fragmentos foliares inteiros de gramíneas incorporadas no jardim de fungo. Fonte: Elaboradas pela autora.

Segundo Schultz e Brady (2008), a fungicultura das formigas da tribo Attini pode ser dividida em cinco sistemas de agricultura: 1) Agricultura das Attini basais (ou “primitivas”), praticada pela maioria das espécies da tribo. Essas formigas cultivam fungos da tribo *Leucocoprineae* (*Basidiomycota*: *Agaricales*), sendo que estes também são encontrados fora do jardim de fungo (mantêm vida livre). 2) Agricultura praticada pelas formigas do “grupo *Apterostigma pilosum* Mayr”, que desenvolveram o cultivo de um fungo pertencente à família *Pterulaceae* (*Basidiomycota*: *Agaricales*). 3) Agricultura de leveduras, praticada pelas espécies do “grupo *Cyphomyrmex rimosus* (Spinola)”, os quais cultivam fungos da tribo *Leucocoprineae*, e que também podem ser encontrados de vida livre. 4) Agricultura das formigas Attini derivadas, praticada por dois gêneros de formigas, *Sericomyrmex* e *Trachymyrmex*, que cultivam um fungo da tribo *Leucocoprineae*. 5) Agricultura das formigas cortadeiras, praticada pelos gêneros *Acromyrmex* e *Atta*, que cultivam um único fungo derivado. Diferente das demais espécies de formigas que utilizam substrato vegetal seco, cadáveres e fezes de insetos para o cultivo de fungo, as formigas cortadeiras utilizam partes frescas de plantas para manutenção da cultura do fungo mutualista (SCHULTZ; BRADY, 2008; MEHDIABADI; SCHULTZ, 2009; HÖLLDOBLER; WILSON, 2011). Além disso, o fungo mutualista das formigas cortadeiras se diferencia dos demais por apresentar nas extremidades das hifas estruturas denominadas gongilídeos, vesículas ricas em nutrientes utilizadas como principal fonte de alimento pelas larvas (WEBER, 1956; 1972; QUINLAN; CHERRETT, 1979; SCHULTZ; BRADY, 2008; DINIZ; BUENO, 2010).

As formigas cortadeiras são conhecidas como os herbívoros dominantes do Novo Mundo, devido à elevada quantidade de folhas que cortam (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). Quando ocorrem em áreas agrícolas, as formigas são consideradas pragas e ocasionam grandes prejuízos econômicos (WEBER, 1972; FOWLER; SILVA; SAES, 1986, DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES, 2014). No Brasil, *Atta sexdens rubropilosa* é a espécie mais comum e popularmente conhecida como saúva-limão (DELLA LUCIA; FOWLER, 1993). Vários estudos voltados para o controle dessa formiga estão em andamento, incluindo a busca por micro-organismos naturalmente associados aos ninhos desses insetos (DELLA LUCIA; SOUZA, 2011; DELLA LUCIA; GANDRA; GUEDES, 2014).

Por muitos anos a identificação do fungo mutualista das formigas cortadeiras permaneceu obscura, pois raramente o fungo desenvolve as estruturas de reprodução sexuada (cogumelos) na natureza. Entretanto, os poucos relatos da formação de tais estruturas permitiram aos micologistas identificá-lo como um basidiomiceto da ordem *Agaricales*, denominado *L. gongylophorus* (SINGER, 1986; MUELLER, 2002).

Formigas dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* de diferentes regiões do continente americano cultivam uma mesma espécie do fungo mutualista há, no mínimo, 2 a 4 milhões de anos (SILVA-PINHATI et al., 2004; MIKHEYEV; MUELLER; ABBOT, 2006; 2010; SCHULTZ; BRADY, 2008). Isso foi estimado com o uso de marcadores moleculares por Mikheyev, Mueller e Abbot (2006), o que sugere uma antiga história de coevolução entre esses organismos. Foi observado que a mesma colônia de formiga cortadeira (a qual pode apresentar milhares de câmaras preenchidas com jardim de fungo) hospeda apenas uma única linhagem do fungo mutualista (POULSEN; BOOMSMA, 2005; MUELLER et al., 2010). Portanto, o jardim das formigas é considerado uma monocultura do fungo. Seal, Gus e Mueller (2012) sugerem que a manutenção da monocultura esteja relacionada a uma interação íntima entre a formiga e o fungo mediada por compostos específicos secretados pelo fungo e reconhecidos pelas operárias. Assim, o sucesso dessa associação deve-se, principalmente, pela complexa organização social das formigas e um eficiente sistema de comunicação (HÖLLDOBLER, 1995).

O fato de cada colônia associar-se com uma única linhagem do fungo está relacionado com a reprodução das formigas. Durante o período reprodutivo, fêmeas (içás) e machos (bitus) alados abandonam os ninhos e realizam o voo nupcial (ou revoada), momento no qual ocorre a fecundação das fêmeas (AUTUORI, 1941; HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). Após o acasalamento, as futuras rainhas retornam ao solo para iniciar as novas colônias (ARAÚJO et al., 2011). Durante a revoada, as içás transportam na cavidade infrabucal um fragmento do jardim de fungo da colônia parental. Este fragmento servirá como inóculo inicial para a formação de um

novo jardim de fungo da colônia incipiente (MUELLER, 2002). Esse transporte é conhecido como transmissão vertical do fungo, o que garante que uma nova colônia apresente apenas uma linhagem do fungo.

Transmissão vertical do fungo cultivado pelas formigas é uma regra geral na tribo Attini, contudo existem exceções, pois a transmissão horizontal (troca de fungos mutualistas entre espécies ou gêneros de formigas diferentes) pode ocorrer tanto em formigas Attini basais, quanto nas derivadas (MUELLER; REHNER; SCHULTZ, 1998; 2011; GREEN; MUELLER; ADAMS, 2002; MIKHEYEV; MUELLER; ABBOT, 2006, MIKHEYEV; MUELLER; BOOMSMA, 2007; MEHDIABADI et al., 2012). Os mecanismos de transmissão horizontal sugeridos pelos pesquisadores envolvem, principalmente, a aquisição de fungos de outras colônias, quando uma determinada colônia perde o jardim inicial. Esta perda pode ser devida a vários fatores, dentre eles a presença de parasitas nos jardins de fungo (BOT; REHNER; BOOMSMA, 2001).

Além de promover o crescimento do parceiro fúngico, as formigas desenvolveram várias estratégias para combater outros micro-organismos que possam prejudicar a cultura do fungo. Sendo assim, as operárias processam o substrato vegetal antes de incorporá-lo no jardim de fungo (FERNÁNDEZ-MARÍN et al., 2006, 2009). Esse processo envolve vários comportamentos de limpeza do substrato a fim de remover micro-organismos indesejáveis (CURRIE; STUART, 2001; VAN BAEL et al., 2009) e facilitar a colonização do fungo mutualista (ANDRADE et al., 2002). Além disso, para aumentar a eficiência da colonização, as operárias inoculam maciçamente o micélio do fungo mutualista no material recém-adicionado ao jardim (BASS; CHERRETT, 1994). As formigas também aplicam no substrato secreções antimicrobianas produzidas pelas glândulas mandibulares e metapleurais (FERNÁNDEZ-MARÍN et al., 2006; 2009; RODRIGUES et al., 2008a; YEK et al., 2012), bem como demonstram comportamentos específicos de higiene da colônia (CURRIE; STUART, 2001).

Na busca de material adequado para o cultivo do fungo, durante a evolução, determinadas espécies de cortadeiras adaptaram-se ao corte de diferentes grupos de plantas (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; HUBBEL; WIEMER, 1983; NORTH; JACKSON; WOWSEN, 1997; BEATTIE; HUGHES, 2003; DE FINE LICHT; BOOMSMAN, 2010). Espécies de formigas cortadeiras que coletam plantas dicotiledôneas para forrageamento, cortam o substrato em pequenos pedaços antes da incorporação no jardim de fungo; já as cortadeiras que utilizam monocotiledôneas, fragmentam pouco as folhas e incorporam pedaços maiores de substrato vegetal nos jardins (FOWLER; ROBINSON; 1979). *Atta capiguara*, uma formiga cortadeira de monocotiledôneas, apresenta comportamentos como raspar e lamber regiões do

substrato, posteriormente inoculando o fungo mutualista somente nessas regiões (GARCIA, 2005). Diferentemente, as formigas cortadeiras de dicotiledôneas, por exemplo, *A. sexdens rubropilosa*, transformam o material em pequenos fragmentos formando uma massa, na qual é inoculado o fungo em toda a sua extensão. Essas diferenças marcantes no preparo do substrato são aparentes no aspecto geral dos jardins de fungo (Figura 1).

2.2 O fungo parasita *Escovopsis*

Além do fungo mutualista, vários micro-organismos foram relatados como simbioses dos jardins das formigas. Dentre eles incluem bactérias, fungos filamentosos e leveduras. Alguns desses micro-organismos são considerados apenas transitórios nos jardins. Entretanto, fungos do gênero *Escovopsis* são considerados parasitas especializados do fungo cultivado pelas formigas da tribo Attini (CURRIE; MUELLER; MALLOCH, 1999). Várias evidências sugerem que *Escovopsis* coevoluiu com as formigas e o fungo desses insetos durante 50 milhões de anos (CURRIE et al., 2003a).

Escovopsis sp. é considerado um micoparasita que se nutre das hifas do fungo mutualista (REYNOLDS; CURRIE, 2004). Tal parasita é encontrado nos jardins de quase todos os gêneros de formigas da tribo Attini, com ocorrência variando entre 11 a 75% dos ninhos amostrados, exceto para ninhos das espécies do grupo *Cyphomyrmex rimosus*, onde não existem evidências da presença de *Escovopsis* sp. (CURRIE; MUELLER; MALLOCH, 1999; CURRIE, 2001; RODRIGUES et al., 2005; 2008b; GERARDO; MUELLER; CURRIE, 2006).

Inicialmente, apenas duas espécies do gênero foram descritas: *Escovopsis weberi* (MUCHOVEJ; DELLA LUCIA, 1990) e *Escovopsis aspergilloides* (SEIFERT; SAMSON; CHAPELA, 1995), porém, devido a grande diversidade morfológica apresentada por isolados deste gênero, três novas espécies foram recentemente descritas: *Escovopsis lentecrescens*, *Escovopsis microspora* e *Escovopsis moelleri*, incluindo uma redefinição da descrição original de *E. weberi* (AUGUSTIN et al., 2013). Adicionalmente, Augustin et al. (2013) descreveram um novo gênero de fungo encontrado no jardim de *Acromyrmex* sp., com características semelhantes à de *Escovopsis* sp. O fungo denominado, *Escovopsioides nivea*, foi relatado por outros autores em jardins de formigas Attini, no entanto, a função desempenhada por esse fungo ainda é desconhecida.

Escovopsis sp. ocasiona um impacto negativo nos ninhos, levando em alguns casos, à morte do mesmo (CURRIE; MUELLER; MALLOCH, 1999; CURRIE, 2001; CURRIE; BOT; BOOMSMA, 2003). Ninhos infectados por esse fungo apresentam menor biomassa de jardim de

fungo e uma diminuição na formação de operárias e pupas (CURRIE, 2001). É sabido que linhagens de *Escovopsis* que infectam os ninhos das formigas cortadeiras não apresentam especificidade em relação ao fungo cultivado pelos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (pois cultivam a mesma espécie de fungo mutualista); de modo que diferentes espécies de formigas desses gêneros podem ser infetadas com a mesma linhagem do parasita (TAERUM et al., 2007). Conforme observado por Taerum, Cafaro e Currie (2010), ninhos de formigas cortadeiras podem apresentar infecções múltiplas por *Escovopsis*, reforçando a baixa especificidade desse parasita dentro do grupo das formigas cortadeiras.

Devido a ação de *Escovopsis* sobre o fungo mutualista, Folgarait et. al. (2011) sugeriram o uso desse fungo no controle biológico das formigas cortadeiras. Em experimentos *in vitro* foi descoberto que o parasita é atraído quimicamente por substâncias produzidas pelo fungo mutualista (GERARDO et al., 2006), o que garante a especificidade para ser utilizado como um agente de controle biológico. Contudo, as formigas cortadeiras desenvolveram estratégias comportamentais de higiene tanto do jardim de fungo, quanto do próprio corpo para evitar que *Escovopsis* ou outros micro-organismos possam contaminar e prejudicar o jardim de fungo (CURRIE; STUART, 2001; FERNÁNDEZ-MARÍN; ZIMMERMAN; WCISLO, 2004; RODRIGUES et al., 2008a; PAGNOCCA; RODRIGUES; BACCI JÚNIOR, 2011; YEK; BOOSMAN; POULSEN, 2012). Esses comportamentos auxiliam a minimizar os efeitos que poderiam ser causados à colônia e podem inviabilizar alternativas do uso no controle biológico (CURRIE; STUART, 2001).

2.3 Bactérias associadas às formigas

Para lidar com o parasita *Escovopsis*, as formigas mantêm uma associação com bactérias do gênero *Pseudonocardia* (CURRIE et al., 1999; CAFARO; CURRIE, 2005). Essas bactérias são consideradas como terceiro membro da simbiose das formigas cortadeiras (CURRIE et al., 1999). *Pseudonocardia* sp. são encontradas na cutícula das operárias e, supostamente, secretam substâncias antimicrobianas contra o fungo parasita estimulando também o desenvolvimento do fungo mutualista (CURRIE et al. 1999). Inicialmente, foram identificadas como pertencentes ao gênero *Streptomyces*, entretanto, a identificação foi revista e foram reclassificadas como pertencentes ao gênero *Pseudonocardia* (CURRIE et al., 2003b). Essas bactérias podem ser encontradas em diversos locais do exoesqueleto das operárias de vários gêneros e formigas Attini; porém, é raramente encontrada no tegumento de *Atta* sp.

(CURRIE et al., 1999; ZHANG; POULSEN; CURRIE, 2007; MUELLER et al., 2008; OH et al., 2009; SEN et al., 2009; MUELLER, 2012; MARSH et al., 2013).

Ao contrário do que diz o trabalho de Currie et al. (1999), existem relatos de algumas linhagens de *Pseudonocardia* sp. que apresentaram atividade antagonista frente ao fungo mutualista e não apresentaram atividade inibitória para *Escovopsis* sp. (SEN et al., 2009). Posteriormente, foi sugerido que tais bactérias não atuam diretamente na defesa contra *Escovopsis* sp., mas sim na de defesa contra fungos entomopatogênicos (MATTOSO; MOREIRA; SAMUELS, 2012; MUELLER, 2012), sugerindo que essas bactérias não atuem especificamente contra *Escovopsis* sp. Recentemente, teorias evolutivas foram propostas para explicar como as formigas da tribo Attini podem abrigar múltiplas bactérias simbiotes relacionadas à defesa da colônia (ANDERSEN et al., 2013).

Em um estudo recente, Meirelles et al. (2014) demonstraram que a atividade de inibição de estirpes de *Pseudonocardia* isoladas a partir de ninhos de *Trachymyrmex*, não está restrita a espécie de parasita encontrada em ninhos deste gênero de formiga. Constataram também que outras actinobactérias seriam mais eficazes na inibição de *Escovopsis* do que a bactéria considerada como a parceira das formigas. Este trabalho, portanto, demonstra que *Pseudonocardia* associada à *Trachymyrmex* possuem um amplo espectro de atividade.

Leveduras negras do gênero *Phialophora* também foram encontradas associadas às formigas da tribo Attini, e foram propostas como um outro membro da simbiose com as formigas (LITTLE; CURRIE, 2007). Essas leveduras negras são encontradas nas mesmas regiões da cutícula das formigas, onde reside *Pseudonocardia* sp. (LITTLE; CURRIE, 2007). Aparentemente, essas leveduras são antagonistas de *Pseudonocardia* sp., visto que em experimentos *in vitro* a bactéria apresenta crescimento reduzido frente às leveduras negras. Devido a tal efeito, foi proposto que as leveduras negras podem comprometer a defesa das formigas frente ao parasita *Escovopsis* (LITTLE; CURRIE, 2008).

2.4 Fungos encontrados nos jardins das formigas da tribo Attini

Os jardins de fungo das formigas Attini estão sujeitos à exploração por vários micro-organismos que podem encontrar nesse ambiente condições favoráveis ao seu desenvolvimento. Mesmo com o trabalho contínuo das operárias para manter os ninhos livres de micro-organismos indesejáveis, muitos deles resistem e permanecem nos jardins de fungo, podendo prejudicar o crescimento do fungo mutualista, representando assim uma ameaça à sobrevivência da colônia (PAGNOCCA; RODRIGUES; BACCI JÚNIOR, 2011). Portanto, além de *Escovopsis*, outros

fungos podem ser encontrados nos jardins das formigas cortadeiras (MÖLLER, 1893; FISHER et al., 1996; RODRIGUES et al., 2005; 2008b; 2010; PAGNOCCA; MASIULIONIS; RODRIGUES, 2012; RIBEIRO et al., 2012; COBLENTZ; VAN BAEL, 2013). Esses levantamentos demonstraram a diversidade de micro-organismos nesse ambiente e as suas prováveis funções.

Möller (1893) foi o primeiro a descrever a existência de fungos filamentosos nos jardins das formigas Attini. Por sinal, um dos fungos filamentosos registrados por Alfred Möller foi posteriormente nomeado de *Escovopsis*. O autor também forneceu informações sobre a ocorrência de *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. no jardim de fungo de *Acromyrmex disciger*. Craven, Dix e Michaels (1970) foram os primeiros pesquisadores a relatarem a ocorrência de leveduras em ninhos de formigas Attini. O estudo avaliou jardins de fungo de *Atta cephalotes* e *Acromyrmex octospinosus*, onde observaram a existência de uma grande quantidade de células leveduriformes, além de bactérias. Levantamentos posteriores de leveduras encontradas nos jardins de formigas da tribo Attini revelaram novas espécies para a ciência: *Cryptococcus haglerorum* (MIDDELHOVEN et al., 2003), *Blastobotrys attinorum* (CARREIRO et al., 2004), e *Trichosporon chiarellii* (PAGNOCCA et al., 2010) e, recentemente, *Starmerella aceti* (MELO et al., 2014).

Em relação ao papel que os fungos desempenham nos ninhos, Poulsen e Currie (2006) argumentam que tais micro-organismos são apenas transitórios e não desempenham nenhuma função nos ninhos. Por outro lado, alguns estudos sugerem que esses fungos não são apenas micro-organismos inertes, mas podem ser importantes nos jardins dessas formigas (RODRIGUES et al., 2008b, 2009; MENDES et al., 2012; PAGNOCCA; MASIULIONIS; RODRIGUES, 2012). Por exemplo, *Fusarium solani*, *Trichoderma harzianum* e *Syncephalastrum racemosum* são fungos considerados oportunistas dos ninhos (PAGNOCCA; MASIULIONIS; RODRIGUES, 2012), que possivelmente podem ocasionar um impacto negativo nas colônias. Outro provável papel desempenhado por fungos, especificamente as leveduras, seria a produção de micocinas (ou toxinas *killer*) envolvidas na regulação das populações microbianas nos ninhos (CARREIRO et al., 2002). Além disso, foi proposto por Rodrigues et al. (2009) que leveduras podem ter um papel protetor contra fungos filamentosos encontrados na cultura do fungo mutualista, incluindo *Escovopsis* sp. e *S. racemosum*.

Ainda sobre o papel das leveduras, Mendes et al. (2012) estudando o perfil enzimático relacionado à degradação de polissacarídeos, avaliaram a capacidade de 82 estirpes de leveduras isoladas de jardins de fungo de diferentes espécies de formigas cortadeiras. Os autores encontraram uma elevada proporção de estirpes degradadoras de polissacarídeos vegetais, e

sugeriram que esses micro-organismos podem contribuir na degradação do material vegetal presente no jardim de fungo. Os produtos da degradação resultariam na disponibilização de nutrientes que auxiliariam no crescimento do fungo mutualista. Além disso, algumas das leveduras poderiam auxiliar na detoxificação de compostos tais como o ácido galacturônico, o qual não é assimilado pelo fungo mutualista e, potencialmente, prejudicial para as formigas (SILVA et al., 2003).

Em relação à origem dos fungos encontrados nos jardins das formigas da tribo Attini, alguns deles podem ser encontrados no substrato vegetal forrageado pelas operárias (RODRIGUES et al., 2008b; 2011; 2013; GUEDES; ATTILI-ANGELIS; PAGNOCCA, 2012; PAGNOCCA; MASIULIONIS; RODRIGUES, 2012). Dada a grande diversidade de fungos endofíticos e o fato das formigas cortadeiras forragearam uma grande quantidade de substrato vegetal, é inevitável que esses insetos entrem em contato com várias espécies de endofíticos (ARNOLD, 2007). As interações entre o fungo mutualista, as formigas e os fungos endofíticos apenas recentemente recebeu atenção (VAN BAEL; ESTRADA; WCISLO, 2011). Por exemplo, fungos conhecidos como endofíticos foram isolados a partir de fragmentos de folhas presentes nos ninhos de *Acromyrmex* sp. Outro estudo demonstrou que a composição de endofíticos em jardins de formigas varia de acordo com diferentes condições, tal como uma mudança de espécies de plantas utilizadas como substrato (FISHER et al., 1996).

Van Bael, Seid e Wcislo (2012) estudando jardins de *Atta colombica* em laboratório demonstraram que, embora a abundância de endofíticos tenha desempenhado um papel significativo na forma como as formigas processam o material vegetal, a diversidade de fungos endofíticos encontrados nas folhas não influenciou no processamento. Os autores observaram também que as formigas demoram mais tempo para processar as folhas com elevada abundância, em relação às folhas que continham baixa abundância de endofíticos. Em outro estudo onde não foi dada uma escolha de substrato para as formigas, operárias de *A. colombica* levaram mais tempo para cortar e remover as folhas com elevada carga de fungos endofíticos (VAN BAEL et al., 2009).

Assim como nas folhas, o solo também possui uma grande diversidade de fungos (HAWKSWORTH et al., 1995). Por exemplo, o solo adjacente aos formigueiros pode ser uma fonte importante desses micro-organismos, já que esses podem ser transportados pelas operárias até o jardim de fungo (HUGHES et al., 2004). Rodrigues et al. (2011), estudando três espécies de formigas, revelaram que fungos isolados dos jardins são, em grande parte, pertencentes a microbiota do solo e das plantas que entram em contato com as formigas. Em outro estudo,

Rodrigues et al. (2013) demonstraram que o solo adjacente e o solo distante das colônias é um dos reservatórios naturais desses fungos.

Posteriormente, Barbosa et al. (2003) e Barbosa (2004) relataram uma lista abrangente de espécies de fungos filamentosos presentes no jardim de fungo de *Atta laevigata* do nordeste do Brasil, e concluíram que o gênero *Trichoderma* foi prevalente. Rodrigues et al. (2005) estudaram sistematicamente a ocorrência desses fungos em ninhos de *A. sexdens rubropilosa* tratados com inseticidas. Os gêneros *Syncephalastrum*, *Fusarium* e *Trichoderma*, foram os prevalentes nos ninhos submetidos a inseticidas no laboratório. Em estudos posteriores, Rodrigues et al. (2008b, 2011, 2013) registraram diferentes espécies de fungos filamentosos, a saber: *Fusarium oxysporum*, *Cladosporium cladosporioides* e *Gongronella butleri*, algumas delas encontradas no solo e outras associadas às plantas, o que caracteriza uma origem diversa desses micro-organismos nos ninhos das formigas.

Finalmente, Rodrigues et al. (2011) coletaram jardins de fungo das formigas *Cyphomyrmex wheeleri*, *Trachymyrmex septentrionalis* e *Atta texana* durante o período de um ano, e observaram que as comunidades de fungos presentes nos jardins está relacionada, provavelmente, com o substrato utilizado por esses insetos ou com o local de coleta. Contudo, os autores não puderam afirmar sobre o efeito desses fatores nas comunidades, pois não foram realizados experimentos voltados para essa questão.

Considerando o último trabalho, um estudo sistemático é necessário para avaliar se as comunidades de fungos nos jardins são de fato influenciadas pelo substrato vegetal forrageado pelas operárias. Nesse contexto é que o presente trabalho propôs investigar as comunidades de fungos encontradas nos jardins das formigas cortadeiras, amostradas em uma mesma localidade, que utilizam diferentes substratos vegetais para o cultivo do fungo mutualista.

3 OBJETIVO

Verificar se existem diferenças nas comunidades de fungos encontradas nos jardins de duas espécies de formigas cortadeiras com diferentes hábitos de forrageamento. Para tanto, foram utilizados métodos dependentes de cultivo para caracterizar a diversidade, riqueza, composição e estrutura das comunidades de fungos nos jardins das formigas *Atta capiguara* (cortadeiras de monocotiledôneas) e *Atta sexdens rubropilosa* (cortadeiras de dicotiledôneas).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta dos ninhos e preparação das amostras

Ninhos de *A. capiguara* e *A. sexdens rubropilosa* foram marcados aleatoriamente e georreferenciados em uma fazenda localizada na região de Botucatu, SP (Figura 2). A fazenda caracteriza-se por pastagem utilizada na criação de gado de corte. Foi possível encontrar nessa área diversas espécies de formigas cortadeiras, dentre elas *A. capiguara* e *Atta bisphaerica* (cortadeiras de monocotiledôneas). Adjacente à pastagem, existem talhões de eucalipto nos quais pôde ser encontrada a formiga *A. sexdens rubropilosa* (cortadeira de dicotiledôneas).

Figura 2 – Fazenda próxima ao município de Botucatu, SP, na qual foram amostrados jardins de fungo de *Atta sexdens rubropilosa* (região A) e *Atta capiguara* (região B).



■ *Atta capiguara* 2012 ▲ *Atta sexdens rubropilosa* 2012
 ■ *Atta capiguara* 2013 ▲ *Atta sexdens rubropilosa* 2013

Região A: destinada à plantação de eucalipto. Região B: pasto destinado à criação de gado. As marcações indicam os locais aonde os dezesseis ninhos foram escavados. Fonte - Google Earth-Maps.

As coletas foram realizadas em dois períodos: 2012 e 2013 (Tabela 1). A primeira expedição foi realizada nos dias 10 e 11 de abril de 2012. Foram escavados quatro ninhos de *A. sexdens rubropilosa*, com aproximadamente três anos de idade, e quatro ninhos de *A. capiguara*, com aproximadamente 1,5 anos (Figuras 3 e 4). A idade dos ninhos foi estimada pelo tamanho do monte de terra solta na superfície da colônia e pelo número de aberturas (olheiros). Antes de escavar os formigueiros foi observado se o substrato vegetal cortado e carregado pelas formigas

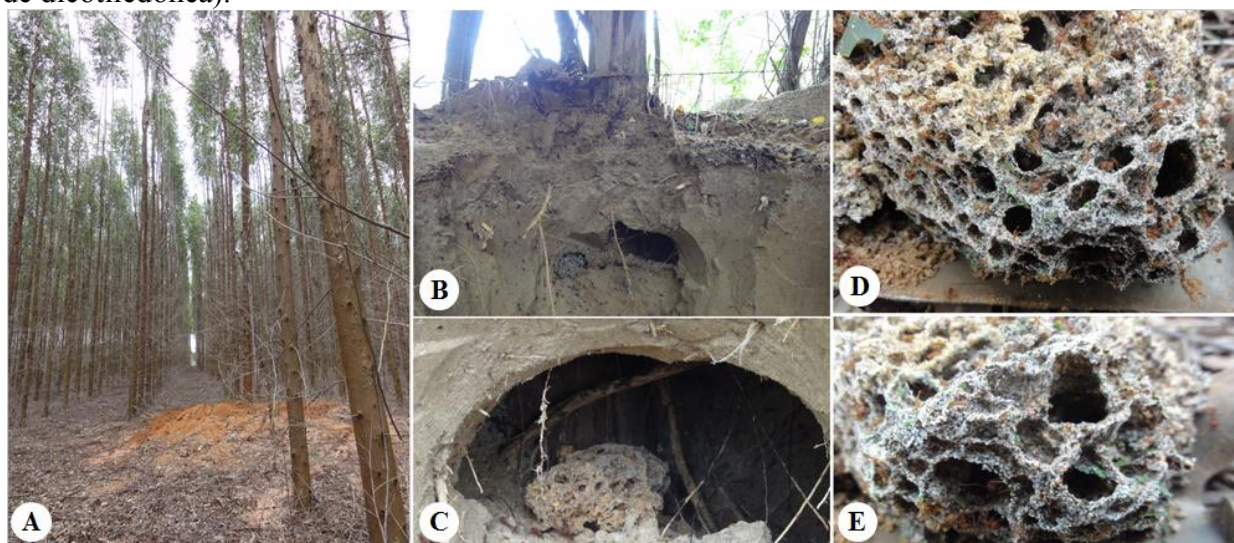
corresponde ao substrato desejado para o estudo. Por apresentarem câmaras subterrâneas, os ninhos foram cuidadosamente escavados seguindo o método descrito em Rodrigues et al. (2009), evitando que o solo adjacente à câmara se depositasse sobre o jardim de fungo. Uma segunda expedição foi realizada em 2013, na qual foram amostrados quatro ninhos adicionais para cada espécie de formiga. Nesse ano as coletas foram realizadas nos dias 30 de janeiro, 5 e 7 de março (Tabela 1). Nesse período, os ninhos de *A. capiguara* eram jovens com 1 a 2 anos de idade (n=3) e apenas um ninho foi considerado maduro (com aproximadamente cinco anos, ninho: JSP 130307-01 (N10)). Os quatro ninhos escavados de *A. sexdens rubropilosa* apresentavam aproximadamente 4 a 5 anos (Figuras 3 e 4).

Tabela 1 – Dados referentes à coleta de jardins de fungo de duas espécies de formigas cortadeiras encontradas em uma fazenda próxima a Botucatu, SP. *Atta capiguara* (AC) foi amostrada no pasto, já *Atta sexdens rubropilosa* (AS) foi amostrada na plantação de eucalipto.

Código do ninho	Espécie de formiga	Data de coleta	Data de isolamento ¹	GPS		Elevação (m)
JSP 120410-01 (N1) ²	AC	10/04/2012	12/04/2012	S 22°54.540'	W 48°18.449'	530
JSP 120410-02 (N2)	AC	10/04/2012	12/04/2012	S 22°54.565'	W 48°18.467'	524
JSP 120410-03 (N3)	AC	10/04/2012	12/04/2012	S 22°54.395'	W 48°18.541'	566
JSP 120410-04 (N4)	AC	10/04/2012	12/04/2012	S 22°54.318'	W 48°18.575'	575
JSP 120410-05 (N5)	AS	10/04/2012	12/04/2012	S 22°54.538'	W 48°18.789'	555
JSP 120410-06 (N6)	AS	10/04/2012	12/04/2012	S 22°54.531'	W 48°18.810'	574
JSP 120410-07 (N7)	AS	10/04/2012	12/04/2012	S 22°54.515'	W 48°18.887'	579
JSP 120411-01 (N8)	AS	11/04/2012	12/04/2012	S 22°54.495'	W 48°18.957'	542
JSP 130305-02 (N9)	AC	05/03/2013	07/03/2013	S 22°54.498'	W 48°18.575'	549
JSP 130307-01 (N10)	AC	07/03/2013	11/03/2013	S 22°54.510'	W 48°18.472'	536
JSP130307-02 (N11)	AC	07/03/2013	07/03/2013	S 22°54.401'	W 48°18.550'	564
JSP130307-03 (N12)	AC	07/03/2013	07/03/2013	S 22°54.444'	W 48°18.487'	549
JSP 130130-01 (N13)	AS	30/01/2013	31/01/2013	S 22°54.452'	W 48°18.997'	576
JSP 130130-02 (N14)	AS	30/01/2013	31/01/2013	S 22°54.457'	W 48°18.987'	578
JSP 130130-03 (N15)	AS	30/01/2013	31/01/2013	S 22°54.446'	W 48°18.973'	600
JSP 130130-04 (N16)	AS	30/01/2013	31/01/2013	S 22°54.474'	W 48°18.928'	600

¹ Datas nas quais foram iniciados os isolamentos dos fungos. ² Códigos utilizados para referenciar os jardins de fungo nas análises do presente estudo. Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 3 – Aspecto geral dos ninhos e jardim de fungo de *Atta sexdens rubropilosa* (cortadeira de dicotiledônea).



A) colônia de *Atta sexdens rubropilosa* (aprox. 4-5 anos de idade) encontrada na plantação de eucalipto; B) e C) perfil do formigueiro após a escavação revelando a câmara com o jardim de fungo; D) e E) jardins de fungo de *Atta sexdens rubropilosa*, compreendendo fragmentos de folhas de dicotiledôneas colonizadas por *Leucoagaricus gongylophorus*. Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4 – Aspecto geral dos ninhos e jardim de fungo de *Atta capiguara* (cortadeira de monocotiledônea).



A) colônia de *Atta capiguara* (aprox. cinco anos de idade) encontrada no pasto; B) perfil do formigueiro jovem (aprox. um ano e meio de idade) após a escavação revelando o túnel e o jardim de fungo; C) e D) jardim de fungo de *Atta capiguara* demonstrando a colonização maciça do fungo mutualista. Note em C) a existência de substratos vegetais com diferentes idades de incorporação, sendo que a parte escura corresponde ao substrato vegetal recentemente adicionado ao jardim. Fonte: Elaborada pela autora.

Uma vez encontrada a câmara com jardim de fungo, operárias maiores foram coletadas e armazenadas em álcool 96% para posterior identificação dos insetos (*vouchers*). A identificação das formigas foi realizada pelo Prof. Dr. Luiz Carlos Forti (UNESP – Botucatu). Fragmentos de jardins de fungo contendo operárias e crias foram coletados e acondicionados em recipientes contendo uma fina camada de gesso umedecido (estéril). Os ninhos assim estabelecidos foram transportados para o laboratório e mantidos a 25 °C, no escuro, até o momento do processamento. Este ocorreu de um a quatro dias após a coleta, conforme tabela 1.

4.2 Isolamento e preservação dos fungos

Para verificar a ocorrência e prevalência de fungos nos jardins, 25 fragmentos com aproximadamente 3 mm³ desse substrato, sem operárias ou crias, foram inoculados em placas de batata-dextrose ágar (BDA, Acumedia), ágar malte 2% (MA2%, Acumedia) e ágar nutriente sintético (SNA) suplementados com 150 µg mL⁻¹ de cloranfenicol (Sigma). Esses meios foram selecionados por apresentarem quantidades variáveis de nutrientes, possibilitando assim, o isolamento de uma maior variedade de fungos. Foram inoculados cinco fragmentos por placa. Portanto, foram analisados 75 fragmentos de jardim por ninho (n= 1.200 fragmentos no estudo). As placas foram incubadas a 25 °C, durante 14 dias, no escuro.

As placas foram observadas diariamente e, uma vez detectado o crescimento de fungos nos fragmentos, estes foram transferidos para placas contendo MA2% e incubados nas mesmas condições. Durante o processo de transferência dos isolados, aqueles que apresentavam contaminação com bactéria ou outro fungo foram purificados.

Os isolados representativos do estudo estão mantidos sob duas formas de preservação: (i) a 4 °C em MA2% inclinado e (ii) a - 80 °C em glicerol 10%; e estão depositados no acervo de pesquisa da Central de Recursos Microbianos da UNESP (CRM – UNESP).

4.3 Identificação dos isolados

4.3.1 Uso de marcadores morfológicos

Os fungos isolados em ambas as coletas foram inicialmente agrupados em morfoespécies segundo as características macroscópicas das colônias. Tais características foram examinadas após cultivo dos fungos em MA2% a 25 °C, durante sete dias. O reverso e o obverso das colônias foram analisados em estereomicroscópio (EZ4, Leica). Para acessar a micromorfologia das estruturas reprodutivas foram realizadas preparações a fresco utilizando água ou corante azul de anilina, como líquidos de montagem. As preparações foram observadas em microscópio ótico (DM500, Leica). Essas estruturas foram comparadas com aquelas disponíveis nas chaves taxonômicas (BARRON, 1968; BARNETT; HUNTER, 1972; ELLIS, 1971; 1976; CARMICHAEL et al., 1980; DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980; SAMSON; HOEKSTRA; FRISVAD, 2000; PITT, 2000; WATANABE, 2002) na tentativa de identificar os isolados.

Alguns isolados não puderam ser agrupados em morfoespécies devido a não formação das estruturas de reprodução necessárias para a identificação. Tais fungos foram inoculados em meio ágar aveia (OA) contendo folha de bananeira estéril e incubados a 25 °C, no escuro, durante dois meses. Essas culturas foram examinadas constantemente a procura das estruturas de reprodução que eventualmente se formassem. Após esse procedimento, aqueles fungos que ainda não apresentaram as estruturas de reprodução foram considerados como micélio estéril e denominados como fungos não-esporulantes (FNE).

4.3.2 *Uso de marcadores moleculares*

Para as morfoespécies que apresentaram apenas um isolado, este foi sequenciado; já para as morfoespécies com mais de um isolado, foram escolhidos dois ou mais fungos representativos para o sequenciamento (ver Apêndice A).

A extração de DNA genômico seguiu o método CTAB (cetiltrimetil brometo de amônio) proposto por Moeller et al. (1992) e Gerardo et al. (2004), modificado por Rodrigues et al. (2009). Considerando o código de barras de DNA universal para fungos (SCHOCH et al., 2012), a região ITS (*internal transcribed spacer*) do rDNA foi utilizada na amplificação do ITS dos isolados. Os *primers* ITS4 e ITS5, desenhados por White et al. (1990), foram selecionados para essa região. As reações de amplificação com 25 µL de volume final consistiram em: 0,2 mM de cada dNTP, 10x de tampão KCl, 10 mg mL⁻¹ de BSA, 1,5 mM de MgCl₂, 0,5 µM de cada *primer* e 1U da enzima *Taq polimerase* (reagentes - Promega). As condições da reação de amplificação foram: desnaturação inicial de 94 °C durante 3 minutos, seguido de 35 ciclos a 94 °C durante 1 minuto, 55 °C durante 1 minuto e 72 °C durante 2 minutos. Os produtos da reação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% e visualizados sob UV, em transiluminador, após coloração com *GelRed*TM (Biotium). Após a confirmação dos amplicons, estes foram purificados com o kit *Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega).

Os amplicons purificados foram quantificados em *NanoDrop*[®] (Thermo Scientific) e, posteriormente, 20 ng µL⁻¹ de DNA foram preparados para o sequenciamento utilizando *BigDye Terminator*[®] v. 3.1 *Kit* (Life Technologies), segundo o protocolo do fabricante. Os produtos foram sequenciados em ABI 3330xl (Life Technologies). Ambas as sequências, *forward* e *reverse*, foram geradas e compiladas em *contigs* utilizando o software BioEdit v. 7.0.5.3 (HALL, 1999).

A busca por sequências homólogas aos *contigs* obtidos no estudo foi realizada nos bancos de acesso público NCBI – GenBank (através do aplicativo MegaBLAST; ZHANG et al.,

2000; MORGULIS et al., 2008) e CBS (www.cbs.knaw.nl). As sequências pertencentes aos fungos do gênero *Trichoderma* foram comparadas com outras depositadas no banco de dados do *International Subcommission on Trichoderma and Hypocrea Taxonomy* (ISTH), utilizando o aplicativo *TrichOKEY* (DRUZHININA et al., 2005). Quando possível, foram consideradas sequências de fungos provenientes de espécies tipo hospedadas em coleções de culturas reconhecidas internacionalmente (por exemplo, CBS, NRRL, PYCC etc).

Após a análise dos resultados obtidos nas bases de dados, as sequências que apresentaram acima de 97% de identidade com aquelas depositadas nos bancos foram consideradas coespecíficas, se o resultado da morfologia também foi congruente (UNTERSEHER; SCHNITTLER, 2010). Para muitas sequências do presente estudo, os resultados obtidos nas bases de dados recuperaram sequências de micro-organismos não cultiváveis (por exemplo: “*uncultured ascomycetes*” na base de dados do GenBank) ou sequências idênticas para múltiplas espécies de fungos. Essas sequências foram consideradas como *Ascomycota*, *Basidiomycota* ou “fungo não identificado”.

Para garantir a correta afiliação taxonômica dos fungos que não foram identificados corretamente através das bases de dados, e que foram inicialmente nomeados como *Ascomycota*, *Basidiomycota* ou “fungo não identificado”, adicionalmente, foram inferidas árvores filogenéticas utilizando sequências homólogas presentes nas bases de dados. Sequências ITS obtidas através dos resultados dos alinhamentos nas bases de dados foram utilizadas para construção de uma árvore filogenética inicial. Primeiramente as sequências foram alinhadas utilizando o software MAFFT v. 7.110. (KATO; STANDLEY, 2013) e editadas manualmente no software BioEdit v. 7.0.5.3 (HALL, 1999). As árvores foram inferidas através do programa MEGA v. 5.2 (TAMURA et al., 2011), utilizando o algoritmo *neighbor-joining*, Kimura 2-parâmetros como modelo de substituição nucleotídica e 1000 pseudo-réplicas de *bootstrap*. Após análise das árvores iniciais foi possível ter uma noção da possível afiliação taxonômica dos fungos. Em seguida, foram pesquisados artigos referentes ao grupo taxonômico em questão, e então, as sequências das referências pesquisadas foram obtidas nas bases de dados *online* e novas árvores filogenéticas foram geradas (Apêndice C).

4.4 Análise das comunidades de fungos

Para avaliar a proporção de fungos que cresceram nos fragmentos amostrados (em relação ao total de fragmentos amostrados e em relação aos meios de cultivo utilizados), foram construídos gráficos *box plots* para verificar a variabilidade do conjunto de dados para *A.*

capiguara e *A. sexdens rubropilosa*. Os gráficos foram gerados utilizando o software R v. 3.0.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013).

Diferentes métricas ecológicas foram utilizadas para analisar a riqueza e diversidade de espécies de fungos nas comunidades examinadas. Neste sentido, foram construídas curvas de rarefação (método que possibilita comparações entre amostras com diferentes esforços amostrais) para comparar a riqueza de espécies observadas entre as comunidades (COLWELL, 2013). Além disso, foi estimada a riqueza de espécies de cada comunidade utilizando o estimador de Chao 1, que baseia-se no número espécies raras (*singletons* e *doubletons*) presentes em cada comunidade para realizar o cálculo (Tabela 2, MAGURRAN, 2004). Com relação à diversidade, as comparações entre cada amostra foram realizadas utilizando os índices de Simpson (inverso= $1/D$) e Shannon. Esses índices foram selecionados por utilizarem parâmetros diferentes para realizar os cálculos. Simpson é um índice robusto, de dominância e que reflete a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso na comunidade pertencerem à mesma espécie. Já o índice de Shannon quantifica o grau de incerteza em prever a que espécie pertencerá um indivíduo escolhido, ao acaso, de uma amostra com S espécies e N indivíduos (Tabela 2, MAGURRAN, 2004). Para determinar o compartilhamento de espécies entre as comunidades foram utilizados os índices de Jaccard, Sorensen e Bray-Curtis. Os diferentes índices foram utilizados pelas seguintes características: Jaccard e Sorensen são notoriamente sensível ao tamanho da amostra, especialmente para aquelas com numerosas espécies raras, sendo índices que utilizam dados qualitativos gerando resultado entre amostras (Tabela 2, CHAO et al., 2005); já o índice de Bray-Curtis traz como premissa o uso da abundância dos táxons para quantificar a dissimilaridade composicional entre amostras (Tabela 2, MAGURRAN, 2004). Todos os índices foram calculados utilizando o software EstimateS v. 9.1.0 (COLWELL, 2013). Para os índices de Simpson, Shannon e Chao 1 foram construídos *box plots* para representar a variação dos índices entre os jardins de fungo amostrados. Para verificar diferenças significativas entre os índices, foi utilizado o teste Mann-Whitney empregado no software R v. 3.0.1.

Além das métricas de diversidade, o número de táxons obtidos de cada comunidade foi utilizado para a construção de um diagrama de Venn, com o intuito de visualizar o compartilhamento de táxons entre as duas espécies de formigas estudadas. Os diagramas foram construídos no software R v. 3.0.1, utilizando o pacote *VennDiagram*.

A fim de investigar possíveis relações entre as comunidades dos 16 ninhos amostrados, foi realizada uma análise de ordenação dos dados, denominada análise de coordenadas principais (*Principal Coordinates Analysis* - PCoA). Essa análise representa os dados em dois planos a partir de uma matriz de distância utilizando dados de abundância (coeficiente de similaridade

Bray-Curtis) para cada amostra. Nessa análise, o índice de similaridade é calculado a partir de cada par de amostras para se mapear a inter-relação destas (PODANI; MIKLOS, 2002). Essa análise foi gerada no software Past v. 2.17c (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

Foi utilizado também o teste SIMPER (Porcentagem de Similaridade). Essa análise busca hierarquizar a contribuição relativa de cada espécie às diferenças de composição entre os ambientes estudados (pastagem e plantação de eucalipto, CLARKE, 1993). A análise de SIMPER foi realizada no software Past v. 2.17c (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

Tabela 2 – Fórmula para cálculos do estimador de espécies Chao 1, dos índices de Simpson, Shannon, Bray-Curtis, Sorensen e Jaccard.

Índices/Estimador	Fórmulas	Componentes das fórmulas
Chao 1*	$S_{\text{Chao 1}} = S_{\text{obs}} + \frac{F_1^2}{2F_2}$	S_{obs} = número de espécies na amostra F_1 = número de espécies observadas representadas por um único indivíduo (<i>singletons</i>) F_2 = número de espécies observadas representadas por dois indivíduos (<i>doubletons</i>)
Simpson*	$D = \sum p_i^2$	p_i = abundância relativa (proporção) da espécie i na amostra
Shannon*	$H' = -\sum p_i \ln p_i$	p_i = abundância relativa (proporção) da espécie i na amostra
Bray-Curtis*	$C_N = \frac{2jN}{(N_a + N_b)}$	N_a = número total de indivíduos na amostra a N_b = número total de indivíduos na amostra b $2jN$ = a soma da menor de duas abundâncias das espécies encontradas em ambas as amostras
Sorensen**	$I_{\text{das}} = \frac{2A}{2A + B + C}$	a é o número de espécies encontrados em ambos os locais, A e B, b é o número de espécies no local B, mas não em A, c é o número de espécies no local A, mas não em B
Jaccard**	$J_{\text{das}} = \frac{A}{A + B + C}$	a é o número de espécies encontrados em ambos os locais, A e B, b é o número de espécies no local B, mas não em A, c é o número de espécies no local A, mas não em B

* Referência: Magurran, 2004; **Referência: Chao et al., 2005.

5 RESULTADOS

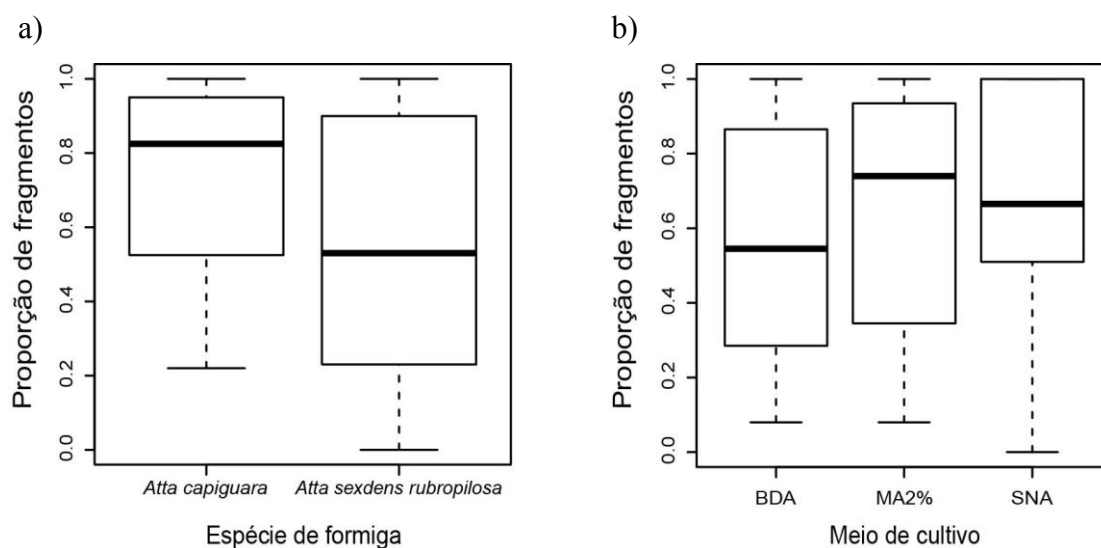
5.1 Prevalência de fungos nos jardins de formigas cortadeiras

No total foram amostrados 1.200 fragmentos de jardins de fungo, sendo que 186 (15,5%) apresentaram contaminação por bactérias e foram removidos da análise. Nos fragmentos remanescentes (n= 1.014), em 391 (38,5%) foi detectado apenas o crescimento do fungo mutualista das formigas cortadeiras (*L. gongylophorus*) e, em 623 (61,5%), houve o crescimento de outros fungos (Apêndice B).

Um total de 624 isolados de fungos foi obtido dos jardins de ambas as espécies de formigas cortadeiras. Apenas em um fragmento de jardim foi observado o crescimento de dois fungos diferentes. Dos oito ninhos de *A. sexdens rubropilosa* e de *A. capiguara* foram recuperados 301 e 323 isolados, respectivamente. No geral, a porcentagem de fragmentos com fungos (não cultivados pelas formigas cortadeiras) para *A. capiguara* foi de 72% e para *A. sexdens rubropilosa* foi de 53%. Considerando a proporção de fragmentos de jardins com a presença de fungos para cada ninho, observou-se que esta foi menor para *A. sexdens rubropilosa* do que para *A. capiguara* (Figura 5a).

No geral, os isolamentos mostraram diferenças na proporção de fungos recuperados para os três meios de cultivo. No entanto, os *box plots* sugerem distribuições com variâncias semelhantes; ao contrário do observado para a proporção de fragmentos com fungos entre as espécies de formigas (Figura 5a). Esse resultado indica que os três meios de cultivo representaram as variações na quantidade de fungos entre os 16 jardins amostrados. O meio BDA apresentou uma tendência de recuperar uma menor proporção de fungos, quando comparado com os meios MA2% e SNA (Figura 5b).

Figura 5 – Proporção de fragmentos de jardim de fungo de *Atta sexdens rubropilosa* e *Atta capiguara* com a presença de fungos não cultivados pelas formigas; a) Em relação ao número total de fragmentos amostrados (n= 323 para *A. capiguara*; n= 300 para *A. sexdens rubropilosa*). b) Em relação aos meios de cultivo utilizados.



BDA: batata dextrose ágar; MA 2%: ágar malte 2%; SNA: ágar nutriente sintético. Fonte: Dados da pesquisa.

5.2 Isolamento e identificação dos fungos utilizando abordagem polifásica

Após o isolamento e purificação das 624 estirpes de fungos, todas foram examinadas utilizando características morfológicas da colônia e das estruturas reprodutivas microscópicas. Essa análise permitiu realizar uma triagem dos isolados e agrupá-los em diferentes morfoespécies antes de realizar a identificação molecular (Tabela 3, Apêndice A).

Do total de 371 isolados recuperados de ambas as formigas na coleta de 2012, para 127 isolados não foi possível utilizar as chaves taxonômicas devido a ausência de estruturas para identificação. Desse total, 51 fungos foram inoculados em OA com folha de bananeira estéril para estímulo da formação das estruturas de reprodução e, após 2 meses, apenas 3 isolados esporularam. Esses isolados foram identificados como *Preussia* sp. (n= 2) e *Spegazzinia* sp.; os demais isolados foram considerados como micélio estéril.

Ainda em relação à coleta de 2012, do total de 371 isolados, 180 foram selecionados para a identificação molecular. Foram obtidas sequências ITS para 177 isolados. Os três isolados não sequenciados foram identificados somente por características morfológicas (Apêndice A). Considerando a abordagem polifásica de identificação empregada, os 371 isolados analisados compreendem 57 gêneros, 92 espécies e 4 isolados não identificados (Apêndice A).

Do total de 253 isolados recuperados de ambas as formigas na coleta de 2013, 185 foram selecionados para identificação molecular. Desse total, foram obtidas sequências de DNA para 176 isolados; as sequências dos demais fungos não foram obtidas por falha na amplificação do rDNA (n= 5) ou por não ser possível reativar os fungos após a preservação (n= 4), portanto, essas estirpes foram retiradas das análises. Considerando a abordagem polifásica de identificação empregada, os 253 isolados analisados compreendem 45 gêneros, 68 espécies e 6 isolados não identificados (Apêndice A).

O apêndice A apresenta a identificação final dos fungos isolados no presente estudo. Além dos resultados da identificação morfológica e molecular, o apêndice A traz o resumo das análises filogenéticas. Para alguns táxons foi possível identificar gêneros e espécies utilizando a filogenia, por exemplo, *Cladosporium flabelliforme* (Apêndice C.8) e *Curvularia trifolii* (Apêndice C.10). Entretanto, para outros isolados foi possível obter a afiliação taxonômica até família (por exemplo Apêndice C.13 entre outros).

Considerando o estudo como um todo, a abordagem polifásica empregada permitiu identificar 61 gêneros e 135 espécies, sendo que 10 isolados não puderam ser identificados (Apêndice A).

5.3 Abundância de fungos isolados dos jardins de formigas cortadeiras

Considerando o total de isolados obtidos no estudo, os fungos *Trichoderma spirale* (18,5%), *Trichosporon chiarellii* (12,2%) e *P. citrinum* (11,7%) foram os mais abundantes. Os demais fungos, incluindo *Escovopsis* sp. (fungo parasita especializado da associação formigas cortadeiras-fungo), foram raros, com frequência abaixo de 5% do total de isolados (Tabela 3, Figuras 6-9).

Nos jardins de fungo de *A. capiguara* foram obtidos 47 gêneros, 70 espécies e cinco fungos não identificados. *T. spirale* foi a espécie prevalente representada por 23,8% dos isolados, seguido por *P. citrinum* representando 23,2% dos isolados. Do total de isolados obtidos dos jardins de *A. capiguara*, *Escovopsis* sp. representou 8% dos isolados. Fungos que foram isolados em menor frequência incluem: *Dothideomycetes* (4,5%), *Xylaria* sp. 4 (3,5%) e *Drechslera micropus* (2,9%), os demais isolados representam <2% dos isolados (Tabela 3 e Apêndice A).

Nos jardins de fungo de *A. sexdens rubropilosa* foram obtidos 57 gêneros, 84 espécies e 5 fungos não identificados. A levedura *Trichosporon chiarellii* foi prevalente nesses jardins, representada por 25,4% dos isolados, seguido por *Trichoderma spirale* com 13,5% do total de isolados. As espécies *Preussia* sp. 1, *Mycosphaerella* sp. 1 e os isolados representados pela

família *Chaetothyriales* representam 4,4%, 3,4% e 2,4% respectivamente. Os demais isolados representam <2% (Tabela 3 e Apêndice A).

Com relação a frequência de ocorrência nos ninhos, *T. spirale* ocorreu em 56%, sendo que esta espécie foi encontrada em todos os períodos de coleta e compartilhado por *A. capiguara* e *A. sexdens rubropilosa* (Tabela 3). *P. citrinum* ocorreu em 25% e *T. chiarellii* ocorreu em 19% do total de jardins amostrados. *P. citrinum* e *T. chiarellii* foram encontrados somente em ninhos de *A. capiguara* ou *A. sexdens rubropilosa*, respectivamente. *Escovopsis* sp. foi encontrado em ninhos das duas espécies de formiga e isolado em 19% dos jardins amostrados.

Tabela 3 – Distribuição dos táxons e origem dos fungos isolados de jardins de *Atta capiguara* (AC) e *Atta sexdens rubropilosa* (AS) amostradas em dois períodos. Os valores representam o número de isolados obtidos, seguido da abundância (em %) em relação ao total de isolados obtidos.

	AC		AS		Total	%	Origem da sequência mais próxima	Referência
	2012	2013	2012	2013				
Zygomycota								
<i>Absidia cylindrospora</i>	0	0	1	0	1	0.16	solo	Domsch; Gams; Anderson, 1980
<i>Cunninghamella</i> sp.	0	0	1	0	1	0.16	solo	Domsch; Gams; Anderson, 1980
<i>Gongronella butleri</i>	0	0	0	2	2	0.33	solo; raiz	Walther et al., 2013
<i>Mortierella</i> sp.	0	1	0	0	1	0.16	solo	Han et al., 2011
<i>Mucor</i> sp. 1	0	0	3	0	3	0.49	solo	Domsch; Gams; Anderson, 1980
<i>Mucor</i> sp. 2	0	2	0	0	2	0.33	solo	Walther et al., 2013
<i>Umbelopsis nana</i>	0	1	0	0	1	0.16	raiz; solo; madeira	Walther et al., 2013
Ascomycota								
<i>Acremonium</i> sp.	0	0	1	0	1	0.16	endofítico	Loro et al., 2012
<i>Alternaria</i> sp.	0	0	1	0	1	0.16	endofítico	Leite et al., 2013
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	0	0	0	2	0.33	substrato de cultivo de cogumelos	Singh; Ahlawat; Rajor, 2012
<i>Aspergillus</i> sp.	0	0	1	0	1	0.16	esponja marinha	Scopel et al., 2013
<i>Beltrania rhombica</i>	1	0	0	0	1	0.16	fruta	Serrato; Rivera; Goenaga, 2010 (não publicado) ¹
<i>Bionectria ochroleuca</i>	0	0	2	0	2	0.33	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Chaetothyriales</i>	0	0	0	7	7	1.14	formiga: <i>Cladomyrma petalae</i>	Voglmayr et al., 2011
<i>Chloridium</i> sp.	0	0	0	1	1	0.16	gramíneas em decomposição	Shrestha et al., 2011
<i>Cladophialophora</i> sp.	0	0	0	4	4	0.65	isolado da planta: <i>Phyllostachys bambusoides</i>	Crous et al., 2007a
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0	0	4	0	4	0.65	solo; ar; associado a espécies de pantas	Bensch et al., 2010
<i>Cladosporium flabelliforme</i>	0	0	1	0	1	0.16	associado à planta <i>Melaleuca cajuputi</i>	Bensch et al., 2010
<i>Cladosporium perangustum</i>	9	1	1	0	11	1.79	associado a diversas plantas	Bensch et al., 2010
<i>Cladosporium</i> sp. 1	0	3	0	0	3	0.49	solo; ar; plantas	Bensch et al., 2010
<i>Cladosporium</i> sp. 2	4	0	0	0	4	0.65	solo; ar; plantas	Bensch et al., 2010
<i>Cladosporium</i> sp. 3	2	0	0	0	2	0.33	solo; ar; plantas	Bensch et al., 2010
<i>Colletotrichum</i> sp. 1	0	0	3	0	3	0.49	fitopatógeno; endofítico	Farr et al., 2006; Van Bael et al., 2009
<i>Colletotrichum</i> sp. 2	0	0	1	0	1	0.16	fitopatógeno; endofítico	Farr et al., 2006; Van Bael et al., 2009

Tabela 2 – (continuação)

	AC		AS		Total	%	Origem da sequência mais próxima	Referência
	2012	2013	2012	2013				
<i>Colletotrichum</i> sp. 3	1	0	0	0	1	0.16	fitopatígeno; endofítico	Farr et al., 2006; Van Bael et al., 2009
<i>Colletotrichum</i> sp. 4	0	0	0	1	1	0.16	fitopatígeno; endofítico	Farr et al., 2006; Van Bael et al., 2009
<i>Curvularia</i> sp. 1	1	0	0	0	1	0.16	sorgo	Funnell-Harris; Prom; Pedersen, 2013
<i>Curvularia</i> sp. 2	1	0	1	0	2	0.33	sorgo	Funnell-Harris; Prom; Pedersen, 2013
<i>Curvularia</i> sp. 3	1	0	0	0	1	0.16	sorgo	Funnell-Harris; Prom; Pedersen, 2013
<i>Curvularia</i> sp. 4	1	0	1	0	2	0.33	sorgo	Funnell-Harris; Prom; Pedersen, 2013
<i>Curvularia trifolii</i>	1	0	2	0	3	0.49	sorgo	Funnell-Harris; Prom; Pedersen, 2013
<i>Cytospora variostromatica</i>	0	0	2	0	2	0.33	isolado de eucalipto	Adams et al., 2005
<i>Cytospora eucalypticola</i>	1	0	0	0	1	0.16	isolado de eucalipto	Adams et al., 2005
<i>Cytospora</i> sp.	1	0	0	0	1	0.16	pele	Adams; Roux; Wingfield, 2006
<i>Discosia</i> sp.	0	0	2	0	2	0.33	folhas	Crous et al., 2013
<i>Dothideomycetes</i>	11	3	0	0	14	2.28	fungo associado a líquen	U'Ren et al., 2012
<i>Drechslera micropus</i>	9	0	0	0	9	1.46	isolado clínico	Cunha et al., 2012
<i>Epicoccum nigrum</i>	0	0	2	0	2	0.33	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Epicoccum sorghi</i>	1	1	0	0	2	0.33	caule; casca	Campos et al., 2013 (não publicado)
<i>Escovopsioides nivea</i>	0	1	0	1	2	0.33	jardim de fungo	Augustin et al., 2013
<i>Escovopsis</i> sp.	0	25	0	1	26	4.23	jardim de fungo	Augustin et al., 2013
<i>Eutypella</i> sp. 1	0	0	1	0	1	0.16	endofítico	Leite et al., 2013
<i>Eutypella</i> sp. 2	0	1	0	0	1	0.16	endofítico	Leite et al., 2013
<i>Fusarium equiseti</i>	1	0	2	0	3	0.49	isolado clínico	O'Donnel et al., 2009
<i>Fusarium oxysporum</i> species complex ²	0	0	1	1	2	0.33	solo	Inokoshi et al., 2013
<i>Fusarium solani</i> species complex ²	1	0	2	1	4	0.65	planta	Tayung; Barik; Jha, 2010
<i>Geomyces</i> sp.	1	0	2	1	4	0.65	endofítico	Higginbotham et al., 2013b
<i>Guignardia</i> sp.	0	0	2	0	2	0.33	isolado da planta <i>Citrus maxima</i>	Wang et al., 2012
<i>Hypocreales</i>	0	1	0	0	1	0.16	isolado do cupim <i>Odontotermes formosanus</i>	Shinzato et al., 2005
<i>Mycocleptodiscus indicus</i>	0	1	0	0	1	0.16	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Mycosphaerella</i> sp.1	0	0	9	1	10	1.63	isolado da <i>Eucalyptus</i> spp.	Crous et al. 2007b; Crous et al. , 2009; Passador et al., 2013

Tabela 2 – (continuação)

	AC		AS		Total	%	Origem da sequência mais próxima	Referência
	2012	2013	2012	2013				
<i>Mycosphaerella</i> sp.2	0	0	4	1	5	0.81	isolado de <i>Eucalyptus</i> spp.	Crous et al. 2007b; Crous et al., 2009; Passador et al., 2013
<i>Mycosphaerella</i> sp. 3	4	0	3	3	10	1.63	isolado de <i>Eucalyptus</i> spp.	Crous et al. 2007b; Crous et al., 2009; Passador et al., 2013
<i>Mycosphaerella</i> sp. 4	0	0	0	1	1	0.16	isolado de <i>Eucalyptus</i> spp.	Crous et al. 2007b; Crous et al., 2009; Passador et al., 2013
<i>Neofusicoccum eucalyptorum</i>	0	0	1	0	1	0.16	isolado da planta <i>Blepharocalyx salicifolius</i>	Pérez et al., 2010
<i>Neofusicoccum parvum</i>	0	0	3	0	3	0.49	fitopatôgeno de maga	Yang; Hu, 2013 (não publicado)
<i>Nigrospora oryzae</i>	0	0	2	0	2	0.33	endofítico de <i>Capparis</i> sp. L.	Barba et al., 2013 (não publicado)
<i>Nigrospora</i> sp.	2	0	0	0	2	0.33	associado ao coral <i>Annella</i> sp.	Sakayaroj et al., 2012
<i>Ochroconis</i> sp.	0	0	0	3	3	0.49	endofítico	Gazis; Chaverri; Gruner, 2012 (não publicado)
<i>Oidiodendron</i> sp.	0	0	1	0	1	0.16	poeira doméstica	Hambleton; Egger; Currah, 1998
<i>Paecilomyces carneus</i>	0	0	0	1	1	0.16	solo	Hu; Cao; Zhang, 2013
<i>Paecilomyces</i> sp.	0	0	5	0	5	0.81	isolado clínico	Liyan et al., 2004
<i>Paraphaeosphaeria michotii</i>	1	0	0	0	1	0.16	isolado da planta <i>Miscanthus giganteus</i>	Shrestha et al., 2011
<i>Penicillium citrinum</i>	72	0	0	0	72	11.71	endofítico	Higginbotham et al., 2013b
<i>Penicillium</i> sp. 1	2	0	0	0	2	0.33	milho	Rivera; Seifert, 2011
<i>Penicillium</i> sp. 2	3	0	0	0	3	0.49	isolado da planta <i>Saccharum officinarum</i>	Shrestha et al., 2011
<i>Penicillium</i> sp. 3	2	0	0	0	2	0.33	isolado da planta <i>Saccharum officinarum</i>	Shrestha et al., 2011
<i>Penicillium</i> sp.4	1	0	0	0	1	0.16	solo	Samson et al., 2011
<i>Penicillium</i> sp. 5	0	0	1	0	1	0.16	deserto gelado	Yadav et al., 2013 (não publicado)
<i>Penicillium</i> sp. 6	0	0	0	3	3	0.49	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Penicillium</i> sp. 7	0	0	0	1	1	0.16	endofítico	Robl et al., 2013
<i>Penicillium</i> sp. 8	0	0	0	1	1	0.16	uvas	Jiang; Shi, 2011 (não publicado)
<i>Penicillium</i> sp. 9	0	0	0	1	1	0.16	solo	Samson et al., 2011
<i>Penicillium</i> sp. 10	0	1	0	0	1	0.16	solo	Barratt et al., 2003
<i>Penicillium</i> sp. 11	0	3	0	0	3	0.49	madeira	Jang et al., 2011
<i>Penicillium</i> sp. 12	0	0	0	3	3	0.49	raiz	Bhagobaty; Joshi, 2009
<i>Penicillium</i> sp. 13	0	1	0	0	1	0.16	solo	Rodrigues; Jaisi; Elimelech, 2013

Tabela 2 – (continuação)

	AC		AS		Total	%	Origem da sequência mais próxima	Referência
	2012	2013	2012	2013				
<i>Pestalotiopsis</i> sp. 1	1	0	1	0	2	0.33	rocha	Baltazar et al., 2012
<i>Pestalotiopsis</i> sp. 2	0	0	0	1	1	0.16	pelo de <i>Bradypus variegatus</i> (bicho preguiça)	Higginbotham et al., 2013a (submetido)
<i>Phaeomoniella</i> sp.	0	0	1	0	1	0.16	folhas	Zhao; Zhang, 2011 (não publicado)
<i>Phaeosphaeria herpotrichoides</i>	2	0	0	0	2	0.33	planta: <i>Musa</i> sp.	Quaedvlieg et al., 2013
<i>Phaeosphaeria</i> sp. 1	0	0	1	0	1	0.16	solo	Curlevski et al., 2010
<i>Phaeosphaeria</i> sp. 2	1	0	0	0	1	0.16	folhas, caules; sementes	Pan; Baumgarten; May, 2008
<i>Phaeosphaeriopsis</i> sp.	1	0	0	0	1	0.16	poeira doméstica	Rittenour et al., 2014
<i>Phoma</i> sp.	0	0	2	1	3	0.49	tecido da planta <i>Juniperus virginiana</i>	Hoffman; Arnold, 2008
<i>Phomopsis</i> sp. 1	0	0	3	0	3	0.49	fitopatógenos; endofítico; sapórobio	Udayanga et al., 2012; Gomes et al., 2013
<i>Phomopsis</i> sp. 2	0	0	2	0	2	0.33	fitopatógenos; endofítico; sapórobio	Udayanga et al., 2012; Gomes et al., 2013
<i>Phomopsis</i> sp. 3	0	0	1	0	1	0.16	fitopatógenos; endofítico; sapórobio	Udayanga et al., 2012; Gomes et al., 2013
<i>Phomopsis</i> sp. 4	1	0	2	0	3	0.49	fitopatógenos; endofítico; sapórobio	Udayanga et al., 2012; Gomes et al., 2013
<i>Phomopsis</i> sp. 5	0	0	1	0	1	0.16	fitopatógenos; endofítico; sapórobio	Udayanga et al., 2012; Gomes et al., 2013
<i>Phomopsis</i> sp. 6	0	0	1	0	1	0.16	fitopatógenos; endofítico; sapórobio	Udayanga et al., 2012; Gomes et al., 2013
<i>Phomopsis</i> sp. 7	0	1	0	0	1	0.16	fitopatógenos; endofítico; sapórobio	Udayanga et al., 2012; Gomes et al., 2013
<i>Podospora</i> sp.	0	0	0	1	1	0.16	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Preussia</i> sp. 1	0	0	12	1	13	2.11	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Preussia</i> sp. 2	0	0	1	0	1	0.16	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Preussia</i> sp. 3	0	0	1	2	3	0.49	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Pseudallescheria boydii</i>	0	0	0	1	1	0.16	amostra clínica	Zouhair et al., 2013
<i>Pseudoplagiostoma</i> sp.	0	0	1	0	1	0.16	folhas	Crous et al., 2013
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	3	0	1	1	5	0.81	fontes de água	Oliveira et al., 2013
<i>Robillarda</i> sp.	0	0	2	0	2	0.33	pelo de <i>Bradypus variegatus</i> (bicho preguiça)	Higginbotham et al., 2013a (submetido)
<i>Setophoma chromolaena</i>	0	0	2	0	2	0.33	isolado da planta <i>Chromolaena odorata</i>	Quaedvlieg et al., 2013
<i>Scytalidium</i> sp. 1	0	0	0	2	2	0.33	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Scytalidium</i> sp. 2	0	0	0	1	1	0.16	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Sordariomycetes</i> 1	1	0	0	0	1	0.16	fungo associado a líquen	U'Ren et al., 2012

Tabela 2 – (continuação)

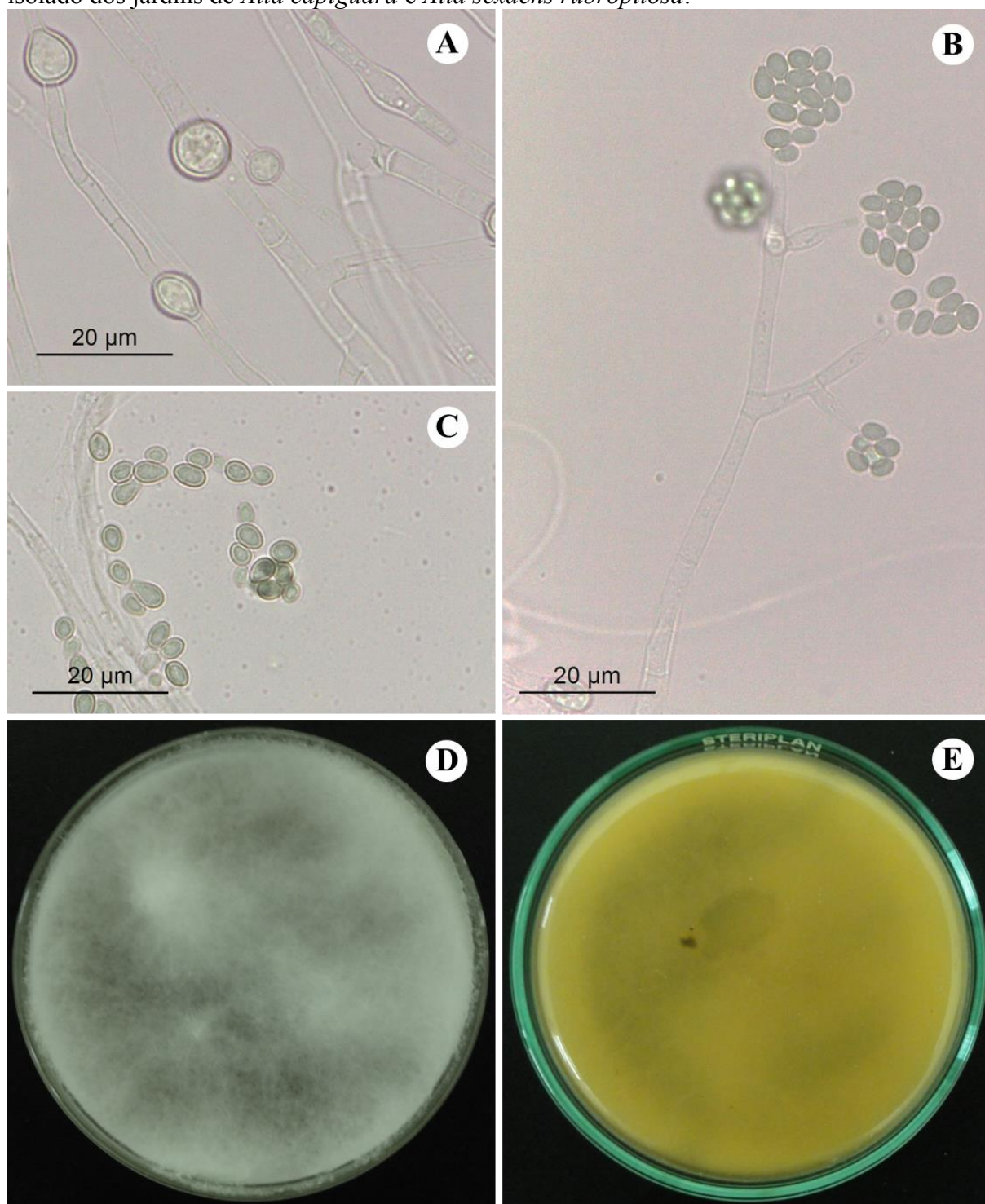
	AC		AS		Total	%	Origem da sequência mais próxima	Referência
	2012	2013	2012	2013				
<i>Sordariomycetes</i> 2	0	2	0	0	2	0.33	endofítico	Loro et al., 2012
<i>Spegazzinia</i> sp.	1	0	0	0	1	0.16	endofítico	Márquez et al., 2010
<i>Tetraplospheeria</i> sp.	0	0	1	0	1	0.16	isolado da planta <i>Sasa senanensis</i>	Tanaka et al., 2009
<i>Trichoderma deliquescens</i>	0	0	2	0	2	0.33	raiz	Yang et al., 2012
<i>Trichoderma hamatum</i> ⁸	0	0	2	3	5	0.81	raiz	Yang et al., 2012
<i>Trichoderma harzianum</i> species complex ²	0	3	0	0	3	0.49	fontes de água	Oliveira et al., 2013
<i>Trichoderma spirale</i>	5	69	12	28	114	18.54	semente	U'Ren et al., 2009
<i>Trichoderma</i> sp. 1	0	0	1	0	1	0.16	pelo de <i>Bradypus variegatus</i> (bicho preguiça)	Higginbotham et al., 2013a (submetido)
<i>Trichoderma</i> sp. 2	0	1	0	1	2	0.33	rizosfera	Zhang; Luang; Zhang, 2013 (não publicado)
<i>Trichoderma</i> sp. 3	0	3	0	0	3	0.49	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Trichoderma</i> sp. 4	0	3	0	0	3	0.49	lavagens bronquioalveolares	Arabatzis; Velegraki, 2013 (não publicado)
<i>Trichoderma</i> sp. 5	0	1	0	0	1	0.16	solo	Anees et al., 2010
<i>Viridispora diparietispora</i>	0	2	0	2	4	0.65	solo de mangue	Xu et al., 2012 (não publicado)
<i>Xylaria</i> sp. 1	1	0	0	0	1	0.16	madeira em decomposição	Berrin et al., 2012
<i>Xylaria</i> sp. 2	0	1	1	0	2	0.33	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Xylaria</i> sp. 3	0	2	0	0	2	0.33	ninho de cupim	Okane; Nakagire, 2007
<i>Xylaria</i> sp. 4	0	11	0	0	11	1.79	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Ascomycota</i> não identificado 1	0	0	1	0	1	0.16	-	-
<i>Ascomycota</i> não identificado 2	0	0	1	0	1	0.16	-	-
<i>Ascomycota</i> não identificado 3	0	0	1	0	1	0.16	-	-
<i>Ascomycota</i> não identificado 4	0	0	0	2	2	0.33	-	-
<i>Ascomycota</i> não identificado 5	0	1	0	0	1	0.16	-	-
<i>Ascomycota</i> não identificado 6	0	0	0	1	1	0.16	-	-
Basidiomycota								
<i>Agaricus fiardii</i>	1	0	0	1	2	0.33	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Agaricus</i> sp.	0	0	0	1	1	0.16	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011

Tabela 2 – (continuação)

	AC		AS		Total	%	Origem da sequência mais próxima	Referência
	2012	2013	2012	2013				
<i>Ceriporiopsis</i> sp.	1	0	0	0	1	0.16	isolado de <i>Populus tremuloides</i>	Brazee et al., 2012
<i>Grammothele</i> sp.	1	0	0	0	1	0.16	endofítico	Brum et al., 2012
<i>Hyphodermella</i> sp.	0	0	0	1	1	0.16	amostra de filtro de ar	Frohlich-Nowoisky; Despres; Poschl, 2011 (não publicado)
<i>Oudemansiella canarii</i>	1	0	0	0	1	0.16	endofítico	Glenn; Bodri, 2012
<i>Peniophora crassitunicata</i>	1	0	0	0	1	0.16	ar (<i>indoor</i>)	Rittenour et al., 2014
<i>Phanerochaete</i> sp.	3	0	1	2	6	0.98	jardim de fungo	Rodrigues et al., 2011
<i>Phlebia</i> sp.	3	0	0	0	3	0.49	amostra de filtro de ar	Frohlich-Nowoisky; Despres; Poschl, 2011 (não publicado)
<i>Phlebia subserialis</i>	1	0	0	0	1	0.16	ar (<i>indoor</i>)	Rittenour et al., 2014
<i>Polyporales</i> 1	1	0	0	0	1	0.16	amostra de filtro de ar	Frohlich-Nowoisky; Despres; Poschl, 2011 (não publicado)
<i>Polyporales</i> 2	0	0	0	1	1	0.16	ar (<i>indoor</i>)	Rittenour et al., 2014
<i>Trametes hirsuta</i>	2	0	0	0	2	0.33	solo	Han et al., 2011
<i>Trichosporon chiarellii</i>	0	0	74	1	75	12.20	jardim de fungo	Pagnocca et al., 2010
<i>Basidiomycota</i> não identificado 1	1	0	0	0	1	0.16	-	-
<i>Basidiomycota</i> não identificado 2	0	1	0	0	1	0.16	-	-
Fungos sem afiliação								
Fungo não identificado 1	0	1	0	0	1	0.16	-	-
Fungo não identificado 2	0	2	0	0	2	0.33	-	-
Total	170	150	201	94	615	100		

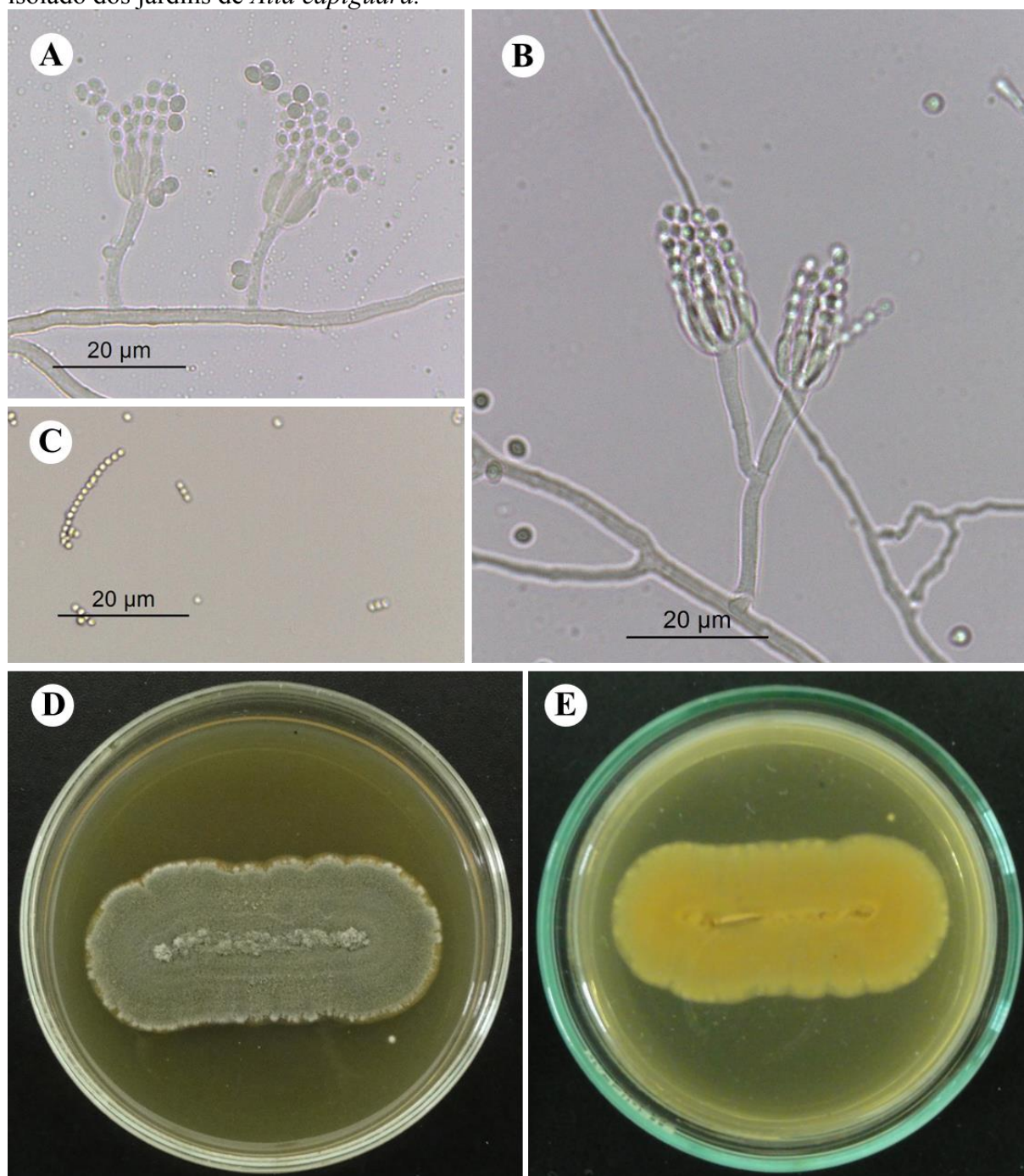
¹ Dados não publicados; Data se refere ao depósito da sequência no banco de acesso público NCBI – GenBank. ² Conjunto de espécies crípticas, para os quais a taxonomia demonstrou existirem espécies muito relacionadas geneticamente e que foram classificadas no passado como sendo da mesma espécie. Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 6 - Aspectos morfológicos (macro e micromorfologia) do fungo *Trichoderma spirale*, isolado dos jardins de *Atta capiguara* e *Atta sexdens rubropilosa*.



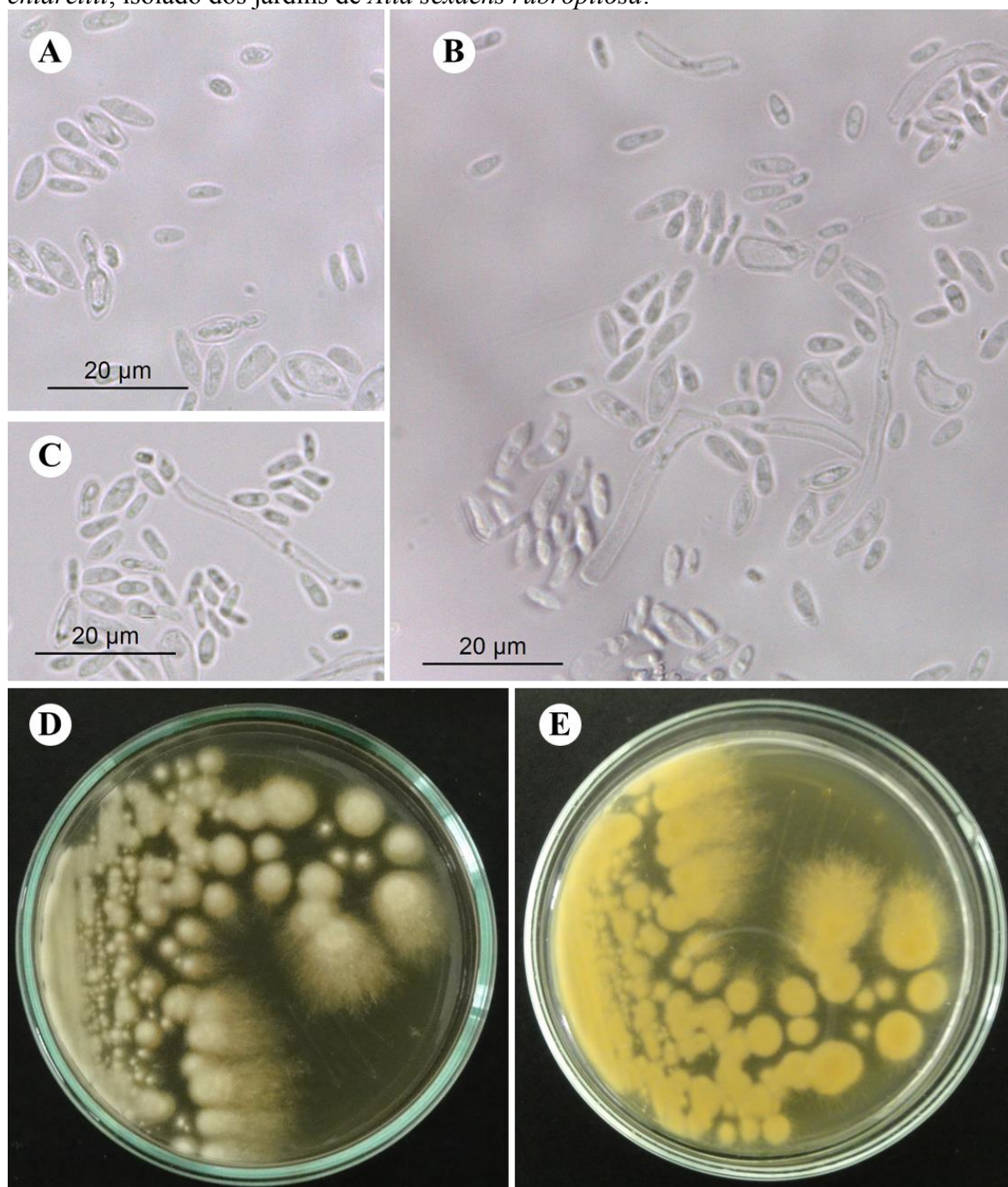
A – Clamidósporos. B – Conídios em fiálides. C – Esporos. D e E – Morfologia da colônia crescida em MA2% a 25°C. Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 7 - Aspectos morfológicos (macro e micromorfologia) do fungo *Penicillium citrinum*, isolado dos jardins de *Atta capiguara*.



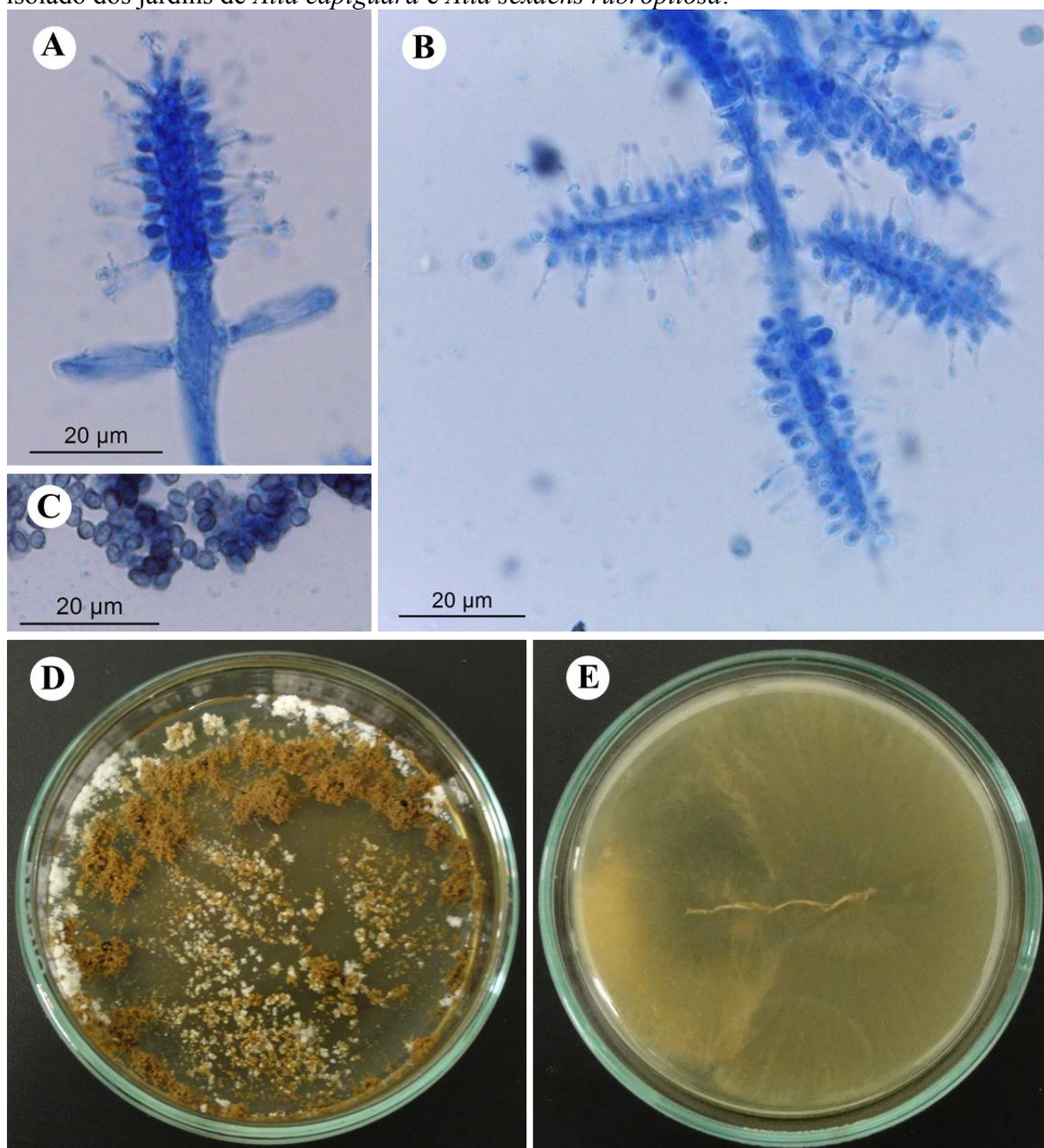
A e B – Conídios em fiálides. C – Esporos. D e E – Morfologia da colônia crescida em MA2% a 25°C. Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 8 - Aspectos morfológicos (macro e micromorfologia) do fungo *Trichosporon chiarellii*, isolado dos jardins de *Atta sexdens rubropilosa*.



A e B – Células leveduriformes com brotamentos. B e C – Células leveduriformes e atroconídios. D e E – Morfologia da colônia crescida em MA2% a 25°C. Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 9 - Aspectos morfológicos (macro e micromorfologia) do fungo *Escovopsis* sp., isolado dos jardins de *Atta capiguara* e *Atta sexdens rubropilosa*.



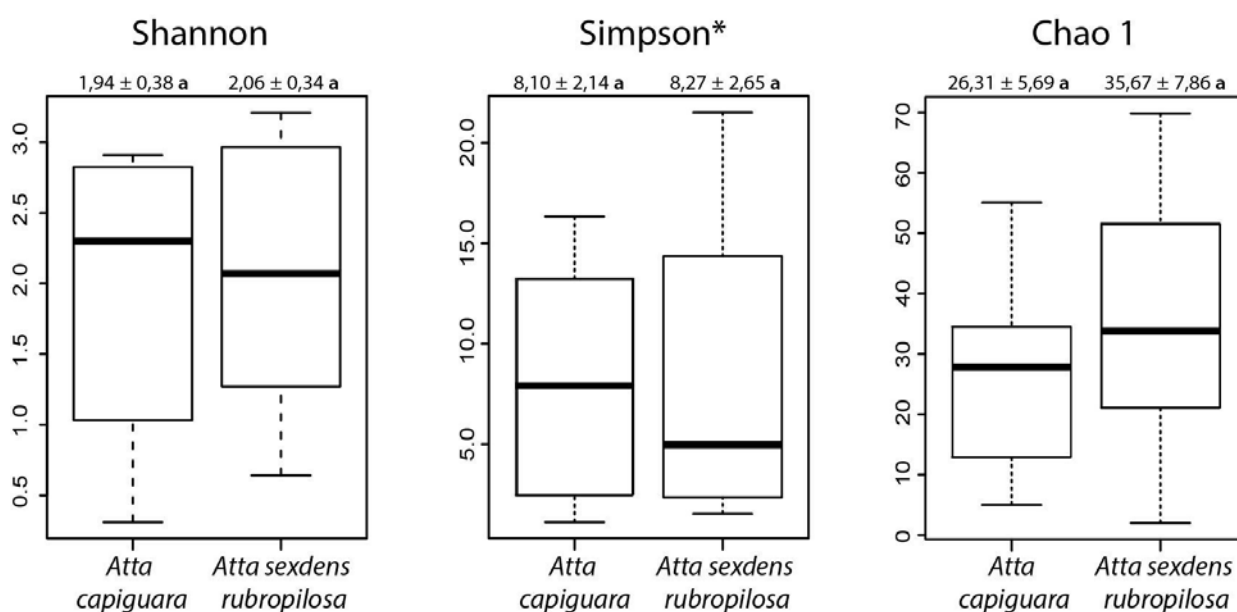
A e B – Vesículas cilíndricas cobertas por fiálides ampiliformes. B – Conídios em fiálides. C – Esporos. D e E – Morfologia da colônia crescida em MA2% a 25°C. Fonte: Elaborada pela autora.

5.4 Riqueza, diversidade e composição das comunidades de fungos nos jardins das formigas cortadeiras

A diversidade de fungos nos jardins das formigas cortadeiras foi avaliada segundo os índices de Simpson e Shannon. Os resultados indicam que não houve diferença significativa na diversidade de micro-organismos nos jardins de *A. sexdens rubropilosa* e *A. capiguara* (Mann-Whitney, $p > 0,05$, Figura 10).

O índice de Chao 1 foi utilizado para estimar a riqueza de espécies de fungos baseado no número de espécies raras (*singletons* e *dobletons*) presentes em cada comunidade. Segundo a análise, não houve diferença significativa na riqueza estimada de fungos nos jardins de *A. sexdens rubropilosa* e *A. capiguara* (Mann-Whitney, $p > 0,05$, Figura 10).

Figura 10 – Índices de diversidade e estimador de riqueza de espécies de fungos isolados de jardins de *Atta capiguara* e *Atta sexdens rubropilosa*. Médias seguidas de erro padrão.

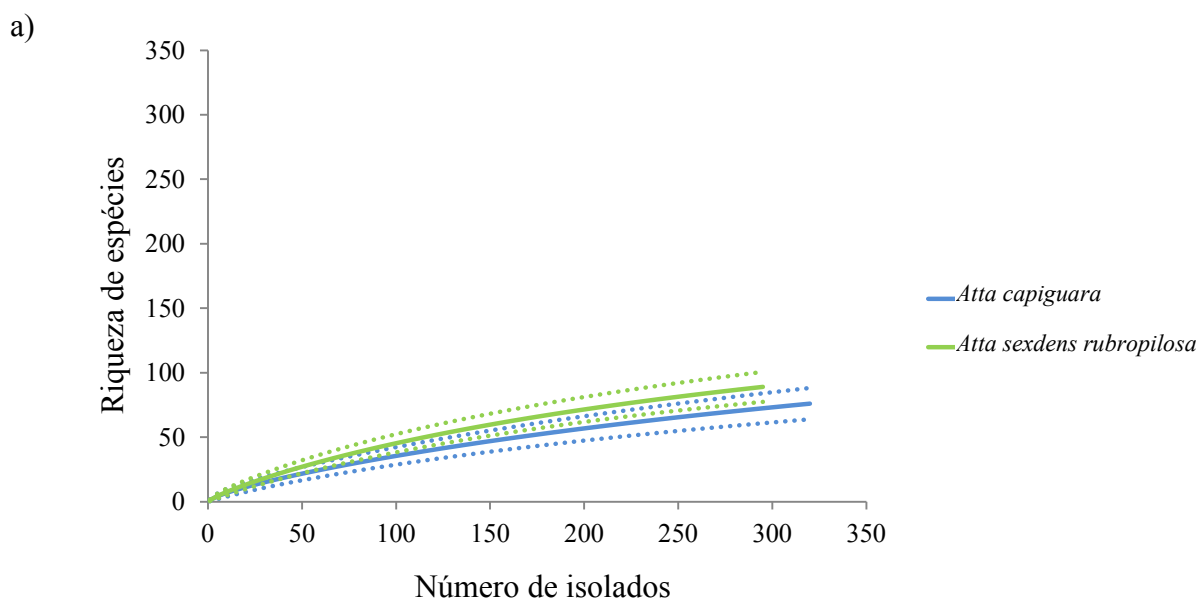


* Simpson inverso (1/D). Letras iguais indicam diferenças não significativas (Mann-Whitney, $p > 0,05$). Fonte: Dados da pesquisa.

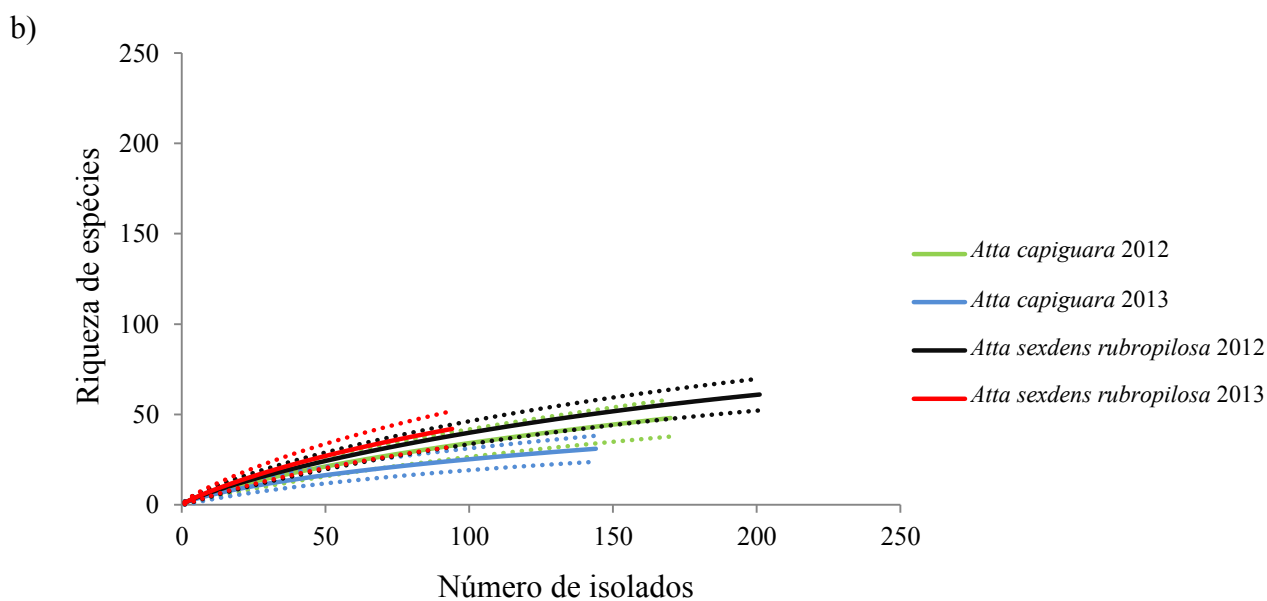
A curva de rarefação demonstra que os jardins de ambas as espécies de formigas apresentam riqueza de fungos semelhantes, a saber, pela sobreposição dos intervalos de confiança (Figura 11a). Por outro lado, o mesmo não ocorre quando compara-se as riquezas de espécies entre os períodos de coleta (Figura 11b). As curvas de rarefação sugerem que os jardins de *A. sexdens rubropilosa* amostrados em 2012 e 2013 apresentam maior riqueza de espécies em relação aos jardins de *A. capiguara* amostrados em 2013. Comparando a riqueza de fungos nos jardins *A. sexdens rubropilosa* em 2012 e 2013, observa-se uma semelhança na riqueza; o

mesmo ocorreu pra *A. capiguara* (Figura 11b). Todas as curvas de rarefação não atingiram uma assíntota, portanto, a análise sugere que um maior esforço amostral seria necessário para revelar a riqueza total de espécies.

Figura 11 – Curvas de rarefação demonstrando a riqueza de espécies de fungos provenientes de jardins de fungo. a) entre *Atta capiguara* e *Atta sexdens rubropilosa*. b) entre os anos de coleta para ambas as espécies de formigas.



As linhas pontilhadas representam os intervalos de confiança a 95% para cada amostra. As linhas sólidas representam a riqueza de fungos isolados de *Atta sexdens rubropilosa* (verde) e *Atta capiguara* (azul), respectivamente. Fonte: Dados da pesquisa.



As linhas pontilhadas representam os intervalos de confiança para cada amostra. As linhas sólidas representam a riqueza de fungos isolados de *Atta capiguara* 2012 (verde), *Atta capiguara* 2013 (azul), *Atta sexdens rubropilosa* 2012 (preta) e *Atta sexdens rubropilosa* 2013 (vermelha). Fonte: Dados da pesquisa.

Com relação à diversidade beta, os jardins das duas espécies de formigas estudadas compartilham um baixo número de espécies, segundo os índices de Jaccard (0.03 ± 0.01), Sorensen (0.06 ± 0.02) e Bray-Curtis (0.05 ± 0.02). Considerando somente os períodos de coleta, ambas as formigas também apresentaram um baixo compartilhamento de espécies, o que é observado pelo baixo valor dos índices amostrados (Tabela 4).

Tabela 4 – Índices de compartilhamento de espécies de fungos isolados de jardins de *Atta capiguara* e *Atta sexdens rubropilosa*, em dois períodos de coleta.

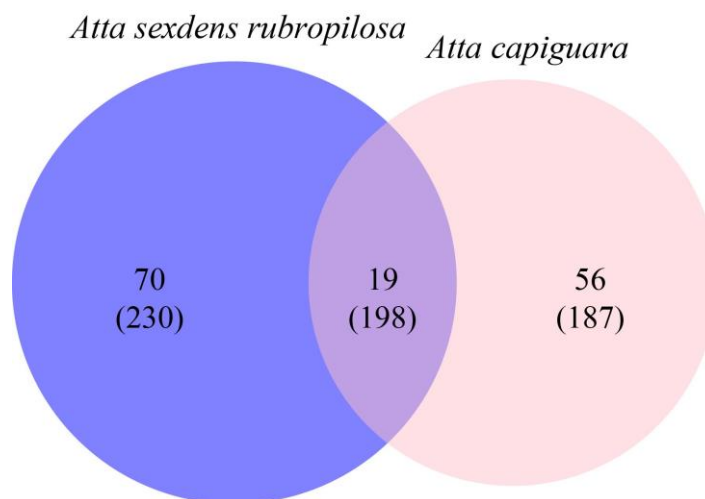
	Jaccard	Sorensen	Bray-Curtis
<i>Atta capiguara</i> 2012	$0.14 \pm 0.05^*$	0.23 ± 0.08	0.21 ± 0.08
<i>Atta capiguara</i> 2013	0.10 ± 0.03	0.17 ± 0.05	0.15 ± 0.11
<i>Atta sexdens rubropilosa</i> 2012	0.10 ± 0.04	0.18 ± 0.07	0.14 ± 0.07
<i>Atta sexdens rubropilosa</i> 2013	0.06 ± 0.02	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.05

*Médias seguidas do erro padrão para a comparação (par a par) entre os quatro ninhos amostrados para *Atta capiguara* em 2012. Fonte: Dados da pesquisa.

A comparação par a par entre os 16 jardins revelou que ninhos da mesma espécie de formiga tendem a compartilhar mais espécies de fungos do que entre os ninhos de espécie de formigas diferentes (dados não amostrados). Em vários casos, jardins de fungo de espécies diferentes de formigas não compartilharam nenhum táxon de fungo, por exemplo, os ninhos JSP 120410-02 (*A. capiguara*) e JSP 120401-05 (*A. sexdens rubropilosa*).

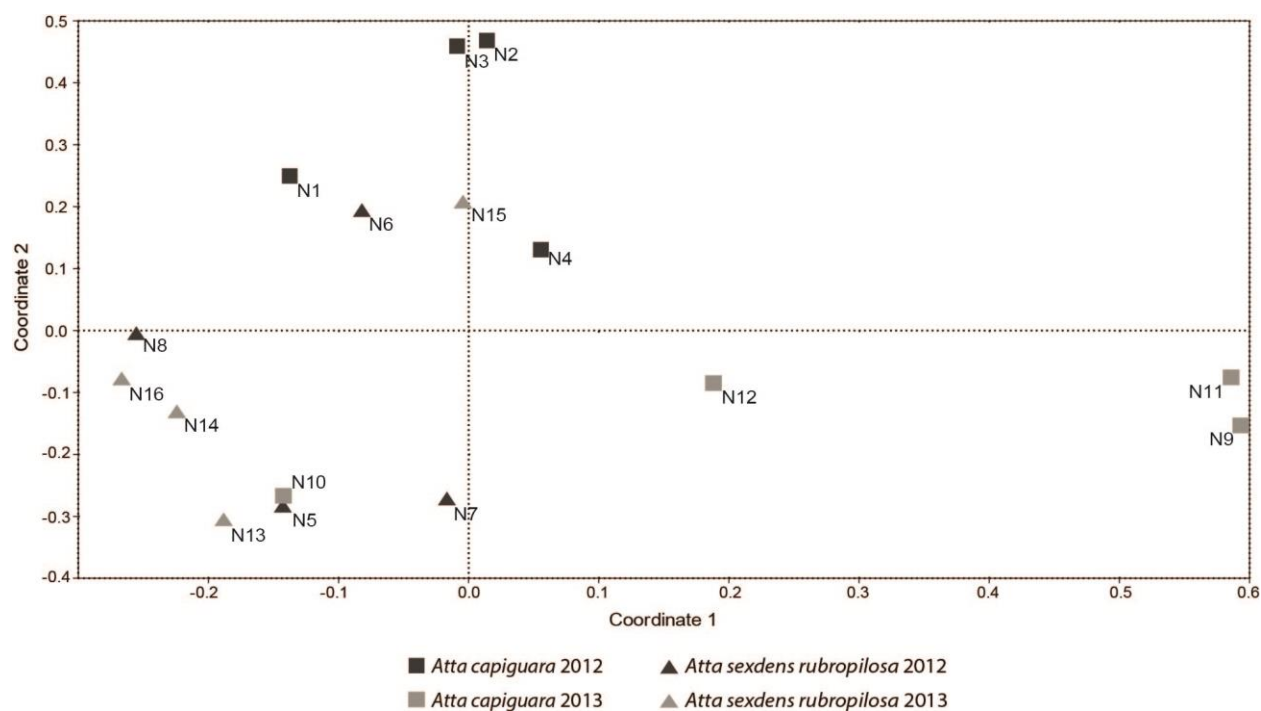
Representando o compartilhamento de táxons graficamente, pode-se notar no diagrama de Venn (Figura 12) que o número de táxons compartilhados entre as duas espécies de *Atta* é baixo ($n= 19$), o que corrobora com os resultados obtidos nos índices de compartilhamento. No entanto, nota-se que o número de isolados dos táxons compartilhados ($n= 198$) é próximo ao número de isolados para os táxons exclusivos de *A. capiguara* ($n= 188$) ou *A. sexdens rubropilosa* ($n= 229$, Figura 12). Esse resultado indica que as espécies compartilhadas são as mais abundantes e comuns nos jardins de ambas as formigas.

Figura 12 – Compartilhamento de táxons de fungos encontrados nos jardins de *Atta capiguara* e *Atta sexdens rubropilosa*. O número indica a quantidade de táxons por área; o número entre parênteses indica o número total de isolados.



Para investigar as possíveis relações entre as espécies de fungos e os ninhos de origem, foi realizada uma análise de ordenação dos dados. Os resultados gerados na análise de PCoA demonstraram um padrão na distribuição das comunidades de fungos (representadas na Figura 13 pelos ninhos amostrados). Analisando a coordenada 1 é possível observar que houve uma separação dos ninhos por espécie de formiga cortadeira, com exceção de alguns ninhos, sendo que os ninhos de *A. sexdens rubropilosa* se mantiveram mais próximos, quando comparados aos ninhos de *A. capiguara*. Em relação a coordenada 2 é possível observar que para *A. capiguara* houve separação das comunidades de fungos encontradas nos jardins dessa formiga por período de coleta (Figura 13). Por outro lado, as comunidades de fungos amostradas para *A. sexdens rubropilosa* não apresentaram separação por período de coleta (Figura 13). Portanto, o tipo de substrato vegetal e o período de coleta são variáveis que podem influenciar a estrutura das comunidades de fungos presentes nos jardins dessas formigas.

Figura 13 – Análise de coordenadas principais (PCoA), demonstrando a estrutura das comunidades de fungos encontradas nos jardins de *Atta capiguara* (n= 8 ninhos) e *Atta sexdens rubropilosa* (n= 8 ninhos).



Fonte: Dados da pesquisa

A análise de SIMPER identificou as espécies que mais contribuíram para as diferenças de composição entre as comunidades de fungos de *A. capiguara* e *A. sexdens rubropilosa*. As espécies *Trichoderma spirale*, *Penicillium citrinum*, *Trichosporon chiarellii* e *Escovopsis* sp. juntas, contribuíram com aproximadamente 40% das diferenças de composição entre as comunidades das duas espécies de formigas avaliadas.

6 DISCUSSÃO

No presente trabalho foi realizado um levantamento das comunidades de fungos encontradas em 16 jardins de fungo amostrados para duas espécies de formigas cortadeiras, *A. sexdens rubropilosa* (cortadeira de dicotiledônea) e *A. capiguara* (cortadeira de monocotiledônea). Com base em técnicas dependentes de cultivo foi possível comparar a riqueza, diversidade, composição e estrutura das comunidades de fungos entre as duas espécies de formigas.

Independente do meio de cultivo utilizado, o método de isolamento permitiu recuperar proporções semelhantes de fungos nos fragmentos de jardins (Figura 5b). Isso demonstra que apesar das diferentes espécies de fungos encontradas, muitas delas foram capazes de se desenvolver nos três meios de cultivo utilizados, resultando em proporções semelhantes de fungos obtidos para cada meio. BDA foi o meio que apresentou uma tendência de recuperar uma menor proporção de fragmentos com fungos não-mutualistas, em relação aos fragmentos com o fungo mutualista. Sendo este meio o mais rico em nutrientes (açúcares simples) empregado neste estudo, é provável que ocorreu o favorecimento do crescimento do fungo mutualista, pois sabe-se que este assimila prontamente esse carboidrato (SILVA et al., 2006, ver detalhes em Apêndice B).

No geral, os jardins das formigas cortadeiras apresentaram uma elevada proporção de fungos. Considerando os jardins de *A. sexdens rubropilosa* e *A. capiguara*, houve diferença na proporção de fragmentos com o crescimento de fungos (Figura 5a). Contudo, as proporções observadas no presente estudo (72% para *A. capiguara* e 53% para *A. sexdens rubropilosa*) foram superiores aos valores encontrados em outros trabalhos que utilizaram métodos semelhantes de isolamento. Currie, Mueller e Malloch (1999) analisando várias espécies de *Atta* na América Central encontraram uma proporção de 30% de fragmentos de jardins com a presença de fungos. Rodrigues et al. (2011) encontraram uma proporção de aproximadamente 40% dos fragmentos com fungos em jardins de *Atta texana*, na América do Norte. Essas proporções, em conjunto com aquelas obtidas no presente estudo, demonstram que os jardins de formigas cortadeiras abrigam diversos fungos, além do fungo mutualista.

Ainda em relação à proporção de fungos obtidos, a diferença encontrada provavelmente esteja relacionada ao comportamento das formigas. Estudos sugerem que formigas filogeneticamente basais da tribo Attini apresentam comportamento mais simples em relação ao tratamento e cuidado do substrato vegetal antes de incorporá-lo nos jardins. Já os gêneros mais derivados da tribo, como *Atta* e *Acromyrmex*, apresentam comportamentos mais elaborados de

higiene (MANGONE; CURRIE, 2007; DINIZ; BUENO, 2010), impedindo que os fungos indesejáveis se estabeleçam e prejudiquem os jardins. Essas diferenças no tratamento do substrato vegetal refletem na proporção de fungos recuperados, pois nas formigas basais uma maior proporção de fungos é encontrada nos jardins, quando comparada com as formigas mais derivadas (CURRIE, MUELLER MALLOCH, 1999).

Nesse contexto, as diferenças observadas na proporção de fragmentos com fungos das duas formigas cortadeiras avaliadas no presente estudo também pode ser explicada pelo comportamento dessas espécies. É sabido que *A. sexdens rubropilosa* e *A. capiguara* apresentam diferenças marcantes no preparo do substrato vegetal antes de incorporá-lo no jardim de fungo (FOWLER; ROBINSON, 1979; ANDRADE et al., 2002; GARCIA, 2005). As operárias de *A. sexdens rubropilosa* raspam e lambem os fragmentos vegetais, seguida de mastigação (ANDRADE et al., 2002). Esse comportamento modifica o substrato vegetal de modo que pequenos fragmentos são incorporados no jardim, e nos quais o fungo mutualista é inoculado. Por outro lado, as operárias de *A. capiguara* raspam e lambem certas regiões dos fragmentos foliares, entretanto, esses não são mastigados de modo que fragmentos maiores são incorporados no jardim, em comparação com os fragmentos incorporados por *A. sexdens rubropilosa* (GARCIA, 2005). O fato de *A. capiguara* não mastigar totalmente o material vegetal talvez não possibilite que secreções antimicrobianas presentes na glândulas mandibulares (YEK et al., 2012) entrem em contato com todo o substrato, explicando o porque mais fungos foram recuperados nos jardins dessas formigas.

Levando em consideração os comportamentos descritos acima, eram esperadas diferenças na riqueza e diversidade de fungos encontrados nos jardins dessas formigas. Contudo, tanto a riqueza, quanto a diversidade foram semelhantes (Figuras 10 e 11a). Embora o preparo do substrato vegetal seja diferenciado, ambas as espécies de formigas necessitam impedir o crescimento de fungos indesejáveis que possam competir com o mutualista (SILVA et al., 2006; FOLGARAIT et al., 2011). Nesse contexto, as formigas e seus micro-organismos simbioss (CURRIE et al., 1999; CAFARO; CURRIE, 2005), provavelmente, são os responsáveis por manterem o jardim com uma baixa população de fungos, o que pode explicar o porque a riqueza e a diversidade foram semelhantes. Outro ponto que pode explicar esse resultado é o viés inerente ao método de isolamento empregado. É provável que os meios de cultivo utilizados permitiram que certas espécies de fungos, que apresentam rápido crescimento, por exemplo: *T. spirale*, se estabelecesse com facilidade, impedindo o isolamento de fungos com crescimento mais lento; desse modo proporcionando, portanto, uma riqueza e diversidade semelhantes.

Apesar das semelhanças encontradas na riqueza de espécies e diversidade, os jardins de *A. sexdens rubropilosa* e de *A. capiguara* apresentaram um baixo compartilhamento de táxons de fungos; o que significa que as comunidades desses micro-organismos estão mais relacionadas a uma espécie de formiga do que a outra. Assim, pode-se observar um baixo número de táxons compartilhados e notar que os táxons de fungos comuns entre as formigas são aqueles de maior abundância (Tabela 3 e Figura 12). Por exemplo, *T. spirale* foi comum aos jardins de ambas as formigas e foi a espécie mais abundante. Considerando o período de coleta, foi observado um baixo valor nos índices de compartilhamento de táxons de fungos para cada espécie de formiga (Tabela 4). Esse resultado indica que o período de coleta esteja relacionado com as diferenças observadas na composição dos táxons.

O resultado referente à análise PCoA indica que o substrato vegetal forrageado pelas formigas cortadeiras seja um dos fatores que influencie as comunidades de fungos encontradas nos jardins desses insetos, representado pela divisão por espécies de formigas na análise (Figura 13). Pode-se sugerir que os diferentes substratos vegetais forrageados pelas formigas, por apresentarem comunidades associadas distintas, acarretaram em comunidades de fungos diferenciadas nos jardins. Rodrigues et al. (2011) sugeriram que o substrato vegetal poderia influenciar as comunidades de fungos presentes nos jardins de formigas Attini estudadas no Texas, EUA. Contudo, esses autores não avaliaram se de fato o substrato foi o fator mais importante que contribuiu para a estrutura das comunidades, pois amostraram diferentes espécies de formigas em diferentes localidades. O presente estudo, por avaliar duas formigas diferentes presentes em uma mesma localidade, demonstra que o tipo de substrato vegetal é um dos fatores que influenciam as comunidades de fungos desses insetos.

Entretanto, nossa análise demonstrou que o período de coleta (2012 e 2013) também contribuiu para explicar a estrutura das comunidades associadas aos jardins das formigas cortadeiras, a saber: ninhos de *A. capiguara* apresentaram estruturas de comunidades diferenciadas entre os períodos de coleta; por outro lado, para *A. sexdens rubropilosa*, essa separação não ficou explícita na análise. O período pode ter influenciado devido às condições climáticas nos meses que antecederam a coleta (periodicidade das chuvas). Salienta-se que para determinar a real contribuição desses fatores na estruturação da comunidade são necessários estudos adicionais que levem em consideração coletas em períodos diferentes e a uniformidade da idade das colônias que, possivelmente, também pode influenciar no agrupamento das comunidades. Quanto ao último aspecto, percebe-se que o ninho 10 (*A. capiguara*) foi o único ninho maduro amostrado para essa espécie de formiga, o qual se agrupou com os ninhos maduros de *A. sexdens rubropilosa*.

Outro fator que pode explicar o agrupamento do ninho 10 (*A. capiguara*) com ninhos de *A. sexdens rubropilosa*, foi o fato de observar que nesse ninho, houve a presença de *Trichoderma* sp. em 100% dos fragmentos amostrados. Acredita-se que a abundância desse gênero e a ausência de fragmentos com o fungo mutualista nesse ninho seja dada pelo intervalo de quatro dias entre a coleta e o isolamento dos fungos no laboratório (ver detalhes na Tabela 1). Como já proposto por Fisher et al. (1996), o atraso pode ter levado a alguma deterioração da cultura *L. gongylophorus* e expressão excessiva de outros fungos, na ausência dos cuidados das operárias.

Em relação às espécies de fungos encontradas, *T. spirale* foi a espécie prevalente no estudo e nos jardins de *A. capiguara*, sendo também encontrada nos ninhos de *A. sexdens rubropilosa*. Rodrigues et al. (2013), estudando solos próximos às câmaras dos ninhos de duas espécies de formigas cortadeiras também observaram *T. spirale* como um dos fungos prevalentes, porém, essa espécie também foi a prevalente a 10 metros de distância dos ninhos, demonstrando que o solo é o provável reservatório natural desse fungo. Algumas espécies desse gênero foram reportadas tanto nos jardins de fungo (RODRIGUES et al., 2005, 2008b), quanto no material de refugio das colônias (RODRIGUES et al., 2005; LACERDA et al., 2013); bem como no exoesqueleto das içás (fêmeas aladas) de *A. capiguara* e *Atta laevigata* (PAGNOCCA et al., 2008). Apesar de não serem considerados específicos da associação formiga-fungo, Ortiz e Orduz (2000) e Silva et al. (2006) apontam para o potencial de *Trichoderma* sp. como antagonista do fungo das formigas. Adicionalmente, *T. spirale* foi um dos responsáveis pelas diferenças entre as comunidades de fungos de ambas as espécies de formigas, demonstrando a importância dessa espécie nas comunidades de fungos.

O parasita *Escovopsis* sp. foi encontrado em 19% dos ninhos amostrados no presente estudo. Segundo Rodrigues et al. (2005), a frequência de ocorrência desse fungo em ninhos de formigas cortadeiras, em São Paulo, foi de 15% dos ninhos de campo e 21% em ninhos de laboratório de *A. sexdens rubropilosa* (RODRIGUES et al., 2005), podendo ser encontrado em até 27% dos ninhos coletados no sul do Brasil (RODRIGUES et al., 2008b). Assim, a proporção desse parasita encontrada no presente estudo assemelha-se à aquela encontrada em estudos prévios. Já em ninhos amostrados na América Central, *Escovopsis* pode ser encontrado em até 75% dos jardins (CURRIE; MUELLER; MALLOCH, 1999; CURRIE, 2001). O cenário da ocorrência de *Escovopsis* apresenta uma baixa frequência na América do Norte, frequência moderada nas populações de formigas da América do Sul (Brasil) e elevada frequência do parasita nas populações de formigas da América Central (RODRIGUES et al., 2011). Esse cenário foi elaborado com base nos trabalhos de Rodrigues et al. (2005) e Rodrigues et al. (2008b) que utilizaram métodos de isolamento diferentes dos estudos de Currie, Mueller e

Malloch (1999) e Currie (2001). Assim, o presente estudo corrobora as baixas porcentagens observadas para *Escovopsis* sp. na região sudeste do Brasil, e com o cenário epidemiológico sugerido por Rodrigues et al. (2011).

Em relação às espécies de fungos encontradas, a principal diferença observada é o fato de não encontrar as espécies *P. citrinum* nos jardins de *A. sexdens rubropilosa* e *T. chiarellii* nos jardins de *A. capiguara*, sendo que essas duas espécies de fungos estão entre as mais abundantes. *Penicillium citrinum* já foi encontrado associado às plantas monocotiledôneas (SAMSON et al. 2004), porém, seria arbitrário fazer a associação desse fungo com gramíneas, já que fungos desse gênero são reconhecidamente cosmopolitas (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980). É importante destacar que a espécie *T. chiarellii* foi isolada até o momento somente de ninhos de formigas Attini (CARVALHO, 2010; PAGNOCCA et al., 2010; ARCURI, 2013; MANTOVANI, 2013). Tal fungo pode ter uma relação mais específica com as formigas, porém, ainda não foi estudada. Embora *T. chiarellii* tenha sido isolada de apenas três ninhos de *A. sexdens rubropilosa*, em um deles essa levedura representou 80% dos isolados, o que sugere que esta levedura pode desempenhar um papel como simbiote no jardim de fungo dessa formiga. O fato de não encontrar essa levedura nos ninhos de *A. capiguara*, pode ser devido a alta taxa de contaminação por bactérias nesses fragmentos, impossibilitando o isolamento de *T. chiarellii*.

Ainda sobre o papel das leveduras, Mendes et al. (2012) levantaram a importância das leveduras como produtoras de enzimas polissacaridases que permitem a degradação do substrato vegetal, possivelmente disponibilizando nutrientes nos jardins de fungo. Segundo os autores, estas enzimas podem auxiliar o fungo mutualista a degradar o substrato vegetal coletado pelas operárias. Além disso, as leveduras podem desempenhar um papel de agente detoxificante do ninho, assimilando compostos que não são assimilados pelo fungo mutualista e que podem ser tóxicos para as formigas, por exemplo, o ácido galacturônico (SILVA et al., 2003). Rodrigues et al. (2009) demonstraram que algumas leveduras são capazes suprimir o crescimento micelial de alguns fungos prejudiciais encontrados nos ninhos das formigas Attini. Esses relatos, em conjunto, podem demonstrar a importância desses micro-organismos como parte integrante dos jardins e não apenas transitórios, como proposto por Poulsen e Currie (2006).

É sabido que a maioria dos fungos obtidos no presente estudo podem ser encontrados em outras fontes, como solo, partes de vegetais (raízes, folhas etc), amostras de ar, de água, rochas e o próprio jardim de fungo (Tabela 3). Nesse grupo incluem: *Trichoderma* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* sp., e vários outros (Tabela 3). Fungos provenientes do solo adjacente às câmaras de jardim de fungo e de solos distantes a elas, podem ser reservatórios naturais para os fungos encontrados nos jardins (RODRIGUES et al., 2013). Essa

evidência demonstrou que as formigas carregam para as colônias os micro-organismos aí presentes (RODRIGUES et al., 2013). Além disso, Fisher et al. (1996) estudando jardins de *A. cephalotes*, demonstraram a influência do substrato vegetal nas comunidades de fungos encontradas nos ninhos. Esses autores observaram que ao oferecer um substrato diferente para as formigas, ocorriam alterações na microbiota residente do jardim. O perfil de fungos nos jardins submetidos a diferentes regimes de manutenção no laboratório revelou uma comunidade epifítica e endofítica variada, segundo o tipo de substrato oferecido. Esse estudo foi realizado utilizando ninhos de formigas mantidos em laboratório. Nesse sentido o presente estudo confirmou os resultados de Fisher et al. (1996) para ninhos de campo, no que tange às diferenças na composição de espécies de fungos entre os jardins das duas espécies de cortadeiras avaliadas.

Observando a diversidade de fungos obtida, percebe-se que a maioria dos fungos é reconhecidamente cosmopolita, por exemplo, *Penicillium* sp. é amplamente encontrado no solo das regiões temperadas e tropicais; o gênero *Fusarium* pode ser encontrado como parasita de plantas em diversas regiões, bem como no solo; *Trichoderma* é um fungo frequentemente isolado do solo; e *Cladosporium* considerado um fungo típico advindo do ar (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980). Além desses fungos, outros encontrados no presente estudo já foram reportados nos jardins de diversas espécies de formigas, a saber os gêneros: *Acremonium*, *Colletotrichum*, *Pestalotiopsis*, *Phomopsis*, *Trichoderma* e *Xylaria* (RODRIGUES et al., 2011). Sendo que, estes gêneros já foram encontrados associados às plantas, como fungos endofíticos (AZEVEDO, 1998; RUBINI et al., 2005; VAN BAEL et al., 2009; VAN BAEL et al., 2012). Os dados obtidos sugerem que fungos isolados de jardins de formigas podem ser isolados de outras localidades podendo não ter um papel específico nos jardins, porém, sabe-se que muitos desses fungos podem ser antagonistas frente ao fungo mutualista das formigas (SILVA et al., 2006; FOLGARAIT et al., 2011; PAGNOCCA; MASIULIONIS; RODRIGUES, 2012).

Outro ponto de vista observado por Urriola, Bethancourt e Van Bael (2011) e também por Van Bael et al. (2009) foi que o comportamento das formigas em relação a escolha do substrato a ser coletado pode sugerir uma influência negativa dos fungos encontrados nas folhas. As formigas preferem coletar folhas mais novas e com baixa carga de fungos endofíticos. Complementam também que o fungo mutualista das formigas deve inibir os endofíticos que não são removidos pelas operárias. Van Bael et al. (2009) observaram em experimentos *in vitro*, que de fato os endofíticos foram inibidos pelo fungo mutualista das formigas. Se os endofíticos inibem ou retardam o crescimento do fungo das formigas, no entanto, isto ainda não foi testado.

Pagnocca, Masiulionis e Rodrigues (2012) sugerem que os fungos filamentosos sejam oportunistas e podem atuar como antagonistas no mutualismo entre as formigas e o fungo, em

jardins em estado de desequilíbrio (i.e. tratados com inseticidas, por exemplo). Em comparação com o fungo parasita especializado *Escovopsis* sp., esses fungos filamentosos são considerados antagonistas inespecíficos do fungo mutualista das formigas. Assim, o presente estudo corrobora essa hipótese, pois vários fungos potencialmente antagonistas foram encontrados nos jardins de *A. sexdens rubropilosa* e *A. capiguara*. Além disso, comparando ambas as formigas, este trabalho demonstrou que cada uma delas, aparentemente, abriga uma comunidade de fungos antagonistas diferenciada.

7 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo sugerem que:

- Jardins de formigas cortadeiras abrigam uma grande variedade e abundância de fungos não cultivados como alimento por esses insetos;
- Formigas cortadeiras que utilizam diferentes substratos para o cultivo do fungo mutualista apresentam nos jardins uma carga (abundância) de fungos diferenciada, possivelmente relacionada com os comportamentos das formigas em relação à limpeza do substrato vegetal;
- A composição de espécies de fungos presentes nos jardins das formigas cortadeiras está diretamente relacionada com o tipo de substrato vegetal forrageado por esses insetos, contudo, outros fatores (por exemplo: período de coleta) também podem contribuir na estruturação das comunidades de fungos.
- Assim como observado em outros estudos, representantes do gênero *Trichoderma* são dominantes nos jardins das formigas cortadeiras. Esses fungos aparentam ser mais dominantes que o próprio parasita especializado *Escovopsis* sp.

8 PERSPECTIVAS

A microbiota associada aos jardins de formigas cortadeiras apresenta uma composição complexa de micro-organismos. Entender os fatores que regulam tais comunidades nos jardins é essencial para descobrir os possíveis papéis que esses micro-organismos desempenham nesse substrato. O presente estudo permitiu verificar a influência de um desses fatores (substrato), contudo, outros também podem contribuir na estruturação das comunidades. Estudos futuros deverão avaliar o efeito da idade da colônia (ou da “ontogenia da colônia”) nas comunidades de fungos, pois é possível que colônias maduras apresentem uma “imunidade” desenvolvida em relação aos fungos que adentram no jardim.

Em adição, conhecer os fatores que promovem a estruturação das comunidades pode abrir janelas de pesquisas aplicadas ao controle desses insetos pragas. Formigas que mantêm contato com diferentes comunidades de fungos podem apresentar patógenos diferenciados. Trabalhos futuros poderão direcionar esforços na busca de fungos que sejam eficazes no controle dessas formigas, preferencialmente, avaliando as comunidades de fungos que estão naturalmente associadas a cada espécie de formiga.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, G. C.; ROUX, J.; WINGFIELD, M. J. *Cytospora* species (*Ascomycota*, *Diaporthales*, *Valsaceae*): introduced and native pathogens of trees in South Africa. **Australasian Plant Pathology**, Melbourne, v. 35, n. 5, p. 521-548, 2006.
- ADAMS, G. C.; WINGFIELD, M. J.; COMMON, R.; ROUX, J. Phylogenetic relationships and morphology of *Cytospora* species and related teleomorphs (*Ascomycota*, *Diaporthales*, *Valsaceae*) from *Eucalyptus*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 52, [s.n.], p. 1-144, 2005.
- ANDERSEN, S. B.; HANSEN, L. H.; SAPOUNTZIS, P.; SØRENSEN, S. J.; Boomsman, J. J. Specificity and stability of the *Acromyrmex*–*Pseudonocardia* symbiosis. **Molecular ecology**, Oxford, v. 22, n. 16, p. 4307-4321, 2013.
- ANDRADE, A.P.P.; FORTI, L.C.; MOREIRA, A.A.; BOARETTO, M.A.C.; RAMOS, V.M.; MATOS, C.A.O. Behavior of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers during the preparation of the leaf substrate for symbiont fungus culture. **Sociobiology**, Chico, v. 40, n. 2, p. 293-306, 2002.
- ANES, M.; TRONSMO, A.; EDEL-HERMANN, V.; HJELJORD, L.G.; HÉRAUD C.; STEINBERG, C. Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. **Fungal Biology**, Oxford, v. 114, n. 9, p. 691-701, 2010.
- ARABATZIS, M.; VELEGRAKI, A. A 10 year survey on sequence-based identification and susceptibility patterns of common and emerging mold pathogens in Greece. Unpublished, 2013.
- ARAÚJO, M. S.; RIBEIRO, M. M. R.; MARINHO, C. G. S.; OLIVEIRA, M. A.; DELLALUCIA, T. M. C. Fundação e estabelecimento de formigueiros. In: DELLA-LUCIA, T. M. C. **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1 ed. Viçosa: UFV, p. 173-188, 2011.
- ARCURI, S. L. **Taxonomia e características metabólicas de leveduras isoladas de bitus de *Atta sexdens rubropilosa***. Dissertação de Mestrado, UNESP, Rio Claro, Brasil, 2013.
- ARNOLD, A. E. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. **Fungal Biology Reviews**, London, v. 21, n. 2, p. 51-66, 2007.
- AUGUSTIN, J. O.; GROENEWALD, J. Z.; NASCIMENTO, R. J.; MIZUBUTI, E. S. G.; BARRETO, R. W.; ELLIOT, S. L.; EVANS, H. C. Yet More “Weeds” in the Garden: Fungal Novelty from Nests of Leaf-Cutting Ants. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 12, p. e82265, 2013.
- AUTUORI, M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp.- Hymenoptera-Formicidae). I – Evolução do saúveiro (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 12, [s.n.], p. 197-226, 1941.
- AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.) **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA, p. 117-137, 1998.
- BALTAZAR, J. M.; DRECHSLER-SANTOS, E. R.; RYVARDEN, L.; CAVALCANTI, M. A. Q.; GIBERTONI, T. B. Contribution to the knowledge of polypores (*Agaricomycetes*) from the

Atlantic forest and Caatinga, with new records from Brazil. **Mycosphere**, Chiang Rai, v. 3, n. 3, p. 267-280, 2012.

BARBA, P. M.; PORTERO, C. E.; ORELLANA, E. A.; VILLOTA, S. D.; GONZALEZ-PEREZ, L.; NARVAEZ-TRUJILLO, A. The collection of endophytes of the Pontificia Universidad Catolica del Ecuador (CE-QCA): a contribution to the knowledge of Ecuadorian biodiversity and to the research for the development of bioproducts. Unpublished, 2013.

BARBOSA, V. S. **Efeito da fragmentação florestal na taxa de parasitismo de fungos associados ao jardim da formiga cortadeira *Atta laevigata***, Dissertação de Mestrado, UFPE, Recife, Brasil, 2004.

BARBOSA, V. S.; WIRTH, R.; SOUZA MOTTA C. M.; LEAL, I. R. Fungos encontrados em ninhos de formigas cortadeiras (*Atta laevigata*) em fragmentos de floresta atlântica no nordeste do Brasil. **6º Congresso de Ecologia do Brasil**, Fortaleza, Brasil, 2003.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3 ed. Minneapolis: Burgess Publishing, 1972. 241p.

BARRATT, S. R.; ENNOS, A. R.; GREENHALGH, M.; Robson, G. D.; Handley, P. S. Fungi are the predominant micro-organisms responsible for degradation of soil-buried polyester polyurethane over a range of soil water holding capacities. **Journal of applied microbiology**, Oxford, v. 95, n. 1, p. 78-85, 2003.

BARRON, G. L. **The Genera of Hyphomycetes from soil**. Robert E. Krieger Publishing Company, New York, 1968. 364p.

BASS, M.; CHERRETT, J. M. The role of leaf-cutting ant workers (Hymenoptera: Formicidae) in fungus garden maintenance. **Ecological Entomology**, Oxford, v. 19, n. 3, p. 215-220, 1994.

BEATTIE, A.J.; HUGHES, L. Ant-plant interactions. In: HERRERA, C.M.; PELLMYR, O. (Ed). **Plant-animal interactions: an evolutionary approach**. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science, p. 211-235, 2003.

BENSCH, K.; GROENEWALD, J. Z.; DIJKSTERHUIS, J.; STARINK-WILLEMSE, M.; ANDERSEN, B.; SUMMERELL, B. A.; SHIN, H. D.; DUGAN, F. M.; SCHROERS, H. J.; BRAUN, U.; CROUS, P.W. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiiales*). **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 67, n. 1, p. 1-94, 2010.

BERRIN, J. G.; NAVARRO, D.; COUTURIER, M.; OLIVÉ, C.; GRISEL, S.; HAON, M.; TAUSSAC, S.; LECHAT, C.; COURTECUISSÉ, R.; FAVEL, A.; COUTINHO, P. M.; LESAGE-MEESSEN, L. Exploring the natural fungal biodiversity of tropical and temperate forests toward improvement of biomass conversion. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 78, n. 18, p. 6483-6490, 2012.

BHAGOBATY, R. K.; JOSHI, S. R. Promotion of seed germination of Green gram and Chick pea by *Penicillium verruculosum* RS7PF, a root endophytic fungus of *Potentilla fulgens* LJ Adv. **Biotech**, Klampenborg, v. 8, n. 12, p. 16-18, 2009.

- BOT, A. N. M.; REHNER, S. A.; BOOMSMA, J. J. Partial incompatibility between ants and symbiotic fungi in two sympatric species of *Acromyrmex* leaf-cutting ants. **Evolution**, Oxford, v. 55, n. 10, p. 1980-1991, 2001.
- BRANDÃO, C. R. F.; MAYHÉ-NUNES, A. J.; SANHUDO, C. E. D. Taxonomia e filogenia das formigas-cortadeiras. In: DELLA-LUCIA, T. M. C. **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1 ed. Viçosa: UFV, p. 28-48, 2011.
- BRAZEE, N. J.; LINDNER, D. L.; FRAVER, S.; D'AMATO, A. W.; MILO, A. M. Wood-inhabiting, polyporoid fungi in aspen-dominated forests managed for biomass in the US Lake States. **Fungal Ecology**, Berlin, v. 5, n. 5, p. 600-609, 2012.
- BRUM, M. C. P. et al. Endophytic fungi from *Vitis labrusca* L. ('Niagara Rosada') and its potential for the biological control of *Fusarium oxysporum*. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 4, p. 4187-4197, 2012.
- CAFARO, M. J.; CURRIE, C. R. Phylogenetic analysis of mutualistic filamentous bacteria associated with fungus-growing ants. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 51, n. 6, p. 441-446, 2005.
- CAMPOS, F. F.; SALES JUNIOR, P. A.; ROMANHA, A. J.; ARAUJO, M. S. S.; RESENDE, J. M.; SIQUEIRA, E. P.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; MARTINS FILHO, O. A.; SANTOS, V. L.; ROSA, C. A.; COTA, B. B. Endophytic fungi isolated from *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood) as source of leishmanicidal, trypanocidal, antimicrobial and cytotoxic metabolites. Unpublished, 2013.
- CANNON, P. F.; Damm, U.; Johnston, P. R.; Weir, B. S. *Colletotrichum*—current status and future directions. **Studies in mycology**, Utrecht, v. 73, n. 1, p. 181-213, 2012.
- CARMICHAEL, J. W.; KENDRICK, W. B.; CONNERS, I. L.; SINGLER, L. **Genera of Hyphomycetes**. Edmonton, Alberta: The University of Alberta Press, 1980. 386p.
- CARREIRO, S. C.; PAGNOCCA F. C.; BACCI, M. Jr.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; MIDDELHOVEN, W. J. Occurrence of killer yeasts in leaf-cutting ant nests. **Folia Microbiologica**, Praga, v. 47, n. 3, p. 259–262, 2002.
- CARREIRO, S. C.; PAGNOCCA, F. C.; BACCI, M. Jr.; LACHANCE, M. A.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; RUIVO, C. C. C.; ROSA, C. R. *Sympodiomyces attinorum* sp. nov., a yeast species associated with nests of the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, n. 5, p. 1891– 1894, 2004.
- CARVALHO, T. F. C. **Leveduras isoladas de ninhos de formigas da tribo Attini (Hymenoptera: Formicidae)**. Dissertação de Mestrado, UNESP, Rio Claro, Brasil, 2010.
- CHANG, J. H.; KAO, H. W.; WANG, Y. Z.. Molecular Phylogeny of *Cercophora*, *Podospora*, and *Schizothecium* (Lasiosphaeriaceae, Pyrenomycetes). **Taiwania**, Taiwan, v. 55, n. 2, p. 110-116, 2010.
- CHAO, A.; CHAZDON, R. L.; COLWELL, R. K.; SHEN, T. J. A new statistical approach for assessing similarity of species composition with incidence and abundance data. **Ecology Letters**, Oxford, v. 8, n. 2, p. 148-159, 2005.

CLARKE, K. R. Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure. **Australian Journal of Ecology**, Carlton, v. 18, n. 1, p. 117-143, 1993.

COBLENTZ, K. E.; VAN BAELE, S.A. Field colonies of leaf-cutting ants select plant materials containing low abundances of endophytic fungi. **Ecosphere**, Nova York, v. 4, n. 5, p. 1-10, 2013.

COLWELL, R. K. **EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples**. Version 9. User's Guide and application published at: <http://purl.oclc.org/estimates>, 2013.

CRAVEN, S. E.; DIX, M. W.; MICHAELS, G. E. Attine fungus gardens contain yeasts. **Science**. Washington, v. 169, n. 3941, p. 184-186, 1970.

CROUS, P. W. et al. Fungal Planet description sheets: 154–213. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Leiden, v. 31, n. 1, p. 188-296, 2013.

CROUS, P. W.; SCHUBERT, K.; BRAUN, U.; HOOG, G. S. DE; HOCKING, A. D.; SHIN, H.-D.; GROENEWALD, J. Z. Opportunistic, human-pathogenic species in the *Herpotrichiellaceae* are phenotypically similar to saprobic or phytopathogenic species in the *Venturiaceae*. **Studies in mycology**, Utrecht, v. 58, n. 1, p. 185-217, 2007a.

CROUS, P. W.; SUMMERELL, B. A.; CARNEGIE, A. J.; MOHAMMED, C.; HIMAMAN, W.; GROENEWALD, J. Z. Follicolous *Mycosphaerella* spp. and their anamorphs on *Corymbia* and *Eucalyptus*. **Fungal Diversity**, Dordrecht, v. 26, n. 1, p. 143-185, 2007b.

CROUS, P. W.; SUMMERELL, B. A.; CARNEGIE, A. J.; WINGFIELD, M. J.; GROENEWALD, J. Z. Novel species of *Mycosphaerellaceae* and *Teratosphaeriaceae*. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Leiden, v. 23, [s.n.], p. 119, 2009.

CUNHA, K. C.; SUTTON, D. A.; FOTHERGILL, A. W.; CANO, J.; GENÉ, J.; MADRID, H.; HOOG, S.; CROUS, P. W.; GUARRO, J. Diversity of *Bipolaris* species in clinical samples in the United States and their antifungal susceptibility profiles. **Journal of clinical microbiology**, Washington, v. 50, n. 12, p. 4061-4066, 2012.

CURLEVSKI, N. J. A.; XU, Z.; ANDERSON, I. C.; CAIRNEY, J. W. G. Soil fungal communities differ in native mixed forest and adjacent *Araucaria cunninghamii* plantations in subtropical Australia. **Journal of Soils and Sediments**, Heidelberg, v. 10, n. 7, p. 1278-1288, 2010.

CURRIE, C. R.; BOT, A. N. M.; BOOMSMA, J. J.; Experimental evidence of a tripartite mutualism: bacteria protect ant fungus gardens from specialized parasites. **Oikos**, Copenhagen, v. 101, n. 1, p. 91-102, 2003.

CURRIE, C. R.; MUELLER, U. G.; MALLOCH, D. The agricultural pathology of ant fungus gardens. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 96, n. 7, p. 7998-8002, 1999.

CURRIE, C. R. Prevalence and impact of a virulent parasite on a tripartite mutualism. **Oecologia**, Berlin, v. 128, n. 1, p. 99-106, 2001.

CURRIE, C. R.; SCOTT, J. A.; SUMMERBELL, R. C.; MALLOCH, D. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. **Nature**, London, v. 398, n. 6729, p. 701-704, 1999.

CURRIE, C. R.; SCOTT, J. A.; SUMMERBELL, R. C.; MALLOCH, D. Corrigendum: Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. **Nature**, London, v. 423, n. 6938, p. 461, 2003b.

CURRIE, C. R.; STUART, A. E. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, London, v. 268, n. 1471, p. 1033-1039, 2001.

CURRIE, C. R.; WONG, B.; STUART, A. E.; SCHULTZ, T. R.; REHNER, S. A.; MUELLER, U. G.; SUNG, G. H.; SPATAFORA, J. W.; STRAUS, N. A. Ancient tripartite coevolution in the attine ant-microbe symbiosis. **Science**, Washington, v. 299, n. 5605, p. 386-388, 2003a.

DE FINE LICHT, H. H.; BOOMSMA, J. J. Forage collection, substrate preparation, and diet composition in fungus-growing ants. **Ecological Entomology**, London, v. 35, n. 3, p. 259-269, 2010.

DELABIE, J. H. C.; ALVES, H. S. R.; REUSS-STRENZEL, G. M.; CARMO, A. F. R.; NASCIMENTO, I. C. Distribuição das formigas-cortadeiras dos gêneros *Acromyrmex* e *Atta* no Novo Mundo. In: DELLA-LUCIA, T. M. C. **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1 ed. Viçosa: UFV, p. 80-101, 2011.

DELLA LUCIA, T. M. C.; FOWLER, H. G. As formigas cortadeiras. In: DELLA LUCIA, T. M. C. **As formigas cortadeiras**. Viçosa, Editora Folha de Viçosa, p. 1-3, 1993.

DELLA LUCIA, T. M. C.; GANDRA, L. C.; GUEDES, R. N. C. Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. **Pest management science**, Sussex, v. 70, n. 1, p. 14-23, 2014.

DELLA-LUCIA, T. M. C.; SOUZA, D. J. Importância e história de vida das formigas-cortadeiras. In: DELLA-LUCIA, T. M. C. **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, p. 13-26, 2011.

DINIZ, E. A.; BUENO, O. C. Evolution of substrate preparation behaviors for cultivation of symbiotic fungus in Attine ants (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 23, n. 3, p. 205-214, 2010.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. **Compendium of soil fungi**, London: Academic Press, v. 2, 1980.

DRUZHININA, I.; KOPCHINSKIY, A. G.; KOMON, M.; BISSETT, J.; SZAKACS, G.; KUBICEK, C. P. **Fungal Genetics and Biology**, San Diego, v. 42, n. 10, p. 813-828, 2005.

DUARTE, A. P. M. **Fungos negros derivados de *Atta* spp.: diversidade e fatores de virulência**. Dissertação de Mestrado, UNESP, Rio Claro, Brasil, 2013.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute,

1971. 608p.

ELLIS, M. B. **More Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1976. 507p.

FARR, D. F.; AIME, M. C.; ROSSAMAN, A. Y.; PALM, M. E. Species of *Colletotrichum* on *Agavaceae*. **Mycological research**, Cambridge, v. 110, n. 12, p. 1395-1408, 2006.

FERNÁNDEZ, F. Subfamilia Myrmicinae. In: _____. **Introducción a las hormigas de la región Neotropical**. Ed. 2003, Bogotá. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Cap. 22, p. 307-330, 2003.

FERNÁNDEZ-MARÍN, H.; ZIMMERMAN, J. K.; REHNER, S.A.; WCISLO, W. T. Active use of the metapleural glands by ants in controlling fungal infection. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, London, v. 273, n.1594, p. 1689–1695, 2006.

FERNÁNDEZ-MARÍN, H.; ZIMMERMAN, J. K.; NASH, D. R.; BOOMSMA, J. J.; WCISLO, W. T. Reduced biological control and enhanced chemical pest management in the evolution of fungus farming in ants. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, London, v. 276, n. 1665, p. 2263-2269, 2009.

FERNÁNDEZ-MARÍN, H.; ZIMMERMAN, J. K.; WCISLO, W. T. Fungus garden platforms improve hygiene during nest establishment in *Acromyrmex* ants (Hymenoptera, Formicidae, Attini). **Insectes Sociaux**, Paris, v. 54, n. 1, p. 64-69, feb. 2004.

FISHER, P. J.; STRADLING, D. J.; SUTTON, B. C.; PETRINI, L. E. Microfungi in the fungus gardens of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*: a preliminary study. **Mycological Research**, Cambridge, v. 100, n. 5, p. 541-546, 1996.

FOLGARAIT, P.; GOROSITO, N.; POULSEN, M.; CURRIE, C. R. Preliminary in vitro insights into the use of natural fungal pathogens of leaf-cutting ants as biocontrol agents. **Current Microbiology**, New York, v. 63, n. 3, p. 250-258, 2011.

FOWLER, H.G.; ROBINSON, S.W. Field identification and relative pest status of Paraguayan leaf-cutting ants. **Turrialba**, v. 29, n. 1, p. 11-16, 1979.

FOWLER, H. G.; SILVA, V. P.; SAES, N. B. Population dynamics of leaf-cutting ants: a brief review. In: LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K. (Eds.) **Fire ants and leaf-cutting ants: biology and management**. West-View Press, Boulder, Colorado, p. 123–145, 1986.

FROHLICH-NOWOISKY, J.; DESPRES, V. R.; POSCHL, U. Global atmospheric diversity of fungi: *Ascomycota* and *Basidiomycota* in continental and marine air. Unpublished, 2011.

FUNNELL-HARRIS, D. L.; PROM, L. K.; PEDERSEN, J. F. Isolation and characterization of the grain mold fungi *Cochliobolus* and *Alternaria* spp. from sorghum using semiselective media and DNA sequence analyses. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 59, n. 2, p. 87-96, 2013.

GARCIA, M.G. **Biologia de *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera: Formicidae): seleção, preparo e utilização de substratos para o cultivo do fungo simbiote**. Tese de Doutorado, UNESP, Botucatu, Brasil, 2005.

- GAZIS, R. O.; CHAVERRI, P.; GRUNER, D. S. Sampling effect in estimating tropical fungal endophyte diversity: are we undersampling?. Unpublished, 2012.
- GERARDO, N. M.; JACOBS, S. R.; CURRIE, C. R.; MUELLER, U. G. Ancient host-pathogen associations maintained by specificity of chemotaxis and antibiosis. **PLoS Biology**, California, v. 4, n. 8, p.1358-1363, 2006.
- GERARDO, N. M.; MUELLER, U. G.; CURRIE, C. R. Complex host-pathogen coevolution in the *Apterostigma* fungus-growing ant-microbe symbiosis. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 6, [s.n.], p. 88, 2006.
- GERARDO, N. M.; MUELLER, G. M.; PRICE, S. L.; CURRIE, C. R. Exploiting a mutualism: parasite specialization on cultivars within the fungus-growing ant symbiosis. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, London, v. 271, n. 1550, p. 1791–1798, 2004.
- GHOBAD-NEJHAD, M.; HALLENBERG, N. Multiple evidence for recognition of *Phlebia tuberculata*, a more widespread segregate of *Phlebia livida* (Polyporales, Basidiomycota). **Mycological Progress**, Heidelberg, v. 11, n. 1, p. 27-35, 2012.
- GLENN, A.; BODRI, M. S. Fungal endophyte diversity in *Sarracenia*. **PloS One**, San Francisco, v. 7, n. 3, p. e32980, 2012.
- GOMES, R.R.; GLIENKE, C.; VIDEIRA, S. I. R.; LOMBARD, L.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P.W. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Leiden, v. 31, [s.n.], p. 1-41, 2013.
- GOOGLE EARTH-MAPS. In: <<https://maps.google.com.br/>>. Acessado em: 26 de Janeiro de 2014.
- GREEN, A. M.; MUELLER, U. G.; ADAMS, R. M. M. Extensive exchange of fungal cultivars between sympatric species of fungus-growing ants. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 11, n. 2, p. 191–195, 2002.
- GUEDES, F. L.; ATILLI-ANGELIS, D.; PAGNOCCA, F. C. Selective isolation of dematiaceous fungi from workers of *Atta laevigata* (Formicidae: Attini). **Folia Microbiologica**, Praga, v. 57, n. 1, p. 21-26, 2012.
- HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, Oxford, v. 41, [s.n.], p. 95-98, 1999.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001.
- HAMBLETON, S.; EGGER, K. N.; CURRAH, R. S. The genus *Oidiodendron*: species delimitation and phylogenetic relationships based on nuclear ribosomal DNA analysis. **Mycologia**, Brox, v. 90, n. 5, p. 854-868, 1998.
- HAN, G.; FENG, X.; JIA, Y.; WANG, C.; HE, X.; ZHOU, Q.; TIAN, X. Isolation and evaluation of terrestrial fungi with algicidal ability from Zijin Mountain, Nanjing, China. **The Journal of Microbiology**, Seoul, v. 49, n. 4, p. 562-567, 2011.

HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi**. 8 ed. Wallingford: CAB International, 1995. 616p.

HIGGINBOTHAM, S. J.; ARNOLD, A. E.; IBANEZ, A.; SPADAFORA, C.; COLEY, P. D.; KURSAR, T. A. Bioactivity of fungal endophytes as a function of endophyte taxonomy and the taxonomy and distribution of their host plants. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 9, p. e73192, 2013b.

HIGGINBOTHAM, S. J.; WONG, W. R.; LININGTON, R. G.; SPADAFORA, C.; ITURRADO, L.; ARNOLD, A. E. Sloth fur as a novel source of fungi with potent anti-parasitic, anti-cancer and anti-bacterial bioactivity. **PLoS One**, San Francisco, Submitted, 2013a.

HOFFMAN, M. T.; ARNOLD, A. E. Geographic locality and host identity shape fungal endophyte communities in cupressaceous trees. **Mycological Research**, Cambridge, v. 112, n. 3, p. 331-344, 2008.

HU, L.; CAO, L.; ZHANG, R. Bacterial and fungal taxon changes in soil microbial community composition induced by short-term biochar amendment in red oxidized loam soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, p. 1-8, 2013. doi: 10.1007/s11274-013-1528-5

HÖLLDOBLER, B. The chemistry of social regulation: Multicomponent signals in ant societies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.92, n. 1, p.19-22, 1995.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The Ants**. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 1990. 732 p.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The leafcutter ants: civilization by instinct**. New York: Norton, 2011. 160 p.

HUBBEL, S. P.; WIEMER, D. F. Host plant selection by an Attini ant. In: JASSON, P. (ed). **Social Insects in the Tropics**. Paris: University of Paris Press, v. 2, [s.n.], p. 133-154, 1983.

HUGHES, W.O.H.; THOMSEN, L.; EILENBERG, J.; BOOMSMA, J.J. Diversity of entomopathogenic fungi near leaf-cutting ant nests in a neotropical forest, with particular reference to *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego: Academic Press, n.1, v.85, [s.n.], p.46-53, 2004.

INOKOSHI, J.; SHIGETA, N.; FUKUDA, T.; UCHIDA, R.; NONAKA, K.; MASUMA, R.; TOMODA, H. *Epi-trichosetin*, a new undecaprenyl pyrophosphate synthase inhibitor, produced by *Fusarium oxysporum* FKI-4553. **The Journal of antibiotics**, Tokyo, v. 66, [s.n.], p. 549-554, 2013.

JANG, Y.; HUH, N.; LEE, J.; LEE, J. S.; KIM, G. H.; KIM, J. J. Phylogenetic analysis of major molds inhabiting woods and their discoloration characteristics. Part 2. Genus *Penicillium*. **Holzforschung**, Berlin, v. 65, n. 2, p. 265-270, 2011.

JIANG, C.; SHI, J. Occurrence of ochratoxin A-producing fungi isolated from grapes. Unpublished, 2011.

KANG, H. J.; Sigler, L.; Lee, J.; Gibas, C. F. C.; Yun, S. H.; Lee, Y. W. *Xylogone ganodermophthora* sp. nov., an ascomycetous pathogen causing yellow rot on cultivated mushroom *Ganoderma lucidum* in Korea. **Mycologia**, Lawrence, v. 102, n. 5, p. 1167-1184, 2010.

KATOH, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 30, n. 4, p.772-780, 2013.

LACERDA, F. G.; DELLA LUCIA, T. M. C.; DESOUSA, O.; SOUZA, L. M.; SOUZA, D. J. Task Performance of Midden Workers of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of insect behavior**, New York, v. 26, n. 6, p. 873-880, 2013.

LEITE, T. S.; Cnossen-Fassoni, A.; Pereira, O. L.; Mizubuti, E. S. G.; Araújo, E. F.; Queiroz, M. V. Novel and Highly Diverse Fungal Endophytes in Soybean Revealed by the Consortium of Two Different Techniques. **The Microbiological Society of Korea**, Seoul, v. 51, n. 1, p. 56-69, 2013.

LITTLE, A.E.; CURRIE, C.R. Black yeast symbionts compromise the efficiency of antibiotic defenses in fungus-growing ants. **Ecology**, New York, v.89, n. 5, p. 1216-1222, 2008.

LITTLE, A.E.F.; CURRIE, C.R. Symbiotic complexity: discovery of a fifth symbiont in the attine ant-microbe symbiosis. **Biological Letters**, London, v. 15, n. 3, p. 501–504, 2007.

LIYAN, X.; CHANGMING, L.; XIANYI, Z.; LUXIA, W.; SUISHENG, X. Fifteen cases of penicilliosis in Guangdong, China. **Mycopathologia**, Holanda, v. 158, n. 2, p. 151-155, 2004.

LORO, M.; VALERO-JIMENEZ, C.A.; NOZAWA, S.; MARQUEZ, L.M. Diversity and composition of fungal endophytes in semiarid Northwest Venezuela. **Journal of Arid Environment**, v. 85, [s.n.], p. 46-55, 2012.

MAGURRAN, A. E. **Measuring biological diversity**. Oxford: Blackwell Science Ltd., 2004, 256 p.

MÁRQUEZ, S.; BILLS, G. F.; ACUNA, L. D.; ZABALGOGEAZCOA, I. Endophytic mycobiota of leaves and roots of the grass *Holcus lanatus*. **Fungal Diversity**, Dordrecht, v. 41, n. 1, p. 115-123, 2010.

MARSH, S. E.; POULSEN, M.; GOROSITO, N. B.; PINTO-TOMÁS, A.; MASIULIONIS, V. E.; CURRIE, C. R. Association between *Pseudonocardia* symbionts and *Atta* leaf-cutting ants suggested by improved isolation methods. **International Microbiology**, Barcelona, v. 16, n. 1, p. 17-25, 2013.

MANGONE, D. M.; CURRIE, C. R. Garden substrate preparation behaviours in fungus-growing ants. **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 139, n. 6, p. 841-849, 2007.

MANTOVANI, J. D. **Prospecção metagenômica de fungos em ninhos de formigas Attini**. Dissertação de Mestrado, UNESP, Rio Claro, Brasil, 2013.

- MATTOSO, T. C.; MOREIRA, D. D. O.; SAMUELS, R. I. Symbiotic bacteria on the cuticle of the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus* protect workers from attack by entomopathogenic fungi. **Biology Letters**, London, v. 8, n. 3, p. 461-464, 2012.
- MAYHÉ-NUNES, A. J.; JAFFÉ, K. On the biogeography of Attine (Hymenoptera: Formicidae). **Ecotropicos**, Caracas, v. 11, n. 1, p. 45-54, 1998.
- MEHDIABADI, N.; MUELLER, U. G.; BRADY, S. G.; HIMLER, A. G.; SCHULTZ, T. R. Symbiont fidelity and the origin of species in fungus-growing ants. **Nature Communications**, New York, v. 3, [s.n.], p. 840, 2012.
- MEHDIABADI, N. J.; SCHULTZ, T. R. Natural history and phylogeny of the fungus-farming ants (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini). **Myrmecological News**, Vienna, v. 13, [s.n.], p. 37-55, 2009.
- MEIRELLES, L. A.; MENDES, T. D.; SOLOMON, S. E.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; RODRIGUES, A. Broad *Escovopsis*-inhibition activity of *Pseudonocardia* associated with *Trachymyrmex* ants. **Environmental Microbiology Reports**, West Sussex, 2014. doi:10.1111/1758-2229.12132
- MELO, W. G. P. 1, ARCURI, S. L.; RODRIGUES, A.; MORAIS, P. B.; MEIRELLES, L. A.; PAGNOCCA, F. C. *Starmerella aceti* sp. nov., a new ascomycetous yeast species isolated from fungus garden of the leafcutter ant *Acromyrmex balzani*. **International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology**, Reading, Submitted, 2014.
- MENDES, T. D.; RODRIGUES, A.; DAYO-OWOYEMI, I.; MARSON, F. A. L.; PAGNOCCA, F. C. Generation of nutrients and detoxification: possible roles of yeasts in leaf-cutting ant nests. **Insects**, v. 3, n. 1, p. 228-245, 2012.
- MIDDELHOVEN, W. J.; FONSECA, A.; CARREIRO, S. C.; PAGNOCCA, F. C.; BUENO, O. C. *Cryptococcus haglerorum*, sp. nov., an anamorphic basidiomycetous yeast isolated from nests of the leafcutting ant *Atta sexdens*. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 83, n. 2, p. 167–174, 2003.
- MIKHEYEV, A. S.; MUELLER, U. G.; ABBOT, P. Cryptic sex and many-to-one coevolution in the fungus-growing ant symbiosis. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 103, n. 28, p. 10702-10706, 2006.
- MIKHEYEV, A. S.; MUELLER, U. G.; ABBOT, P. Comparative dating of Attine ant and *Lepiotaceus* cultivar phylogenies reveals coevolutionary synchrony and discord. **The American Naturalist**, Chicago, v. 175, n. 6, p. E126-E133, 2010.
- MIKHEYEV, A. S.; MUELLER, U. G.; BOOMSMA, J. J. Population genetic signatures of diffuse co-evolution between leaf-cutting ants and their cultivar fungi. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 209–216, 2007.
- MOELLER, E. M.; BAHNWEG, G.; SANDERMANN, H.; GEIGER, H. H. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi. fruit bodies. and infected plant tissues. **Nucleic Acids Research**, v. 20, n. 22, p. 6115-6116, 1992.

- MORGENSTERN, I.; POWLOWSKI, J.; ISHMAEL, N.; DARMOND, C.; MARQUETEAU, S.; MOISAN, M. C.; QUENNEVILLE, G.; TSANG, A. A molecular phylogeny of thermophilic fungi. **Fungal Biology**, Oxford, v. 116, n. 4, p. 489-502, 2012.
- MÖLLER, A. Die Pilzgärten einiger südamerikanischer Ameisen. **Botanische Mitteilungen aus den Tropen**, Jena, v. 6, [s.n.], p. 1-127, 1893.
- MORGULIS, A.; COULOURIS, G.; RAYTSELIS, Y.; MADDEN, T. L.; AGARWALA, R.; SCHÄFFER A. A. "Database Indexing for Production MegaBLAST Searches", **Bioinformatics**, v. 24, n. 16, p. 1757-1764, 2008.
- MUELLER, U. G. Ant versus Fungus versus Mutualism: Ant-Cultivar Conflict and the Deconstruction of the Attine Ant-Fungus Symbiosis. **American Naturalist**, v. 160, n. S4, p. 67-98, 2002.
- MUELLER, U.G.; DASH, D.; RABELING, C.; RODRIGUES, A. Coevolution between attine ants and actinomycete bacteria: a reevaluation. **Evolution**, Oxford, v. 62, n. 11, p. 2894-2912, 2008.
- MUELLER, U. G.; MIKHEYEV, A. S.; SOLOMON, S. E.; COOPER, M. Frontier mutualism: coevolutionary patterns at the northern range limit of the leaf-cutter ant-fungus symbiosis. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, London, v. 278, n. 1721, p. 3050-3059, 2011.
- MUELLER, U. G.; REHNER, S. A.; SCHULTZ, T. R. The evolution of agriculture in ants. **Science**, Washington, v. 281, n. 5385, p. 2034-2038, 1998.
- MUELLER, U. G.; SCOTT, J. J.; ISHAK, H. D.; COOPER, M.; RODRIGUES, A. Monoculture of leaf cutter ant gardens. **PLoS One**, San Francisco, v. 5, n. 9, p. e12668, 2010.
- MUELLER, U.G. Symbiont recruitment versus antsymbiont co-evolution in the attine ant-microbe symbiosis. **Current opinion in microbiology**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 269-277, 2012.
- MUCHOVEJ, J. J.; DELLA LUCIA, T. M. C. *Escovopsis*, a new genus from leaf cutting ant nests to replace *Phialocladus* nomem invalidum. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 37, [s.n.], p. 191-195, 1990.
- NORTH, R. D.; JACKSON, C. W.; WOWSEN, P. E. Evolutionary aspects of ant-fungus interactions in leaf-cutting ants. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v.12, n. 10, p. 386-389, 1997.
- O'DONNELL, K.; SUTTON, D. A.; RINALDI, M. G.; GUEIDAN, C.; CROUS, P. W.; GEIDER, D. M. Novel multilocus sequence typing scheme reveals high genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium incarnatum-F. equiseti* and *F. chlamydosporum* species complexes within the United States. **Journal of clinical microbiology**, Washington, v. 47, n. 12, p. 3851-3861, 2009.
- OH, D.C.; POULSEN, M.; CURRIE, C. R.; CLARDY, J. Dentigerumycin: a bacterial mediator of an ant-fungus symbiosis. **Nature Chemical Biology**, New York, v. 5, n. 6, p. 1-4, 2009.

- OKANE, I.; NAKAGIRI, A. Taxonomy of an anamorphic xylariaceous fungus from a termite nest found together with *Xylaria angulosa*. **Mycoscience**, Tokyo, v. 48, n. 4, p. 240-249, 2007.
- OLIVEIRA, B. R.; CREPO, M. T. B.; ROMÃO, M. V. S.; BENOLIEL, M. J.; SAMSON, R. A.; PEREIRA, V. J. New insights concerning the occurrence of fungi in water sources and their potential pathogenicity. **Water research**, New York, v. 47, n. 16, p. 6338-6347, 2013.
- ORTIZ, A.; ORDUZ, S. *In vitro* evaluation of *Trichoderma* and *Gliocladium* antagonism against the symbiotic fungus of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. **Mycopathologia**, Holanda, v. 150, n. 2, p. 53-60, 2000.
- PAGNOCCA, F. C.; LEGASPE, M. F. C.; RODRIGUES, A.; RUIVO, C. C. C.; NAGAMOTO, N. S.; BACCI, M. Jr.; FORTI, L. C. Yeasts isolated from a fungus-growing ant nest, including the description of *Trichosporon chiarellii* sp. nov., an anamorphic basidiomycetous yeast. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 60, n. 6, p. 1454-1459, 2010.
- PAGNOCCA, F. C.; MASIULIONIS, V. E.; RODRIGUES, A. Specialized Fungal Parasites and Opportunistic Fungi in Gardens of Attine Ants. **Psyche: A Journal of Entomology**, Cambridge, v. 2012, [s.n.], p. 1-9, 2012.
- PAGNOCCA, F. C.; RODRIGUES, A.; BACCI JÚNIOR, M. Microrganismos associados às formigas-cortadeiras. In: DELLA-LUCIA, T. M. C. **Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo**. 1 ed. Viçosa: UFV, p. 262-283, 2011.
- PAGNOCCA, F. C.; RODRIGUES, A.; NAGAMOTO, N. S.; BACCI, M. JR Yeasts and filamentous fungi carried by the gynes of leaf-cutting ants. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 94, n. 4, p. 517-526, 2008.
- PARMASTO, E.; HALLENBERG, N. A taxonomic study of phlebioid fungi (Basidiomycota). **Nordic Journal of Botany**, Copenhagen, v. 20, n. 1, p. 105-118, 2000.
- PAN, J. J.; BAUMGARTEN, A. M.; MAY, G. Effects of host plant environment and *Ustilago maydis* infection on the fungal endophyte community of maize (*Zea mays*). **New Phytologist**, Cambridge, v. 178, n. 1, p. 147-156, 2008.
- PASSADOR, M. M.; Lima, P. R.; Pieri, C.; Sierra-Hayer, J. F.; Harakava, R.; Furtado, E. L. Diversity of *Mycosphaerella* spp. And *Teratosphaeria* spp. in *Eucalyptus globulus* plantations in Brazil . **European Journal Of Plant Pathology**, Dordrecht v. 137, n. 1, p. 137-147, 2013.
- PÉREZ, CARLOS A.; WINGFIELD, M. J.; SLIPPERS, B.; ALTIER, N. A.; BLANCHETTE, R. A. Endophytic and canker-associated *Botryosphaeriaceae* occurring on non-native *Eucalyptus* and native *Myrtaceae* trees in Uruguay. **Fungal Diversity**, Dordrecht, v. 41, n. 1, p. 53-69, 2010.
- PITT, J. I. **A laboratory guide to common Penicillium species**. Australia: Food Science Australia a Joint Venture of CSIRO and AFISC, 2000. 197p.
- PODANI, J.; MIKLOS, I. Resemblance coefficients and the horseshoe effect in principal coordinates analysis. **Ecology**, New York, v. 83, n. 12, p. 3331-3343, 2002.

- POULSEN, M.; CURRIE, C. R. Complexity of insect-fungal associations: exploring the influence of microorganisms on Attine ant-fungus symbiosis. In: BOURTZIS, K.; MILLER, T. A. (Eds.) **Insect Symbiosis**, Newbury: CRC Press, v. 2, [s.n.], p. 57-77, 2006.
- POULSEN, M.; BOOMSMA, J. J. Mutualistic fungi control crop diversity in fungus-growing ants. **Science**, Washington, v. 307, n. 5710, p. 741–744, 2005.
- QUAEDVLIEG, W.; GROENEWALD, J. Z.; YÁÑEZ-MORALES, M. J.; CROUS, P.W. DNA barcoding of *Mycosphaerella* species of quarantine importance to Europe. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Leiden, v. 29, [s.n.], p. 101, 2012.
- QUAEDVLIEG, W.; VERKLEY, G. J.; SHIN, H. D.; BARRETO, R. W.; ALFENAS, A. C.; SWART, W. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. Sizing up Septoria. **Studies in mycology**, Utrecht, v.75, n. 1, p. 307-390, 2013.
- QUINLAN, R. J.; CHERRETT, J. M. The role of the fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. **Ecological Entomology**, London, v.4, n. 2, p. 151-160, may 1979.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- RÉBLOVÁ, M.; WINKA, K. Phylogeny of *Chaetosphaeria* and its anamorphs based on morphological and molecular data. **Mycologia**, Lawrence, p. 939-954, 2000.
- REYNOLDS, H. T.; CURRIE, C. R. Pathogenicity of *Escovopsis weberi*: The parasite of the attine ant-microbe symbiosis directly consumes the ant-cultivated fungus. **Mycologia**, Lawrence, v. 96, n. 5, p. 955-959, 2004.
- RIBEIRO, M.M.R.; AMARAL, K.D.; SEIDE, V.E.; SOUZA, B.M.R.; DELLA LUCIA, T.M.C.; KASUYA, M.C.M.; SOUZA, D.J. de. Diversity of fungi associated with *Atta bisphaerica* (Hymenoptera: Formicidae): the activity of *Aspergillus ochraceus* and *Beauveria bassiana*. **Psyche**, Cairo, v. 2012, [s.n.], p. 6, 2012.
- RITTENOUR, W. R.; CIACCIO, C. E.; BARNES, C. S.; KASHON, M. L.; LEMONS, A. R.; BEEZHOLD, D. H.; GREEN, B. J. Internal transcribed spacer rRNA gene sequencing analysis of fungal diversity in Kansas City indoor environments. **Environmental Science: Processes & Impacts**, Cambridge, v. 16, n. 1, p. 33-43, 2014.
- RIVERA, K. G.; SEIFERT, K. A. A taxonomic and phylogenetic revision of the *Penicillium sclerotiorum* complex. **Studies in mycology**, Utrecht, v. 70, n. 1, p. 139-158, 2011.
- ROBL, D.; DELABONA, P. S.; MERGEL, C. A.; ROJAS, J. D.; COSTA, P. S.; PIMENTEL, I. C.; VICENTE, V. A.; PRADELLA, J. G. C.; PADILLA, G. The capability of endophytic fungi for production of hemicellulases and related enzymes. **BMC biotechnology**, London, v. 13, n. 1, p. 94, 2013.
- RODRIGUES, A.; BACCI, M. Jr.; MUELLER, U. G.; ORTIZ, A.; PAGNOCCA, F. C. Microfungal “weeds” in the leafcutter ant symbiosis. **Microbial Ecology**, Washington, v. 56, n. 4, p. 604-614, 2008b.

- RODRIGUES, A.; CABLE, R. N.; MUELLER, U. G.; BACCI, M. JR.; PAGNOCCA, F. C. Antagonistic interactions between garden yeasts and microfungal garden pathogens of leaf-cutting ants. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 96, n. 3, p. 331-342, 2009.
- RODRIGUES, A.; CARLETTI, C. D.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C. Leaf-cutting ant faecal fluid and mandibular gland secretion: effects on microfungi spore germination. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 64-67, 2008a.
- RODRIGUES, A.; PASSARINI, M.R.Z.; FERRO, M.; NAGAMOTO, N.S.; FORTI, L.C.; BACCI Jr, M.; SETTE, L.D.; PAGNOCCA, F.C. Fungal communities in the garden chamber soils of leaf-cutting ants. **Journal of Basic Microbiology**, Berlin, p.1-11, 2013, no prelo.
- RODRIGUES, A.; MUELLER, U. G.; ISHAK, H. D.; BACCI, M. Jr; PAGNOCCA, F. C. Ecology of microfungal communities in gardens of fungus-growing ants (Hymenoptera: Formicidae): a year-long survey of three species of attine ants in Central Texas. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 78, n. 2, p. 244–255, 2011.
- RODRIGUES, A.; PAGNOCCA, F. C.; BACCI, M. Jr.; HEBLING, M. J. A.; BUENO, O. C.; PENNING, L. H. Variability of non-mutualistic fungi associated with *Atta sexdens rubropilosa* nests. **Folia Microbiologica**, Prague, v. 50, n. 5, p. 421-425, 2005.
- RODRIGUES, A.; SILVA, A.; BACCI JÚNIOR, M.; FORTI, L. C.; PAGNOCCA, F. C. Filamentous fungi found on foundress queens of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 134, n. 4, p. 342-345, may 2010.
- RODRIGUES, D. F.; JAISI, D. P.; ELIMELECH, M. Toxicity of Functionalized Single-Walled Carbon Nanotubes on Soil Microbial Communities: Implications for Nutrient Cycling in Soil. **Environmental science & technology**, Washington, v. 47, n. 1, p. 625-633, 2013.
- RONHEDE, S.; BOOMSMA, J. J.; ROSENDAHL, S. Fungal enzymes transferred by leaf-cutting ants in their fungus gardens. **Mycological Research**, Cambridge, v. 108, n. 1, p. 101-106, jan. 2004.
- RUBINI, M. R.; SILVA-RIBEIRO, R. T.; POMELLA, A. W. V.; MAKI, C. S.; ARAÚJO, W. L.; SANTOS, D. R.; AZEVEDO, J. L. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicios*, causal agent of Witches' Broom Disease. **International Journal of Biological Sciences**, Bethesda, v. 1, n. 1, p. 24-33, 2005.
- SAKAYAROJ, J.; PHONGPAICHIT, S.; PREEDANON, S.; BUATONG, J.; CHAOWALIT, P.; RUKACHAISIRIKUL, V. **Diversity of endophytic and marine-derived fungi associated with marine plants and animals**. Marine Fungi: and Fungal-like Organisms, 2012, p. 291.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C. **Introduction to food-airborne fungi**. 6 ed. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. 2000. 389p.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C. **Introduction to food and airborne fungi**, 7th edn. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands, 2004, 389p.
- SAMSON, R. A.; YILMAZ, N.; HOUBRAKEN, J.; SPIERENBURG, H.; SEIFERT, K.A.; PETERSON, S.W.; VARGA, J.; FRISVAD, J.C. Phylogeny and nomenclature of the genus

Talaromyces and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 70, n. 1, p. 159-183, 2011.

SCHIØTT, M.; ROGOWSKA-WRZESINSKA, A.; ROEPSTORFF, P.; BOOMSMA, J. J. Leaf-cutting ant fungi produce cell wall degrading pectinase complexes reminiscent of phytopathogenic fungi. **BMC Biology**, London, v. 8, n. 1, p. 156, 2010.

SCHOCH, C. L.; SEIFERT, K. A.; HUHNDORF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J. L.; LEVESQUE, C. A.; CHEN, W.; FUNGAL BARCODING CONSORTIUM. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SCHULTZ, T. R.; BRADY, S. G. Major evolutionary transitions in ant agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences United States of America**, Washington, v. 105, n. 14, p. 5435-5440, 2008.

SCOPEL, M.; SANTOS, O.; FRASSON, A. P.; ABRAHAM, W. R.; TASCA, T.; HENRIQUES, A. T.; MACEDO, A. J. Anti-*Trichomonas vaginalis* activity of marine-associated fungi from the South Brazilian Coast. **Experimental Parasitology**, San Diego, v. 133, n. 2, p. 211-216, 2013.

SEAL, J. N.; GUS, J.; MUELLER, U. G. Fungus-gardening ants prefer native fungal species: do ants control their crops?. **Behavioral Ecology**, Cary, v. 23, n. 6, p. 1250-1256, 2012.

SEIFERT, K. A.; SAMSON, R. A.; CHAPELA, I. H. *Escovopsis aspergilloides*, a rediscovered hyphomycete from leaf-cutting ant nests. **Mycologia**, Lawrence, v. 87, n. 3, p. 407-413, 1995.

SEN, R.; ISHAK, H. D.; ESTRADA, D.; DOWD, S. E.; HONG, E.; MUELLER, U. G. Generalized antifungal activity and 454-screening of *Pseudonocardia* and *Amycolatopsis* bacteria in nests of fungus-growing ants. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 106, n. 42, p. 17805-17810, 2009.

SERRATO, L. M.; RIVERA, L. I.; GOENAGA, R. Fungal diversity associated with rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) and longan (*Dimocarpus Longan* L.) in Puerto Rico. Unpublished, 2010.

SHINZATO, N. MURAMATSU, M.; WATANABE, Y.; MATSUI, T. Termite-regulated fungal monoculture in fungus combs of a macrotermitine termite *Odontotermes formosanus*. **Zoological science**, Tokyo, v. 22, n. 8, p. 917-922, 2005.

SHRESTHA, P.; SZARO, T. M.; BRUNS, T. D.; TAYLOR, J. W. Systematic search for cultivatable fungi that best deconstruct cell walls of *Miscanthus* and sugarcane in the field. **Applied and environmental microbiology**, Washington, v. 77, n. 15, p. 5490-5504, 2011.

SILVA, A.; BACCI JÚNIOR, M.; PAGNOCCA, F. C.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A. Production of polysaccharidases in different carbon sources by *Leucoagaricus gongylophorus* Möller (Singer), the symbiotic fungus of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* Linnaeus. **Current Microbiology**, New York, v. 53, n. 1, p. 68-71, 2006.

SILVA, A.; BACCI, M. Jr.; SIQUEIRA, C. G.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; HEBLING, M. J. A. Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 49, n. 4, p. 307-313, 2003.

SILVA-PINHATI, A. C. O.; BACCI JÚNIOR, M.; HINKLE, G.; SOGIN, M. L.; PAGNOCCA, F. C.; MARTINS, V.G.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A. Low variation in ribosomal DNA and internal transcribed spacers of the symbiotic fungi of leaf-cutting ants (Attini: Formicidae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 37, n. 10, p. 1463-1472, 2004.

SINGER, R. **The Agaricales in modern taxonomy**. 4 ed. Koenigstein: Koeltz Scientific Books, 1986. 981p.

SINGH, R.; AHLAWAT, O. P.; RAJOR, A. Identification of the potential of microbial combinations obtained from spent mushroom cultivation substrates for use in textile effluent decolorization. **Bioresource Technology**, Essex, v. 125, [s.n.], p. 2017-225, 2012.

SOLOMON, S. E.; BACCI JÚNIOR, M.; MARTINS JÚNIOR, J.; VINHA, G. V.; MUELLER, U. G. Paleodistributions and comparative molecular phylogeography of leafcutter ants (*Atta* spp.) provide new insight into the origins of Amazonian diversity. **PLoS One**, San Francisco, v. 2, n. 3, p. 1-15, 2008.

SOSA-CALVO, J.; SCHULTZ, T. R.; BRANDÃO, C. R. F.; KLINGENBERG, C.; FEITOSA, R. M.; RABELING, C.; BACCI, M. Jr.; LOPES, C. T.; VASCONCELOS, H. L. *Cyatta abscondita*: Taxonomy, Evolution, and Natural History of a New Fungus-Farming Ant Genus from Brazil. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 11, p. e80498, 2013.

TAERUM, S. J.; CAFARO, M. J.; CURRIE, C. R. Presence of multiparasite infections within individual colonies of leaf-cutter ants. **Environmental Entomology**, College Park, v. 39, n. 1, p. 105-113, 2010.

TAERUM, S. J.; CAFARO, M. J.; LITTLE, A. E. F.; SCHULTZ, T. R.; CURRIE, C. R. Low host-pathogen specificity in the leaf-cutting ant-microbe symbiosis. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, London, v. 274, n. 1621, p. 1971-1978, 2007.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular biology and evolution**, Chicago, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.

TANAKA, K.; HIRAYAMA, K.; YONEZAWA, H.; HATAKEYAMA, S.; HARADA, Y.; SANO, T.; SHIROUZU, T.; HOSOYA, T. Molecular taxonomy of bambusicolous fungi: *Tetraplospheariaceae*, a new pleosporalean family with *Tetraploa*-like anamorphs. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 64, n. 1, p. 175-209, 2009.

TANAKA, K.; ENDO, M.; HIRAYAMA, K.; OKANE, I.; HOSOYA, T.; SATO, T. Phylogeny of *Discosia* and *Seimatosporium*, and introduction of *Adisciso* and *Immersidiscosia* genera nova. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Leiden, v. 26, [s.n.], p. 85, 2011.

TAYUNG, K.; BARIK, B. P.; JHA, D. K. Antifungal activity and biocontrol potential of metabolite produced by an endophytic *Fusarium* (MTCC-9622) against some postharvest pathogens. **Journal of Agricultural Technology**, Bankog, v. 6, n. 3, p. 409-419, 2010

UDAYANGA, D.; LIU, X.; CROUS, P. W.; MCKENZIE, E. H. C.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. A multi-locus phylogenetic evaluation of *Diaporthe* (*Phomopsis*). **Fungal Diversity**, Dordrecht, v. 56, n. 1, p. 157-171, 2012.

U'REN, J. M.; DALLING, J. W.; GALLERY, R. E.; MADDISON, D. R.; DAVIS, E. C.; GIBSON, C. M.; ARNOLD, A. E. Diversity and evolutionary origins of fungi associated with seeds of a neotropical pioneer tree: a case study for analysing fungal environmental samples. **Mycological research**, Cambridge, v. 113, n. 4, p. 432-449, 2009.

U'REN, J. M.; LUTZONI, F.; MIADLIKOWSKA, J.; LAETSCH, A. D.; ARNOLD, A. E. Host and geographic structure of endophytic and endolichenic fungi at a continental scale. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 99, n. 5, p. 898-914, 2012.

URRIOLA, J.; BETHANCOURT, A.; VAN BAELE, S. A. "Limited persistence of endophytic fungi in leaf-cutting ant gardens". **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v. 6, n. 1, p. 1-44, 2011.

UNTERSEHER, M.; SCHNITTLER, M. Species richness analysis and ITS rDNA phylogeny revealed the majority of cultivable foliar endophytes from beech (*Fagus sylvatica*). **Fungal Ecology**, Berlin, v. 3, n. 4, p. 366-378, 2010.

VAN BAELE, S. A.; ESTRADA, C.; REHNER, S. A.; SANTOS, J. F.; WCISLO, W. T. Leaf endophyte load influences fungal garden development in leaf-cutting ants. **BMC Ecology**. London, v.12, n. 23, p. 1-9, 2012.

VAN BAELE, S. A. ESTRADA, C.; WCISLO, W. T. Fungal-fungal interactions in leaf-cutting ant agriculture. **Psyche: A Journal of Entomology**, Cambridge, v. 2011, [s.n.], p. 1-9, 2011.

VAN BAELE, S. A.; SEID, M. A.; WCISLO, W. T. Endophytic fungi increase the processing rate of leaves by leaf-cutting ants (*Atta*). **Ecological Entomology, London**, v. 37, n. 4, p. 318-321, 2012.

VAN BAELE, S. A.; FERNÁNDEZ-MARÍN, H.; VALENCIA, M. C.; ROJAS, E. I.; WCISLO, W. T.; HERRE, E. A. Two fungal symbioses collide: endophytic fungi are not welcome in leaf-cutting ant gardens. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, London, v. 276, n. 1666, p. 2419-2426, 2009.

VOGLMAYR, H.; MAYER, V.; MASCHWITZ, U.; MOOG, J.; DJIETO-LORDON, C.; BLATRIX, R. The diversity of ant-associated black yeasts: insights into a newly discovered world of symbiotic interactions. **Fungal Biology**, Oxford, v. 115, n. 10, p. 1077-1091, 2011.

WALTHER, G.; PAWŁOWSKA, J.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; WRZOSEK, M.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L.; DOLATABADI, S.; CHAKRABARTI, A.; HOOG, G. S. DNA barcoding in *Mucorales*: an inventory of biodiversity. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Leiden, v. 30, n. 1, p. 11-47, 2013.

WANG, X.; CHEN, G.; HUANG, F.; ZHANG, J.; HYDE, K. D.; LI, H. *Phyllosticta* species associated with citrus diseases in China. **Fungal Diversity**, Dordrecht, v. 52, n. 1, p. 209-224, 2012.

WATANABE, T. **Pictorial atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species**. 2 ed. London, UK: CRC Press, 2002.

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 73, n. 1, p. 115-180, 2012.

WEBER, N. A. Evolution in fungus-growing ants. **Proceedings of the Tenth International Congress of Entomology**, Montreal, v. 2, [s.n.], p. 459-473, 1956.

WEBER, N. A. Fungus-growing ants. **Science**, Washington, v. 153, n. 3736, p. 587-604, 1966.

WEBER, N. A. **Gardening ants: The Attines**. Philadelphia: American Philosophical Society, v. 92, [s.n.], 1972. 146p.

WHITE, T. J.; BURNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. PCR Protocols: a guide to method and applications In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (Eds.) **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal rRNA genes for phylogenetics**. San Diego: Academic Press, p. 315-352, 1990.

XU, Y. L.; BAO, S. X.; HUANG, H. Q.; LIU, M.; ZHU, J. Diversity and distribution of culturable fungi in the mangrove soil in Hainan. Unpublished, 2012.

YADAV, A. N.; VERMA, P.; SACHAN, S. G.; KAUSHIK, R.; SAXENA, A. K. Diversity of psychrophilic and psychrotrophic fungi from cold deserts of Rohtang Pass. Unpublished, 2013.

YANG, B.; HU, M. J. Pathogenic fungus from mango fruit. Unpublished, 2013.

YANG, J.; RUEGGER, P. M.; MCKENRY, M. V.; BECKER, J. O.; BORNEMAN, J. Correlations between Root-Associated Microorganisms and Peach Replant Disease Symptoms in a California Soil. **PloS one**, San Francisco, v. 7, n. 10, p. e46420, 2012.

YEK, S. H.; BOOMSMA, J. J.; POULSEN, M. Towards a better understanding of the evolution of specialized parasites of fungus-growing ant crops. **Psyche: A Journal of Entomology**, Cambridge, v. 2012, [s.n.], p. 1-10, 2012.

YEK, S. H.; NASH, D. R.; JENSEN, A. B.; BOOMSMA, J. J. Regulation and specificity of antifungal metapleural gland secretion in leaf-cutting ants. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 279, n. 1745, p. 4215-4222, 2012.

ZHANG, H.; LUANG, F.; ZHANG, L. Metagenome DNA extracted from cotton rhizosphere soil at the boll-opening period. Unpublished, 2013

ZHANG, Z.; SCHWARTZ, S.; WAGNER, L.; MILLER, W. "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", **Journal of Computational Biology**, v. 7, n. 1-2, p. 203-214, 2000.

ZHANG, M.M.; POULSEN, M.; CURRIE, C.R. Symbiont recognition of mutualistic bacteria by *Acromyrmex* leaf-cutting ants. **ISME J**, New York, v. 1, n. 4, p. 313-320, 2007.

ZHAO, M. M.; ZHANG, N. L. Saprotrophic fungi in a mid-subtropical evergreen broad-leaved forest of China. Unpublished, 2011.

ZOUHAIR, R.; ROUGERO, A.; RAZAFIMANDIMBY, B.; KOBİ, A.; BOUCHARA, J. P.; GIRAUD, S. Distribution of the different species of the *Pseudallescheria boydii*/*Scedosporium apiospermum* complex in French patients with cystic fibrosis. **Medical Mycology**, London, v.51, [s.n.], p. 603-613, 2013.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Identificação dos fungos agrupados por identificação polifásica (utilizando marcadores morfológicos e moleculares).

Identificação final	Identificação morfológica	Identificação molecular - Região ITS							Número de Isolados	
		NCBI-GenBank ¹				CBS ¹				
		pb ²	% ³	n. acesso ⁴	Espécie	%	n. acesso	Espécie	2012	2013
Zygomycota										
<i>Absidia cylindrospora</i>	<i>Absidia cylindrospora</i>	-	nd ⁵	-	-	-	-	-	1	0
<i>Cunninghamella</i> sp.	<i>Cunninghamella</i> sp.	-	nd	-	-	-	-	-	1	0
<i>Gongronella butleri</i>	<i>Gongronella butleri</i>	656	99%	JN943049	<i>Gongronella butleri</i>	98,7	CBS 101.59	<i>Absidia cuneospora</i>	0	2
<i>Mortierella</i> sp.	-	626	100%	JX975890	<i>Mortierella epicladia</i>	99,1	CBS 863.68	<i>Mortierella zonata</i>	0	1
<i>Mucor</i> sp.1	<i>Mucor</i> sp.	-	nd	-	-	-	-	-	3	0
<i>Mucor</i> sp.2	-	632	95%	JN206109	<i>Mucor parvisseptatus</i>	95,3	CBS 522.79	<i>Mucor parvisseptatus</i>	0	2
<i>Umbelopsis nana</i>	<i>Umbelopsis nana</i>	599	100%	KC489506	<i>Umbelopsis nana</i>	100	CBS 696.68	<i>Absidia macrospora</i>	0	1
Ascomycota										
<i>Acremonium</i> sp.	<i>Acremonium</i> sp.	572	100%	JN207340	<i>Acremonium</i> sp.	100	CBS 233.70	<i>Acremonium alternatum</i>	1	0
<i>Alternaria</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	551	99%	HQ263343	<i>Alternaria alternata</i>	99,8	CBS 118809	<i>Alternaria alstroemeriae</i>	1	0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus</i> sp.	583	99%	HQ026746	<i>Aspergillus fumigatus</i>	100	CBS 133.61	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	0
<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	551	99%	AY373868	<i>Aspergillus sydowii</i>	99,8	CBS 128131	<i>Aspergillus sydowii</i>	1	0
<i>Beltrania rhombica</i>	FNE ⁷	577	98%	GU797390	<i>Beltrania rhombica</i>	98,6	CBS 123.58	<i>Beltrania rhombica</i>	1	0
<i>Bionectria ochroleuca</i>	<i>Gliocladium</i> sp.	551	99%	HQ607832	<i>Bionectria ochroleuca</i>	99,6	ATT017	<i>Bionectria ochroleuca</i>	2	0
<i>Chaetothyriales</i>	-	586	97%	HQ607912	<i>Ascomycota</i> sp.	79	CBS 117155	<i>Trichophyton eboreum</i>	0	7
<i>Chloridium</i> sp.	-	533	99%	HQ630978	<i>Chloridium</i> sp.	99	CBS 195.60	<i>Gonytrichum macrocladum</i>	0	1
<i>Cladophialophora</i> sp.	-	556	94%	EU035404	<i>Cladophialophora chaetospira</i>	90	CBS 126.86	<i>Cladophialophora boppii</i>	0	4
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Cladosporium</i> sp.	532	100%	AF393702	<i>Cladosporium gossypicola</i>	100	CBS 674.82	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	4	0
<i>Cladosporium flabelliforme</i>	<i>Cladosporium</i> sp.	532	100%	AY463364	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	100	CBS 126345	<i>Cladosporium flabelliforme</i>	1	1
<i>Cladosporium perangustum</i>	<i>Cladosporium</i> sp.	531	100%	AY463364	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	100	CBS 126364	<i>Cladosporium perangustum</i>	10	0
<i>Cladosporium</i> sp.1	<i>Cladosporium</i> sp.	533	100%	AF393702	<i>Cladosporium gossypicola</i>	100	CBS 674.82	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0	3
<i>Cladosporium</i> sp.2	<i>Cladosporium</i> sp.	533	100%	KC585406	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	100	DTO 109-E9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	4	0
<i>Cladosporium</i> sp.3	<i>Cladosporium</i> sp.	533	100%	KC585406	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	100	DTO 109-E9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	0
<i>Colletotrichum</i> sp. 1	<i>Colletotrichum</i> sp. 1	566	99%	FJ810513	<i>Glomerella acutata</i>	100	CBS 129821	<i>Colletotrichum</i> sp.	3	0
<i>Colletotrichum</i> sp. 2	<i>Colletotrichum</i> sp. 2	556	99%	JX010186	<i>Colletotrichum queenslandicum</i>	100	CBS 112983	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	1	0

APÊNDICE A - (continuação)

Identificação final	Identificação morfológica	Identificação molecular - Região ITS								Número de Isolados	
		pb ²	NCBI-GenBank ¹				CBS ¹				
			% ³	n. acesso ⁴	Espécie	%	n. acesso	Espécie	2012	2013	
<i>Colletotrichum</i> sp. 3	<i>Colletotrichum</i> sp. 3	566	100%	JX519219	<i>Colletotrichum paspali</i>	97,4	CBS 125086	<i>Colletotrichum navitas</i>	1	0	
<i>Colletotrichum</i> sp.4	<i>Colletotrichum</i> sp. 4	576	100%	JN390940	<i>Colletotrichum</i> sp.	100	CBS 125468	<i>Colletotrichum boninense</i>	0	1	
<i>Curvularia</i> sp.1	FNE	508	99%	GU073102	<i>Curvularia intermedia</i>	99,6	FMR 11510	<i>Curvularia intermedia</i>	1	0	
<i>Curvularia</i> sp.2	<i>Curvularia</i> sp.	557	99%	JQ885447	<i>Cochliobolus lunatus</i>	99,3	CBS 294.61	<i>Curvularia lunata</i>	2	0	
<i>Curvularia</i> sp. 3	<i>Curvularia</i> sp. 2	569	99%	JQ936099	<i>Cochliobolus sativus</i>	98,9	CBS 127.088	<i>Bipolaris gossypina</i>	1	0	
<i>Curvularia</i> sp. 4	<i>Curvularia</i> sp. 3	571	100%	JN943416	<i>Cochliobolus geniculatus</i>	100	CBS 164.60	<i>Curvularia fallax</i>	2	0	
<i>Curvularia trifolii</i>	<i>Curvularia</i> sp. 1	587	99%	JN712458	<i>Curvularia trifolii</i>	99,4	CBS 156.35	<i>Curvularia pallescens</i>	3	0	
<i>Cytospora variostromatica</i>	FNE	592	97%	DQ243798	<i>Cytospora variostromatica</i>	96,8	CBS 118564	<i>Cytospora variostromatica</i>	2	0	
<i>Cytospora eucalypticola</i>	FNE	589	99%	DQ923539	<i>Valsa fabianae</i>	98,7	CBS122689	<i>Cytospora eucalypticola</i>	1	0	
<i>Cytospora</i> sp.	FNE	575	99%	DQ243804	<i>Cytospora acaciae</i>	94,1	CBS 116854	<i>Cytospora nitschkei</i>	1	0	
<i>Discosia</i> sp.	FNE	570	99%	AB594783	<i>Discosia</i> sp.	95,4	CBS 173.65	<i>Robillarda sessilis</i>	2	0	
<i>Dothideomycetes</i> sp.	FNE	501	97%	JQ760325	<i>Dothideomycetes</i> sp.	95,6	-	<i>Dothideomycetes</i> sp.	11	3	
<i>Drechslera micropus</i>	FNE	580	99%	HM997113	<i>Dothideomycetes</i>	99,6	CBS 127235	<i>Drechslera micropus</i>	9	0	
<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Epicoccum nigrum</i>	527	99%	FJ424241	<i>Epicoccum nigrum</i>	99,5	CBS 396.84	<i>Epicoccum nigrum</i>	2	0	
<i>Epicoccum sorghi</i>	FNE	516	99%	KC106717	<i>Epicoccum sorghi</i>	99,6	CBS 301.89	<i>Epicoccum sorghi</i>	1	1	
<i>Escovopsioides nivea</i>	<i>Hypocreales</i>	575	99%	JQ815078	<i>Hypocreales</i> sp.	-	-	-	0	2	
<i>Escovopsis</i> sp.	<i>Escovopsis</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	0	26	
<i>Eutypella</i> sp. 1	FNE	572	98%	EU088364	<i>Eutypella</i> sp.	98	CBMAI 860	<i>Eutypella</i> sp.	1	0	
<i>Eutypella</i> sp. 2	-	557	99%	HQ008913	<i>Eutypella</i> sp.	96,4	DTO 090-G7	<i>Eutypella scoparia</i> .	0	1	
<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium</i> sp.	528	100%	GQ505694	<i>Fusarium equiseti</i>	100	NRRL 34034	<i>Fusarium incarnatum-equiseti</i>	3	0	
<i>Fusarium oxysporum</i> species complex	<i>Fusarium oxysporum</i>	526	100%	HQ651161	<i>Fusarium oxysporum</i>	100	CBS 220.49	<i>Fusarium oxysporum</i>	1	1	
<i>Fusarium solani</i> species complex	<i>Fusarium solani</i>	550	100%	FJ345352	<i>Fusarium solani</i>	100	NRRL 46685	<i>Fusarium solani</i>	3	1	
<i>Geomyces</i> sp.	FNE	542	94%	GU222395	<i>Geomyces pannorum</i>	95,5	-	<i>Geomyces pannorum</i>	3	1	
<i>Guignardia</i> sp.	FNE	619	99%	JQ743587	<i>Guignardia mangiferae</i>	100	CBS 373.54	<i>Guignardia philoprina</i>	2	0	
<i>Hypocreales</i>	-	559	90%	AB217788	Uncultured Ascomycota	84	DTO 134-B9	<i>Fusarium ciliatum</i>	0	1	
<i>Mycoleptodiscus indicus</i>	-	556	99%	GU980696	<i>Mycoleptodiscus indicus</i>	98,9	CBS 127677	<i>Mycoleptodiscus indicus</i>	0	1	

APÊNDICE A - (continuação)

Identificação final	Identificação morfológica	Identificação molecular - Região ITS								Número de Isolados	
		NCBI-GenBank ¹				CBS ¹					
		pb ²	% ³	n. acesso ⁴	Espécie	%	n. acesso	Espécie	2012	2013	
<i>Mycosphaerella</i> sp.1	FNE	514	99%	EU167579	<i>Mycosphaerella crystallina</i>	99,8	CBS 120741	<i>Mycosphaerella heimii</i>	9	1	
<i>Mycosphaerella</i> sp.2	FNE	514	99%	EU167579	<i>Mycosphaerella crystallina</i>	99,8	CBS 120741	<i>Mycosphaerella heimii</i>	4	1	
<i>Mycosphaerella</i> sp. 3	FNE	528	99%	DQ303083	<i>Pseudocercospora</i> sp.	99,8	CBS 111373	<i>Pseudocercospora</i> sp.	7	3	
<i>Mycosphaerella</i> sp. 4	-	539	98%	DQ303035	<i>Mycosphaerella</i> sp.	93	CBS 118909	<i>Mycosphaerella stramentii</i>	0	1	
<i>Neofusicoccum eucalyptorum</i>	FNE	559	100%	EU860376	<i>Neofusicoccum eucalyptorum</i>	98,9	CBS 115679	<i>Botryosphaeria eucalyptorum</i>	1	0	
<i>Neofusicoccum parvum</i>	FNE	561	99%	EU650672	<i>Neofusicoccum parvum</i>	99,8	CBS 121486	<i>Neofusicoccum parvum</i>	3	0	
<i>Nigrospora oryzae</i>	FNE	539	98%	DQ219433	<i>Nigrospora oryzae</i>	98,5	CBS 480.73	<i>Nigrospora oryzae</i>	2	0	
<i>Nigrospora</i> sp.	FNE	532	88%	JQ026216	<i>Nigrospora</i> sp.	84,9	DTO 115-H5	<i>Nigrospora oryzae</i>	2	0	
<i>Ochroconis</i> sp.	-	632	92%	DQ307327	<i>Ochroconis constricta</i>	-	-	-	0	3	
<i>Oidiodendron</i> sp.	FNE	441	99%	AF307773	<i>Oidiodendron tenuissimum</i>	100	CBS 114896	<i>Oidiodendron setiferum</i>	1	0	
<i>Paecilomyces carneus</i>	-	624	99%	KF225905	Uncultured <i>Paecilomyces</i>	99,3	CBS 338.54	<i>Paecilomyces carneus</i>	0	1	
<i>Paecilomyces</i> sp.	<i>Paecilomyces</i> sp.	575	90%	JN899328	<i>Talaromyces purpureus</i>	90	CBS 475.71	<i>Talaromyces purpureus</i>	5	0	
<i>Paraphaeosphaeria michotii</i>	FNE	566	99%	HQ630993	<i>Paraphaeosphaeria michotii</i>	99,8	CBS 591.73	<i>Paraphaeosphaeria michotii</i>	1	0	
<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	536	99%	FJ466705	<i>Penicillium citrinum</i>	100	CBS 252.55	<i>Penicillium citrinum</i>	72	0	
<i>Penicillium</i> sp. 1	<i>Penicillium</i> sp. 1	560	99%	JN686455	<i>Penicillium</i> sp.	97,4	CBS 287.36	<i>Penicillium sclerotiorum</i>	2	0	
<i>Penicillium</i> sp. 2	<i>Penicillium</i> sp. 2	562	99%	HQ607919	<i>Penicillium verruculosum</i>	99	CBS 321.48	<i>Penicillium primulinum</i>	3	0	
<i>Penicillium</i> sp. 3	<i>Penicillium</i> sp. 3	562	99%	JX965247	<i>Talaromyces amestolkiae</i>	99	CBS 101965	<i>Talaromyces purpurogenus</i>	2	0	
<i>Penicillium</i> sp.4	<i>Penicillium</i> sp.4	468	99%	HQ149324	<i>Penicillium calidicanium</i>	98,7	CBS 322.48	<i>Penicillium duclauxii</i>	1	0	
<i>Penicillium</i> sp. 5	<i>Penicillium</i> sp. 5	569	98%	AY373921	<i>Penicillium janthinellum</i>	99,2	CBS 447.74	<i>Eupenicillium javanicum</i>	1	0	
<i>Penicillium</i> sp. 6	<i>Penicillium</i> sp. 6	571	99%	AF125941	<i>Penicillium</i> sp.	99,1	CBS 115.74	<i>Penicillium simplicissimum</i>	0	3	
<i>Penicillium</i> sp. 7	<i>Penicillium</i> sp. 7	583	99%	HM469393	<i>Penicillium kloeckeri</i>	100	CBS 391.48	<i>Talaromyces wortmannii</i>	0	1	
<i>Penicillium</i> sp. 8	<i>Penicillium</i> sp. 8	524	98%	GQ370373	<i>Penicillium</i> sp.	99	CBS 220.30	<i>Penicillium simplicissimum</i>	0	1	
<i>Penicillium</i> sp. 9	<i>Penicillium</i> sp. 9	571	96%	NR103685	<i>Talaromyces proteolyticus</i>	98,8	CBS 100535	<i>Talaromyces unicus</i>	0	1	
<i>Penicillium</i> sp. 10	<i>Penicillium</i> sp. 10	520	100%	GQ370373	<i>Penicillium</i> sp.	99,5	CBS 280.39	<i>Penicillium simplicissimum</i>	0	1	
<i>Penicillium</i> sp. 11	<i>Penicillium</i> sp. 11	569	100%	HM469430	<i>Penicillium simplicissimum</i>	98,9	CBS 127805	<i>Penicillium rapidoviride</i>	0	3	
<i>Penicillium</i> sp. 12	<i>Penicillium</i> sp. 12	562	99%	HQ607919	<i>Penicillium verruculosum</i>	99	CBS 321.48	<i>Penicillium primulinum</i>	0	3	

APÊNDICE A - (continuação)

Identificação final	Identificação morfológica	Identificação molecular - Região ITS								Número de Isolados	
		NCBI-GenBank ¹				CBS ¹					
		pb ²	% ³	n. acesso ⁴	Espécie	%	n. acesso	Espécie	2012	2013	
<i>Penicillium</i> sp. 13	<i>Penicillium</i> sp. 13	562	99%	HQ607919	<i>Penicillium verruculosum</i>	99	CBS 321.48	<i>Penicillium primulinum</i>	0	1	
<i>Pestalotiopsis</i> sp. 1	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	588	99%	AF409994	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	99	-	-	2	0	
<i>Pestalotiopsis</i> sp. 2	<i>Pestalotiopsis</i> sp. 2	532	99%	HQ607806	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	99,8	CBS 115.83	<i>Pestalotiopsis versicolor</i>	0	1	
<i>Phaeomoniella</i> sp.	FNE	595	96%	JN628143	<i>Phaeomoniella</i> sp.	-	-	-	1	0	
<i>Phaeosphaeria herpotrichoides</i>	FNE	569	98%	AJ608969	<i>Leptosphaeria</i> sp.	98,4	CBS-387.86	<i>Phaeosphaeria herpotrichoides</i>	2	0	
<i>Phaeosphaeria</i> sp.1	FNE	483	95%	JF449863	Uncultured <i>Pleosporales</i>	96,3	CBS 120248	<i>Phaeosphaeria brevispora</i>	1	0	
<i>Phaeosphaeria</i> sp.2	FNE	568	100%	AJ496628	<i>Septoria arundinacea</i>	100	CBS 578.86	<i>Phaeosphaeria phragmitis</i>	1	0	
<i>Phaeosphaeriopsis</i> sp.	FNE	529	99%	JQ936272	<i>Phaeosphaeriopsis</i> sp.	99,8	MPB17A	<i>Phaeosphaeriopsis</i> sp.	1	0	
<i>Phoma</i> sp.	FNE	523	99%	EU167565	<i>Peyronellaea pinodella</i>	99,5	CBS 346.82	<i>Phoma dimorpha</i>	2	1	
<i>Phomopsis</i> sp.1	FNE	559	99%	JN153070	<i>Phomopsis</i> sp.	97,1	CBS 127270	<i>Diaporthe novem</i>	3	0	
<i>Phomopsis</i> sp.2	FNE	558	97%	JN153056	<i>Phomopsis</i> sp.	96,6	CBS 123208	<i>Diaporthe foeniculacea</i>	2	0	
<i>Phomopsis</i> sp.3	FNE	559	99%	KC343164	<i>Diaporthe oxe</i>	96,9	CBS 127270	<i>Diaporthe novem</i>	1	0	
<i>Phomopsis</i> sp.4	FNE	562	100%	JN153062	<i>Phomopsis</i> sp.	95,5	CBS 123208	<i>Diaporthe foeniculacea</i>	3	0	
<i>Phomopsis</i> sp.5	FNE	557	99%	GQ370368	<i>Phomopsis</i> sp.	97,8	CBS 127270	<i>Diaporthe novem</i>	1	0	
<i>Phomopsis</i> sp.6	FNE	560	99%	JN153053	<i>Phomopsis</i> sp.	99	CBS 117016	<i>Phomopsis longicolla</i>	1	0	
<i>Phomopsis</i> sp. 7	-	559	96%	KC343197	<i>Diaporthe sojae</i>	95,7	CBS 179.55	<i>Diaporthe phaseolorum</i> var. <i>sojae</i>	0	1	
<i>Podospora</i> sp.	-	580	91%	HQ607855	<i>Ascomycota</i> sp.	82,2	DTO 089-E2	<i>Chaetomium globosum</i>	0	1	
<i>Preussia</i> sp. 1	<i>Preussia</i> sp. 1	524	99%	HQ607898	<i>Preussia</i> sp.	99,6	UFMGCB 5026	<i>Preussia</i> sp.	12	1	
<i>Preussia</i> sp. 2	<i>Preussia</i> sp. 2	541	100%	HQ607926	<i>Preussia</i> sp.	97,9	CBS 117680	<i>Preussia persica</i>	1	0	
<i>Preussia</i> sp. 3	<i>Preussia</i> sp. 3	568	90%	GQ203765	<i>Preussia terricola</i>	91,9	CBS 117679	<i>Preussia polymorpha</i>	1	2	
<i>Pseudallescheria boydii</i>	-	504	99%	AY213680	<i>Pseudallescheria boydii</i>	99,6	CBS 127623	<i>Scedosporium apiospermum</i>	0	1	
<i>Pseudoplagiostoma</i> sp.	FNE	588	99%	GU973533	<i>Pseudoplagiostoma eucalypti</i>	99	CBS 115722	<i>Pseudoplagiostoma oldii</i>	1	0	
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	577	100%	HQ842837	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	99	CBS 100379	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	4	1	
<i>Robillarda</i> sp.	FNE	570	93%	FJ825373	<i>Robillarda sessilis</i>	93	-	-	2	0	
<i>Scytalidium</i> sp. 1	-	570	95%	KC215134	<i>Scytalidium</i> sp.	94,4	-	-	0	2	
<i>Scytalidium</i> sp.2	-	553	95%	GQ272624	<i>Xylogone sphaerospora</i>	97,1	CBS 383.36	<i>Torula ligniperda</i>	0	1	

APÊNDICE A - (continuação)

Identificação final	Identificação morfológica	Identificação molecular - Região ITS								Número de Isolados	
		NCBI-GenBank ¹				CBS ¹					
		pb ²	% ³	n. acesso ⁴	Espécie	%	n. acesso	Espécie	2012	2013	
<i>Setophoma chromolaena</i>	-	571	98%	KF251244.	<i>Setophoma chromolaena</i>	97,7	CBS 135105	<i>Setophoma chromolaena</i>	2	0	
<i>Sordariomycetes</i> sp. 1	FNE	528	99%	JQ761926	<i>Sordariomycetes</i> sp.	99,8	-	-	1	0	
<i>Sordariomycetes</i> sp. 2	-	566	99%	EU918704	<i>Sordaria fimicola</i>	99,2	CBS 178.33	<i>Gelasinospora tetrasperma</i>	0	2	
<i>Spegazzinia</i> sp.	<i>Spegazzinia</i> sp.	558	100%	JQ673429	<i>Spegazzinia tessartha</i>	92,8	CBS 361.58	<i>Spegazzinia lobulata</i>	1	0	
<i>Tetraplospheeria</i> sp.	FNE	536	100%	HQ607877	<i>Ascomycota</i> sp.	100	-	<i>Ascomycota</i> sp.	1	0	
<i>Trichoderma deliquescens</i>	<i>Trichoderma</i> sp.	597	-	-	-	-	-	-	2	0	
<i>Trichoderma hamatum</i> ⁸	<i>Trichoderma</i> sp.	582	-	-	-	-	-	-	2	3	
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Trichoderma</i> sp.	600	-	-	-	-	-	-	0	3	
<i>Trichoderma spirale</i>	<i>Trichoderma</i> sp.	592	-	-	-	-	-	-	17	97	
<i>Trichoderma</i> sp. 1	<i>Trichoderma</i> sp.	587	-	-	-	-	-	-	1	0	
<i>Trichoderma</i> sp. 2	<i>Trichoderma</i> sp.	598	-	-	-	-	-	-	0	2	
<i>Trichoderma</i> sp. 3	<i>Trichoderma</i> sp.	594	-	-	-	-	-	-	0	3	
<i>Trichoderma</i> sp. 4	<i>Trichoderma</i> sp.	620	-	-	-	-	-	-	0	3	
<i>Trichoderma</i> sp. 5	<i>Trichoderma</i> sp.	609	-	-	-	-	-	-	0	1	
<i>Viridispora diparietispora</i>	-	553	97%	JN049838	<i>Viridispora diparietispora</i>	96,8	CBS 376.59	<i>Viridispora diparietispora</i>	0	4	
<i>Xylaria</i> sp. 1	<i>Xylaria</i> sp. 1	594	97%	DQ139271	<i>Xylaria</i> sp.	84,1	CBS 126417	<i>Xylaria hypoxylon</i>	1	0	
<i>Xylaria</i> sp. 2	<i>Xylaria</i> sp. 2	569	88%	JQ327861	<i>Xylaria berteri</i>	85	CBS 724.69	<i>Xylaria cornu-damae</i>	1	1	
<i>Xylaria</i> sp. 3	<i>Xylaria</i> sp. 3	571	89%	AB274817	<i>Xylaria polymorpha</i>	85,3	CBS 126417	<i>Xylaria hypoxylon</i>	0	2	
<i>Xylaria</i> sp. 4	<i>Xylaria</i> sp. 4	572	91%	HQ608132	<i>Xylariales</i> sp.	86,1	CBS 347.37	<i>Xylaria longipes</i>	0	11	
<i>Ascomycota</i> não identificado 1	FNE	576	91%.	EU167593	<i>Dothidea muelleri</i>	89,6	CBS 238.66	<i>Kabatina thujae</i>	1	0	
<i>Ascomycota</i> não identificado 2	FNE	575	99%	JQ418348	<i>Microsphaeropsis arundinis</i>	99	CBS 972.95	<i>Paraconiothyrium cyclothyrioides</i>	1	0	
<i>Ascomycota</i> não identificado 3	FNE	529	92%	AF502625	<i>Ascomycete</i>	95,9	CBS 368.94	<i>Arthopyrenia salicis</i>	1	0	
<i>Ascomycota</i> não identificado 4	-	517	89%	FJ196771	<i>Arnium gigantosporum</i>	89,6	DTO 089-D7	<i>Chaetomium globosum</i>	0	2	
<i>Ascomycota</i> não identificado 5	-	597	82%	JN637953	<i>Ascomycota</i> sp.	70,8	CBS 251.81	<i>Verticillium leptobactrum</i>	0	1	
<i>Ascomycota</i> não identificado 6	-	529	96%	AY969479	Uncultured ascomycete	-	-	-	0	1	

APÊNDICE A - (continuação)

Identificação final	Identificação morfológica	Identificação molecular - Região ITS								Número de Isolados	
		NCBI-GenBank ¹				CBS ¹					
		pb ²	% ³	n. acesso ⁴	Espécie	%	n. acesso	Espécie	2012	2013	
Basidiomycota											
Agaricus fiardii	FNE	557	100	JF797196	Agaricus sp.	97,2	CBS 284.94	Agaricus fiardii	1	1	
Agaricus sp.	FNE	654	96	HQ608135	Agaricus sp.	92,6	CBS 349.63	Agaricus comtulus	0	1	
Ceriporiopsis sp.	FNE	612	91	FJ545252	Ceriporiopsis subvermispora	89,3	CBS 347.63	Ceriporiopsis subvermispora	1	0	
Grammothele sp.	FNE	627	95	JN411113	Grammothele denticulata	94,6	-	Grammothele denticulata	1	0	
Hyphodermella sp.	-	632	92	FN600382	Hyphodermella corrugata	90,5	MA-Fungi 61395	Hyphodermella corrugata	0	1	
Oudemansiella canarii	FNE	626	98	HQ534101	Oudemansiella canarii	99,6	-	Oudemansiella canarii	1	0	
Peniophora crassitunicata	FNE	619	99	GU388305	Peniophora sp.	96,2	CBS 663.91	Peniophora crassitunicata	1	0	
Phanerochaete sp.	FNE	621	98	AF475150	Phanerochaete sordida	100	CBS 109679	Ganoderma tornatum	4	2	
Phlebia sp.	FNE	628	99	HQ248220	Basidiomycota sp.	99%	-	Basidiomycota sp.	3	0	
Phlebia subserialis	FNE	638	98	HQ377286	Phlebia subserialis	97,9	UFMGCB 1883	Phlebia subserialis	1	0	
Polyporales 1	FNE	618	99	GQ999369	Flavodon flavus	99,6	-	Flavodon flavus	1	0	
Polyporales 2	-	623	98	KC881071	Ceriporia lacerata	98	CBS 360.34	Hexagonia hydroides	0	1	
Trametes hirsuta	FNE	609	99	JX861099	Trametes hirsuta	98,5	CBS 282.73	Trametes hirsuta	2	0	
Trichosporon chiarellii	Trichosporon chiarellii	512	100	HQ999971	Trichosporon chiarellii	99,4	CBS 111.77	Trichosporon chiarellii	74	1	
Basidiomycota não identificado 1	FNE	620	98	JN882337	Schizophyllum commune	99%	CBS 250.69	Trametes maxima	1	0	
Basidiomycota não identificado 2	-	676	87	AY367590	Apterostigma urichii fungal symbiont	-	-	-	0	1	
Fungos não identificados											
Fungo não identificado	-	541	99	HQ630994	Chaetosphaeria sp.	98,3	CBS 200.25	Rhizoctonia solani	0	1	
Fungo não identificado	-	557	98	JQ081546	Uncultured fungus	98,3	-	Uncultured fungus	0	2	
Total									371	244	

¹ NCBI- GenBank e CBS – bancos de sequências de DNA de acesso público; ² Pares de bases das sequências obtidas nesse estudo; ³ Similaridade (em %) das sequências comparadas com os bancos de dados; ⁴ Número de acesso das sequências dos bancos de dados consultados; ⁵ Fungos que não apresentaram esporulação mesmo após tentativas; ⁶ Os fungos do gênero *Trichoderma* foram identificados utilizando o aplicativo *TrichOKEY* da *International Subcommission on Trichoderma and Hypocrea Taxonomy* (ISTH).
Fonte: Dados da pesquisa.

APÊNDICE B - Proporção de fungos obtidos por meio de cultivo utilizado no isolamento.

Ninhos								
Meio de cultivo	<i>Atta capiguara</i> 2012				<i>Atta sexdens rubropilosa</i> 2012			
	JSP 120410-01	JSP 120410-02	JSP 120410-03	JSP 120410-04	JSP 120410-05	JSP 120410-06	JSP 120410-07	JSP 120411-01
Batata dextrose ágar	17 ¹ /3 ² (20) ³	9/14 (23)	17/4 (21)	22/3 (25)	25/0 (25)	11/11 (22)	6/19 (25)	22/0 (22)
Ágar malte 2%	13/0 (13)	5/1 (6)	10/2 (12)	21/3 (24)	25/0 (25)	16/4 (20)	5/17 (22)	21/0 (21)
Ágar nutriente sintético	9/0 (9)	14/3 (17)	10/1 (11)	23/0 (23)	25/0 (25)	15/10 (25)	13/12 (25)	17/0 (17)
Total	39/3 (42)	28/18 (46)	37/7 (44)	66/6 (72)	75/0 (75)	42/25 (67)	23/49 (72)	60/0 (60)
Meio de cultivo	<i>Atta capiguara</i> 2013				<i>Atta sexdens rubropilosa</i> 2013			
	JSP 130305-02	JSP 130307-01	JSP 130307-02	JSP 130307-03	JSP 130130-01	JSP 130130-02	JSP 130130-03	JSP 130130-04
Batata dextrose ágar	11/9 (20)	24/0 (24)	8/16 (24)	4/14 (18)	13/10 (23)	5/17 (22)	2/23 (25)	12/10 (22)
Ágar malte 2%	7/8 (15)	25/0 (25)	10/6 (16)	4/13 (17)	17/8 (25)	5/20 (25)	2/23 (25)	16/9 (25)
Ágar nutriente sintético	12/12 (24)	24/0 (24)	14/5 (19)	10/8 (18)	13/12 (25)	4/21 (25)	0/25 (25)	11/14 (25)
Total	30/29 (59)	73/0 (73)	32/27 (59)	18/35 (53)	43/30 (73)	14/58 (72)	4/71 (75)	39/33 (72)

¹ representa o número de fragmentos com fungos não-cultivados pelas formigas cortadeiras.

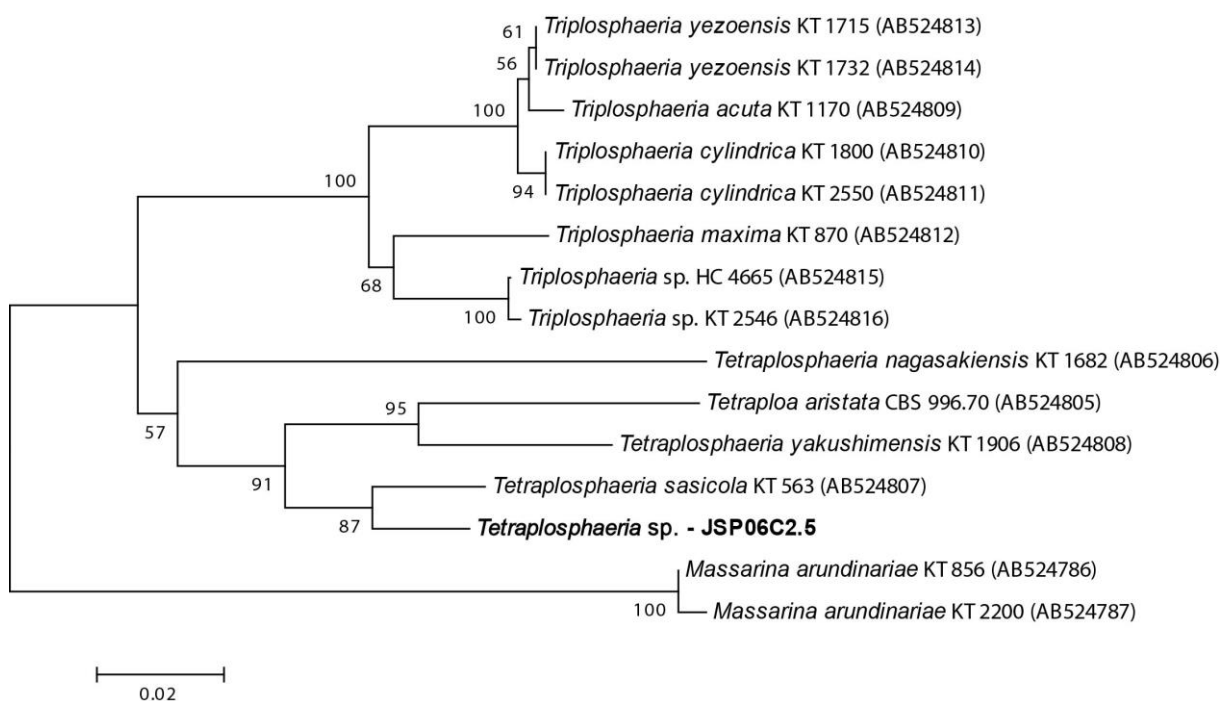
² representa o número de fragmentos com o fungo mutualista (fungo cultivado pelas formigas).

³ representa o total de fragmentos amostrados para cada meio de cultivo utilizado.

Fonte: Dados da pesquisa.

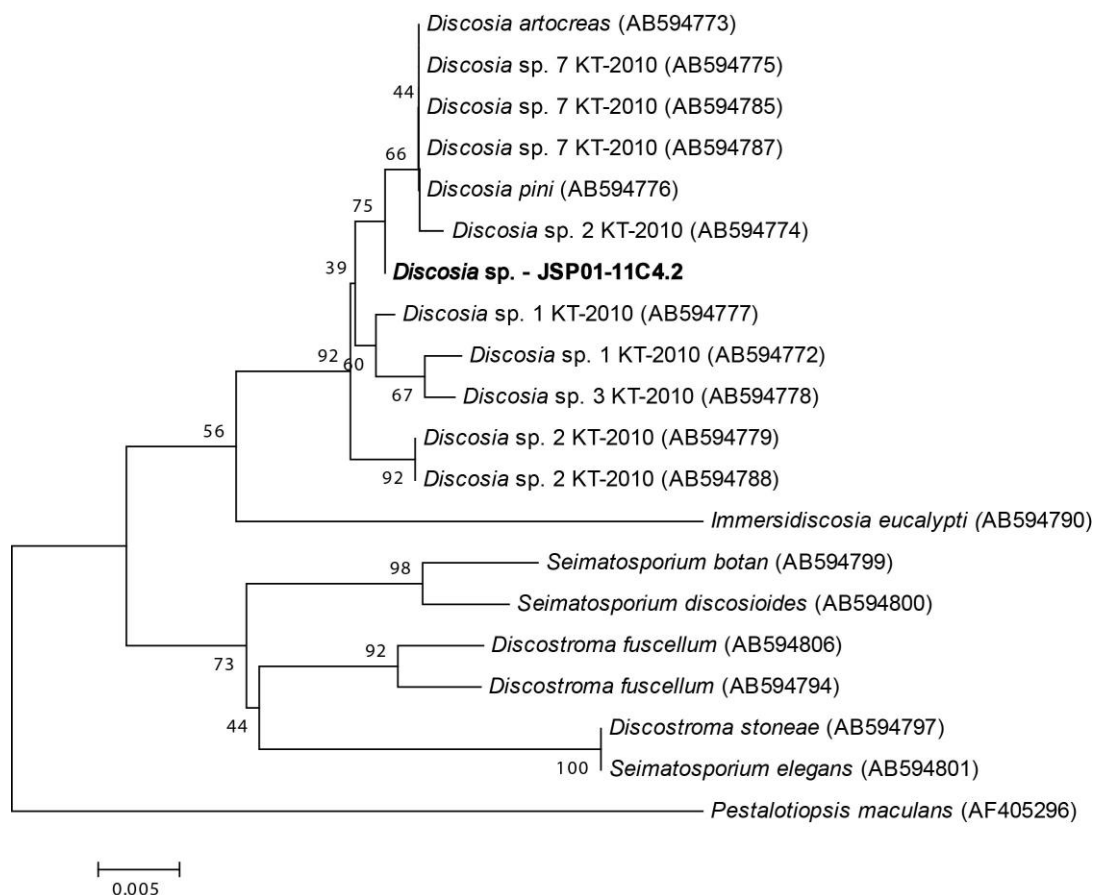
APÊNDICE C - Árvores filogenéticas.

Apêndice C.1 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS do gênero *Tetraplosphaeria* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em **negrito** correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.



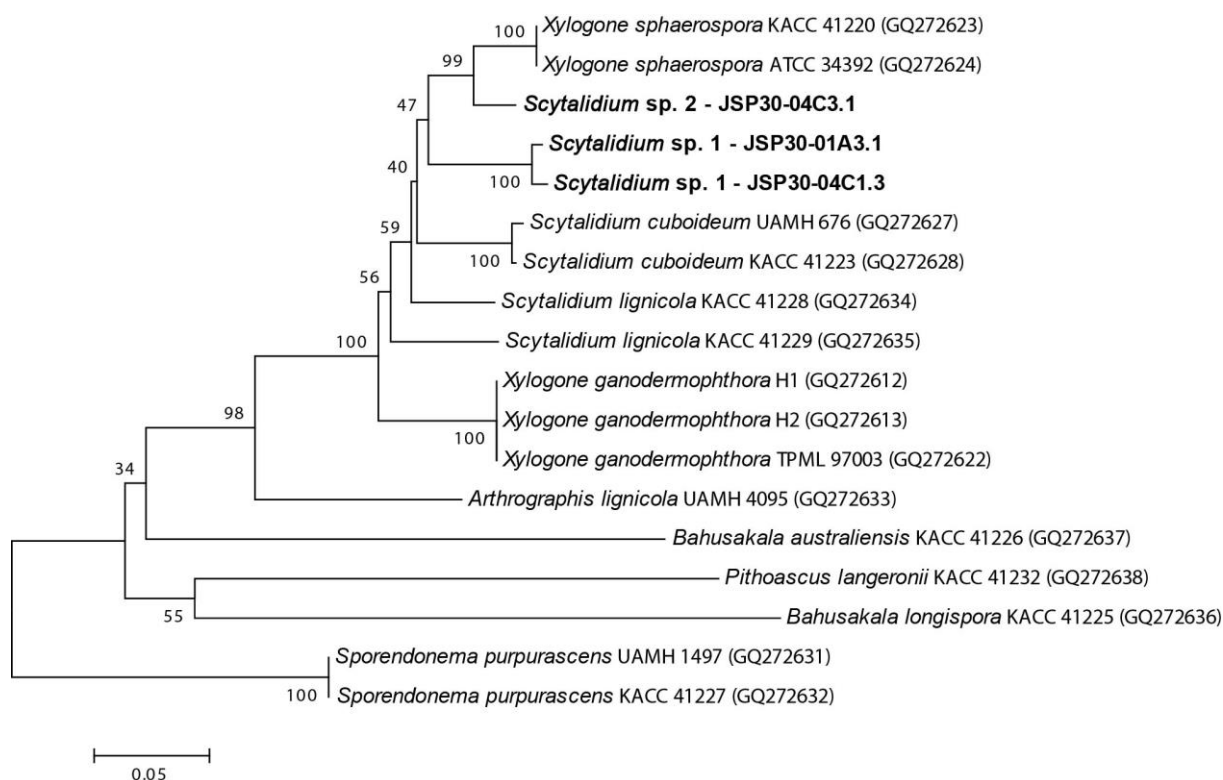
Massarina aurundinariae foi utilizado como grupo externo. JSP 06C2.5 foi isolado do ninho JSP 120410-06 de *Atta sexdens rubropilosa*, coletado no dia 10/04/2012. Árvore baseada no artigo: Tanaka et al. (2009). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.2 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região do ITS gênero *Discosia* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em **negrito** correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.



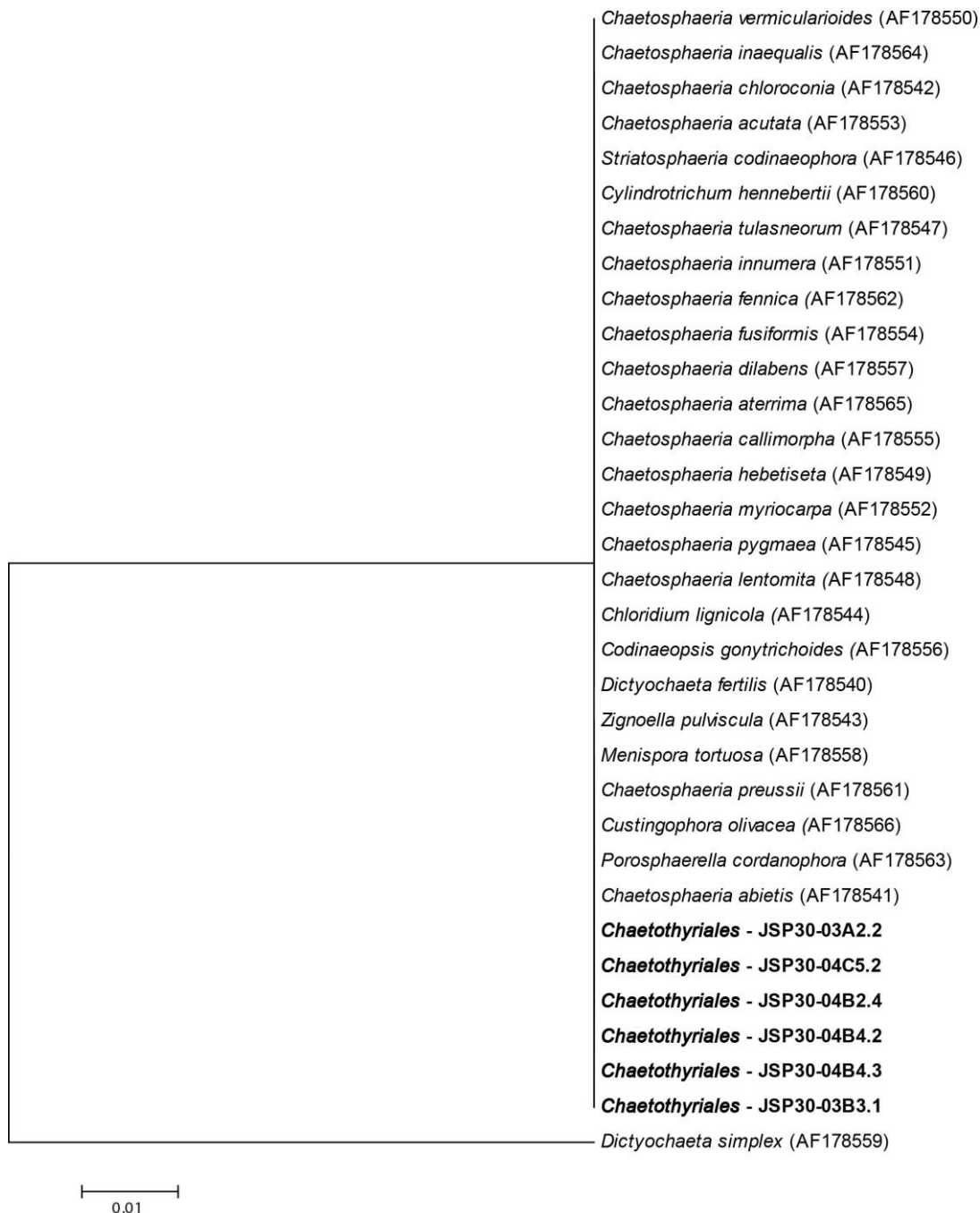
Pestalotiopsis maculans foi utilizado como grupo externo. JSP 01-11C4.2 foi isolado do ninho JSP 120411-01 de *Atta sexdens rubropilosa*, coletado no dia 11/04/2012. Árvore baseada no artigo: Tanaka et al. (2011). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.3 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região do ITS gênero *Xylogone*, *Scytalidium* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em **negrito** correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.



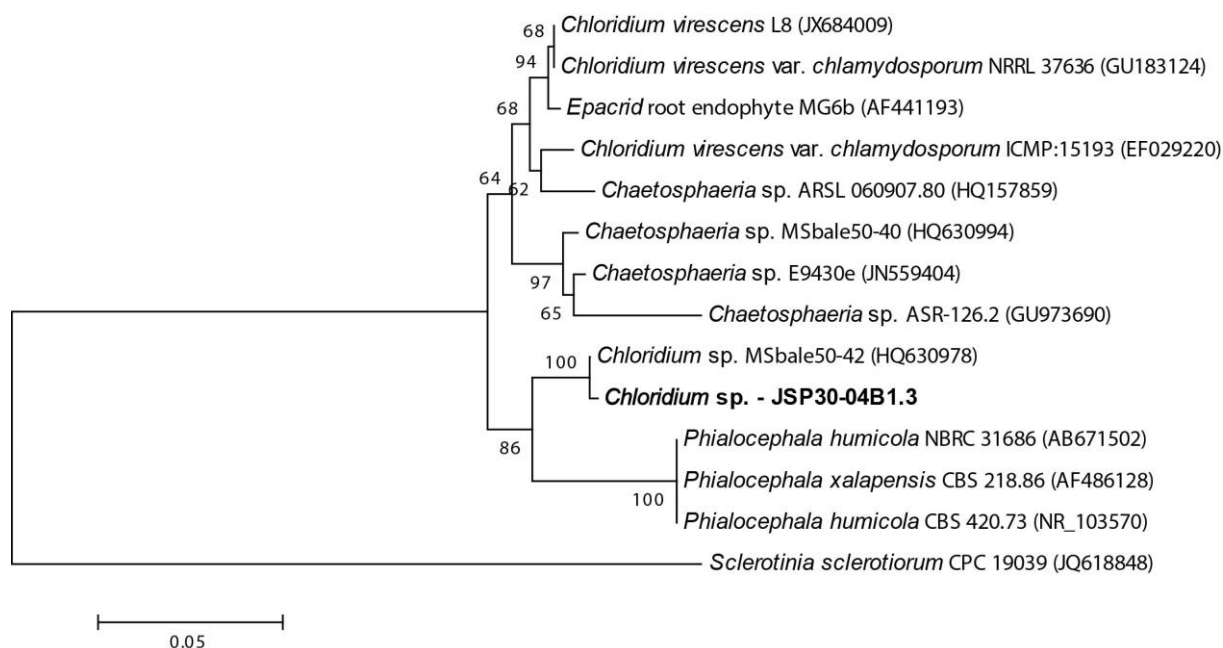
Sporendonema purpurascens foi utilizado como grupo externo. JSP 30-01A3.1 foi isolado do ninho JSP 130130-01 de *Atta sexdens rubropilosa*; JSP 30-04C3.1 e JSP 30-04C1.3 foram isolados do ninho JSP 130130-04 de *Atta sexdens rubropilosa*, todos coletados no dia 30/01/2013. Árvore baseada no artigo: Kang et al. (2010). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.4 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS da família *Chaetothyriales* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em negrito correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.



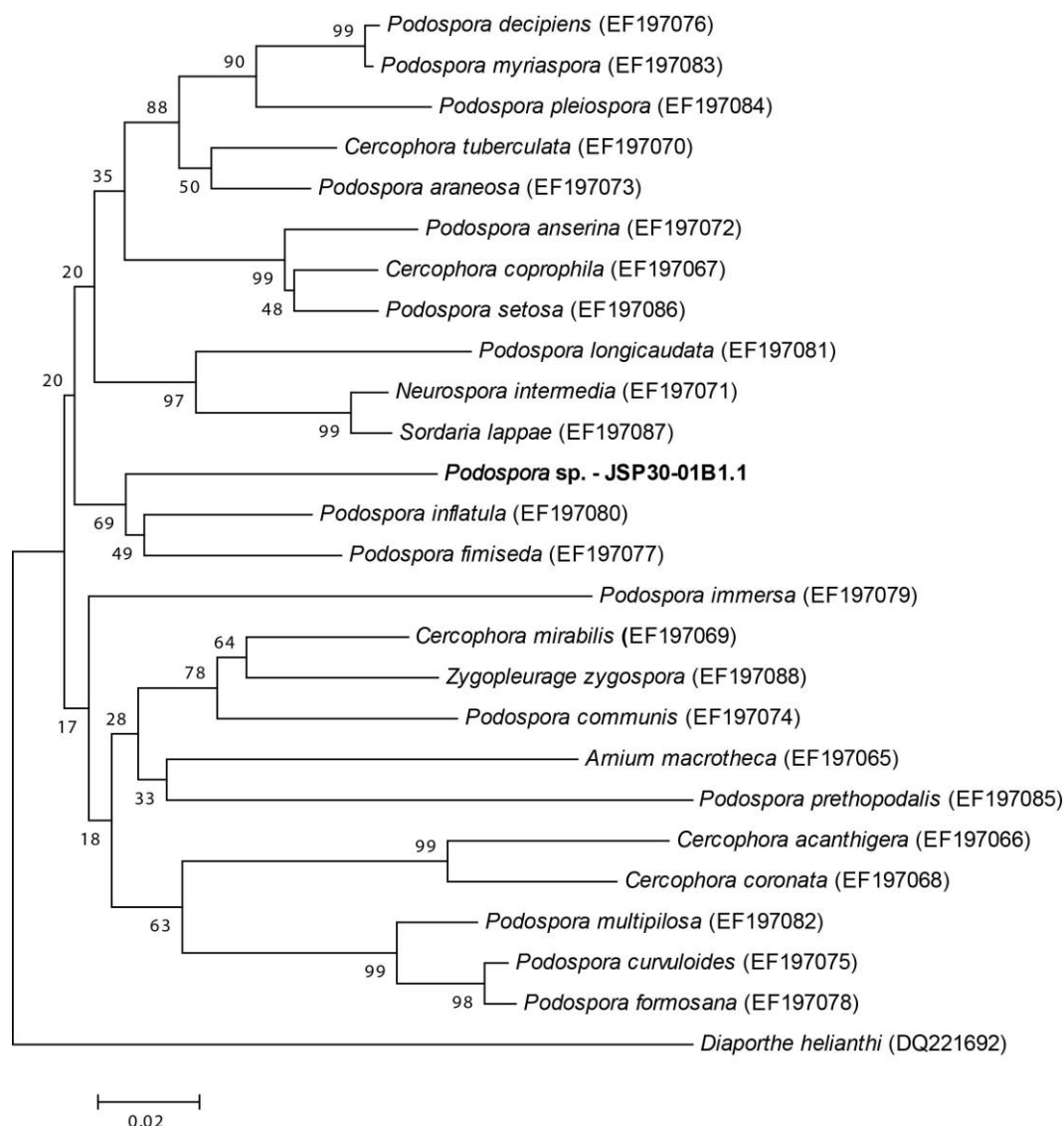
Dictyochaeta simplex foi utilizado como grupo externo. JSP 30-03A2.2 e JSP 30-03B3.1 foram isolados do ninho JSP 130130-03 de *Atta sexdens rubropilosa*; JSP 30-04C5.2, JSP 30-04B2.4, JSP 30-04B4.2 e JSP 30-04B4.3 foram isolados do ninho JSP 130130-04 de *Atta sexdens rubropilosa*, todos coletados no dia 30/01/2013. Árvore baseada no artigo: Réblová e Winka (2000). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.5 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS do gênero *Chloridium* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em **negrito** correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.



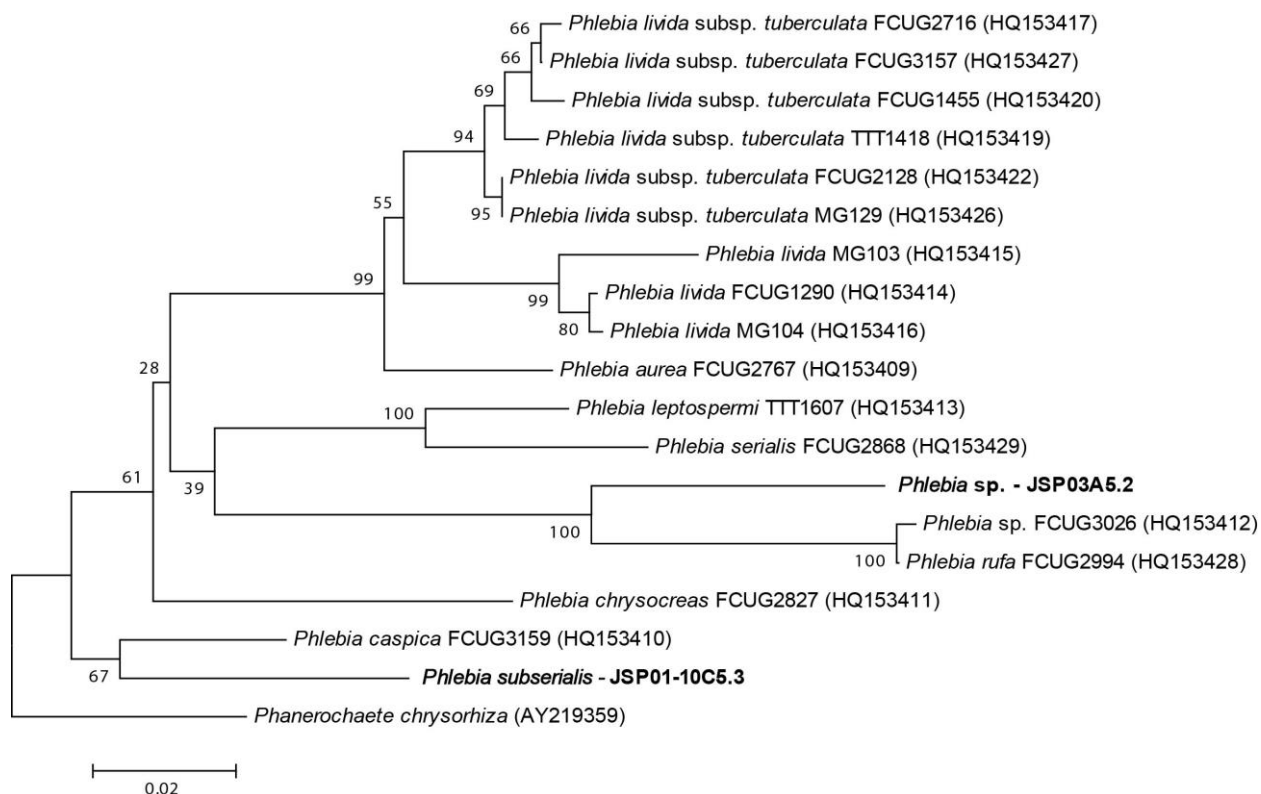
Sclerotinia sclerotiorum foi utilizado como grupo externo. JSP 30-04B1.3 foi isolado do ninho JSP 130130-04 de *Atta sexdens rubropilosa*, coletado no dia 30/01/2013. Árvore baseada no artigo: Shrestha et al. (2011). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.6 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS do gênero *Podospora* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em negrito correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.



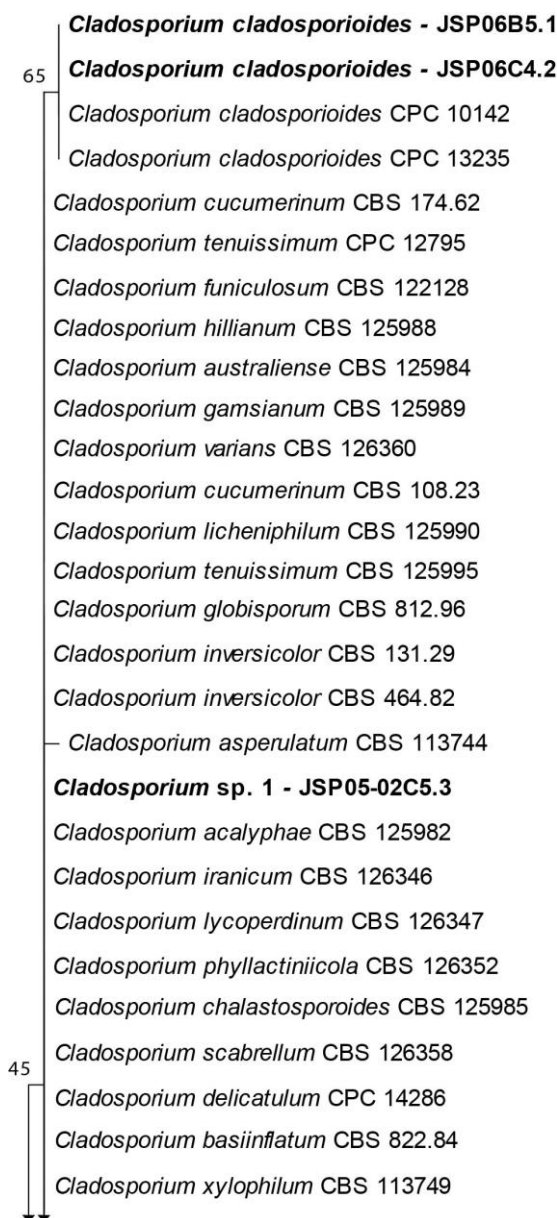
Diaporthe helianthi foi utilizado como grupo externo. JSP 30-01B1.1 foi isolado do ninho JSP 130130-01 de *Atta sexdens rubropilosa*, coletado no dia 30/01/2013. Árvore baseada no artigo: Chang, Kao e Wang. (2010). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.7 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS do gênero *Phlebia* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em **negrito** correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.



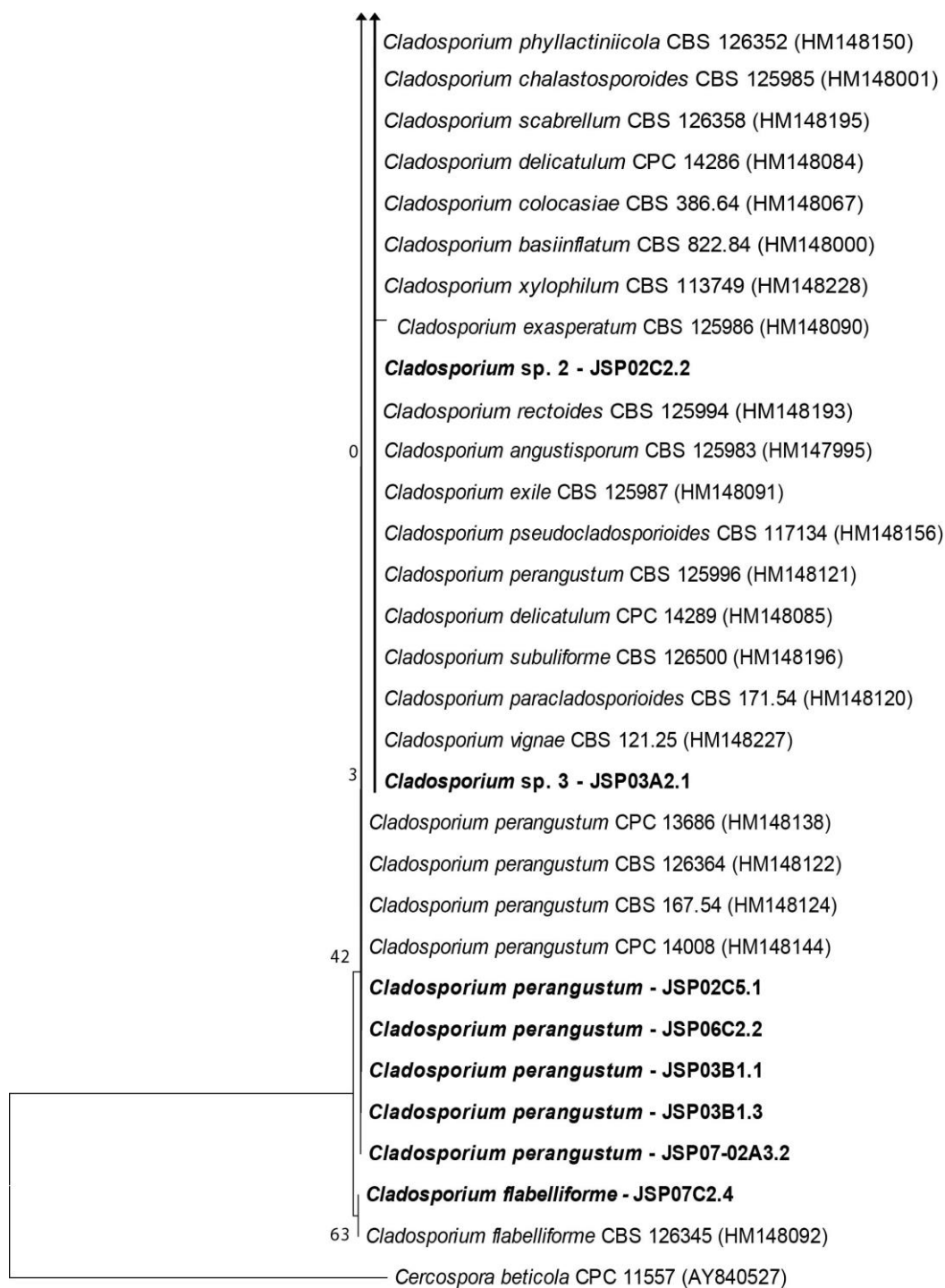
Phanerochaete chrysorhiza foi utilizado como grupo externo. JSP 01-10C5.3 foi isolado do ninho JSP 120410-01 de *Atta capiguara*, coletado no dia 10/04/2012. Árvore baseada nos artigos: Parmasto e Hallenberg. (2000) e Ghobad-Nejhad e Hallenberg (2012). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.8 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS do gênero *Cladosporium* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em negrito correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.

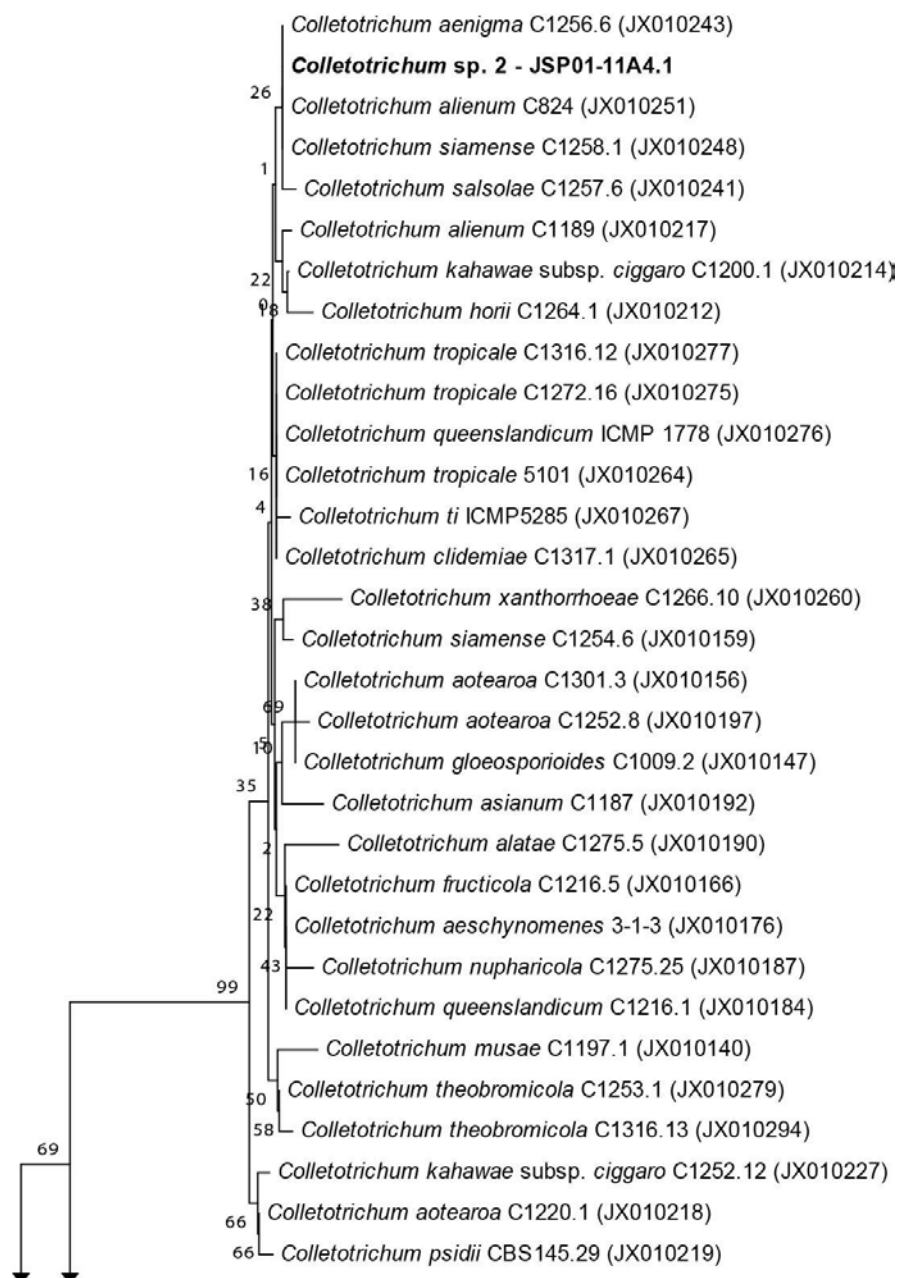


Cercospora bertiicola foi utilizado como grupo externo. JSP 06B5.1, JSP06C4.2 e JSP06C2.2 foram isolados do ninho JSP 120410-06 de *Atta sexdens rubropilosa*; JSP 02C2.2 e JSP 02C5.1 foram isolados do ninho JSP 120410-02 de *Atta capiguara*; JSP 03A2.1, JSP 03B1.1 e JSP 03B1.3 foram isolados do ninho JSP 120410-03 de *Atta capiguara*; JSP 07C2.4 foi isolado do ninho JSP120410-07 de *Atta sexdens rubropilosa*, todos coletado no dia 10/04/2012; JSP 05-02C5.3 foi isolado do ninho JSP 130305-02 de *Atta capiguara*, coletado no dia 05/03/2013; JSP 07-02A3.2 foi isolado do ninho JSP 130307-02 de *Atta capiguara*, coletado no dia 07/03/2013. Árvore baseada no artigo: Bensch et al. (2010). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.8 (continuação)

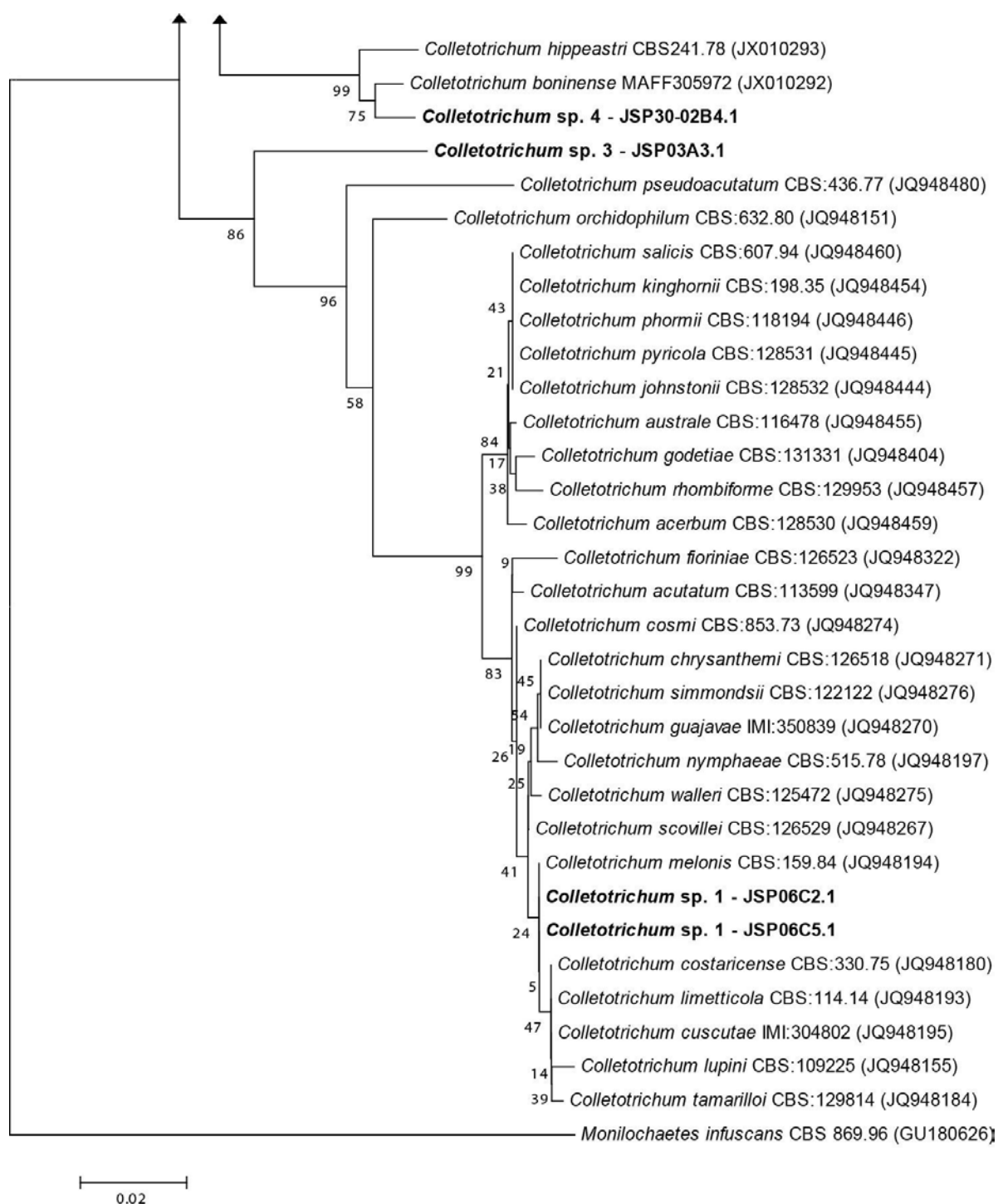


Apêndice C.9 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS do gênero *Colletotrichum* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em negrito correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.

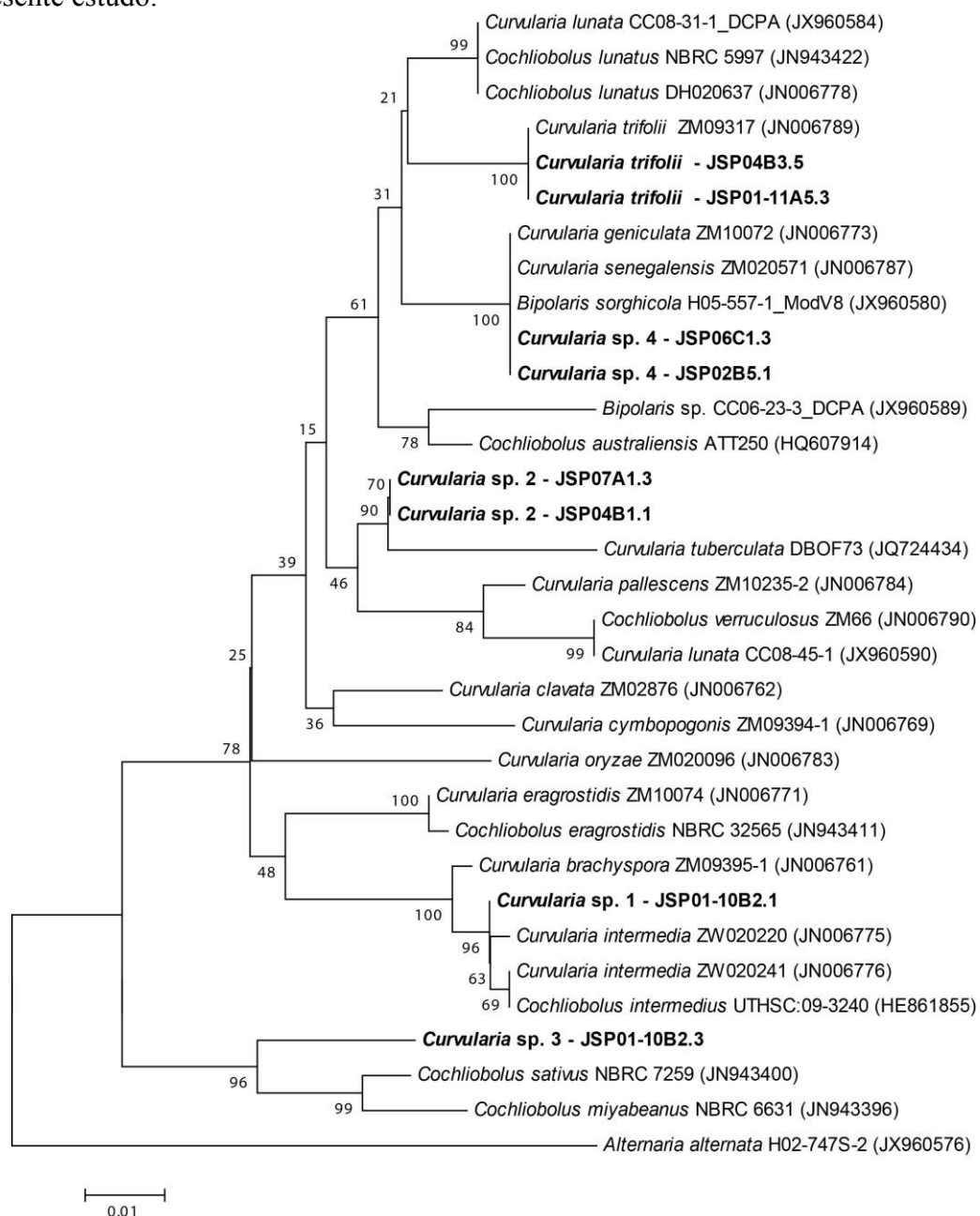


Molinochaetes infuscans foi utilizado como grupo externo. JSP 01-11A4.1 foi isolado do ninho JSP 120411-01 de *Atta sexdens rubropilosa*, coletado no dia 11/04/2012; JSP 03A3.1 foi isolado do ninho JSP 120410-03 de *Atta capiguara*; JSP 06C2.1 e JSP 06C5.1 foram isolados do ninho JSP 120410-06 de *Atta sexdens rubropilosa*, coletados no dia 10/04/2012; JSP 30-02B4.1 foi isolado do ninho JSP 130130-02 de *Atta sexdens rubropilosa*, coletado no dia 30/01/2013. Árvore baseada nos artigos: Cannon et al. (2010) e Weir, Johnston e Damm (2012). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.9 (continuação)

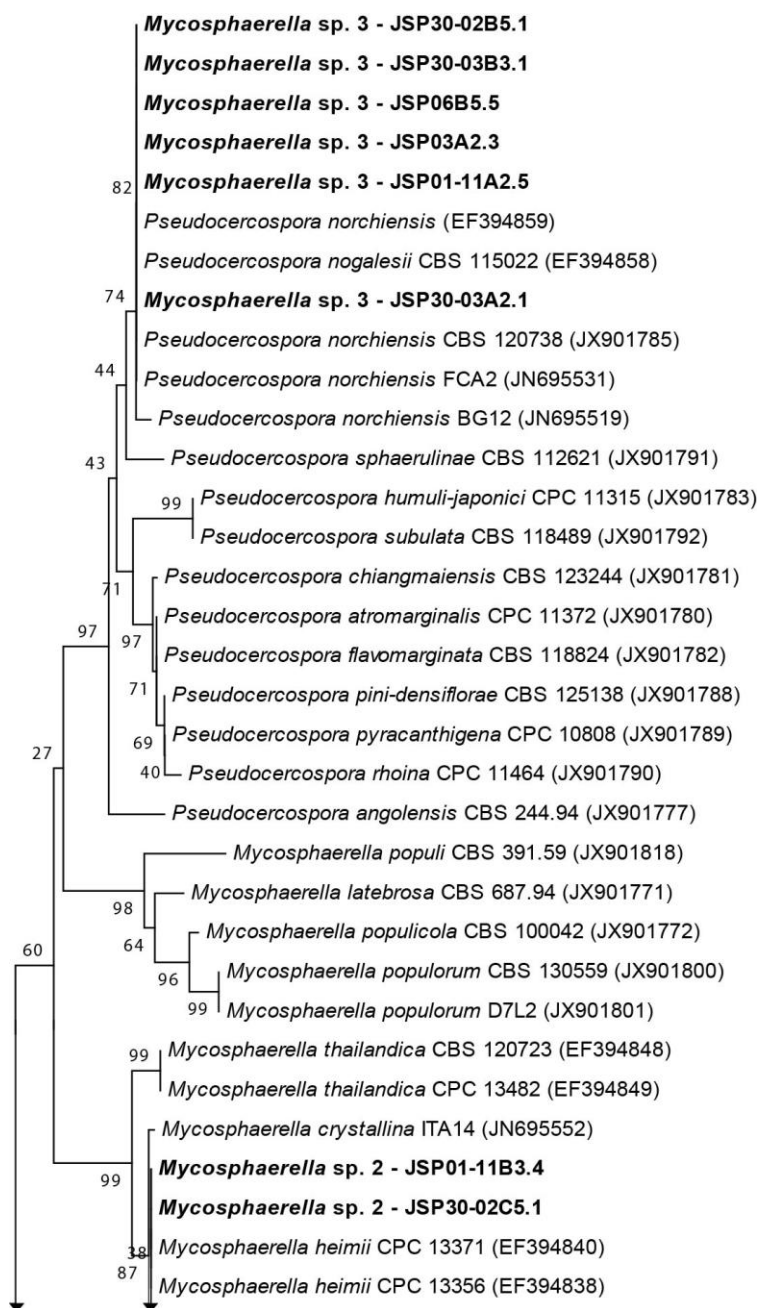


Apêndice C.10 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS do gênero *Curvularia* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em **negrito** correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.



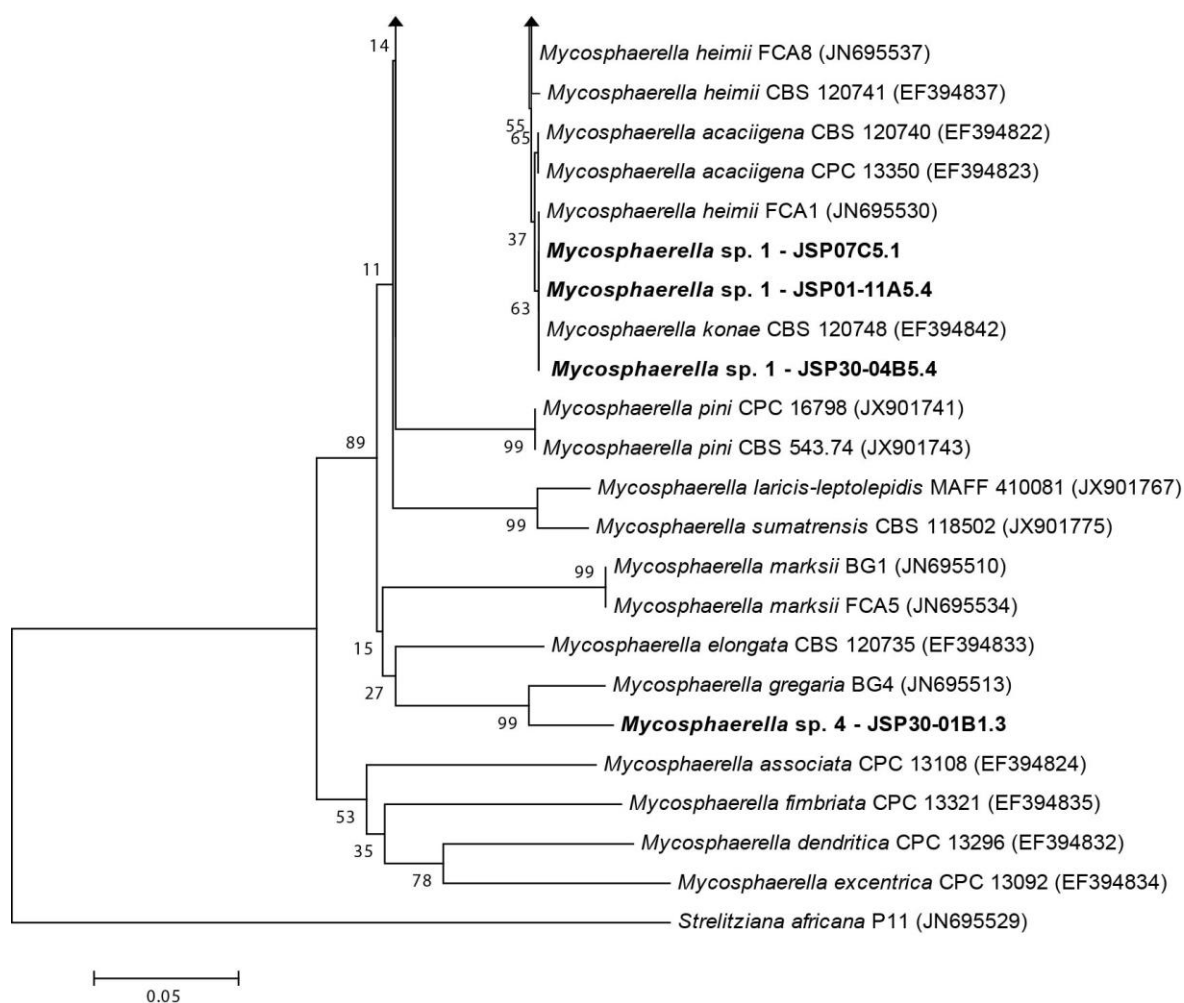
Alternaria alternata foi utilizado como grupo externo. JSP 01-10B2.1 e JSP 01-10B2.3 foram isolados do ninho JSP 120410-01 de *Atta capiguara*, coletado no dia 10/04/2012; JSP 02B5.1 Foi isolado do ninho 120410-02 de *Atta capiguara*; JSP 04B1.1 e JSP 04B3.5 foram isolados do ninho JSP 120410-04 de *Atta capiguara*; JSP 06C1.3 foi isolado do ninho JSP 120410-06 de *Atta sexdens rubropilosa*; JSP 07A1.3 foi isolado do ninho 120410-07 de *Atta sexdens rubropilosa*, todos coletados no dia 10/04/2012; JSP 01-11A5.3 foi isolado do ninho JSP 120411-01 de *Atta sexdens rubropilosa*, coletado no dia 11/04/2012. Árvore baseada no artigo: Funnell-Harris, Prom e Pedersen (2013). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.11 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS do gênero *Mycosphaerella* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em **negrito** correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.

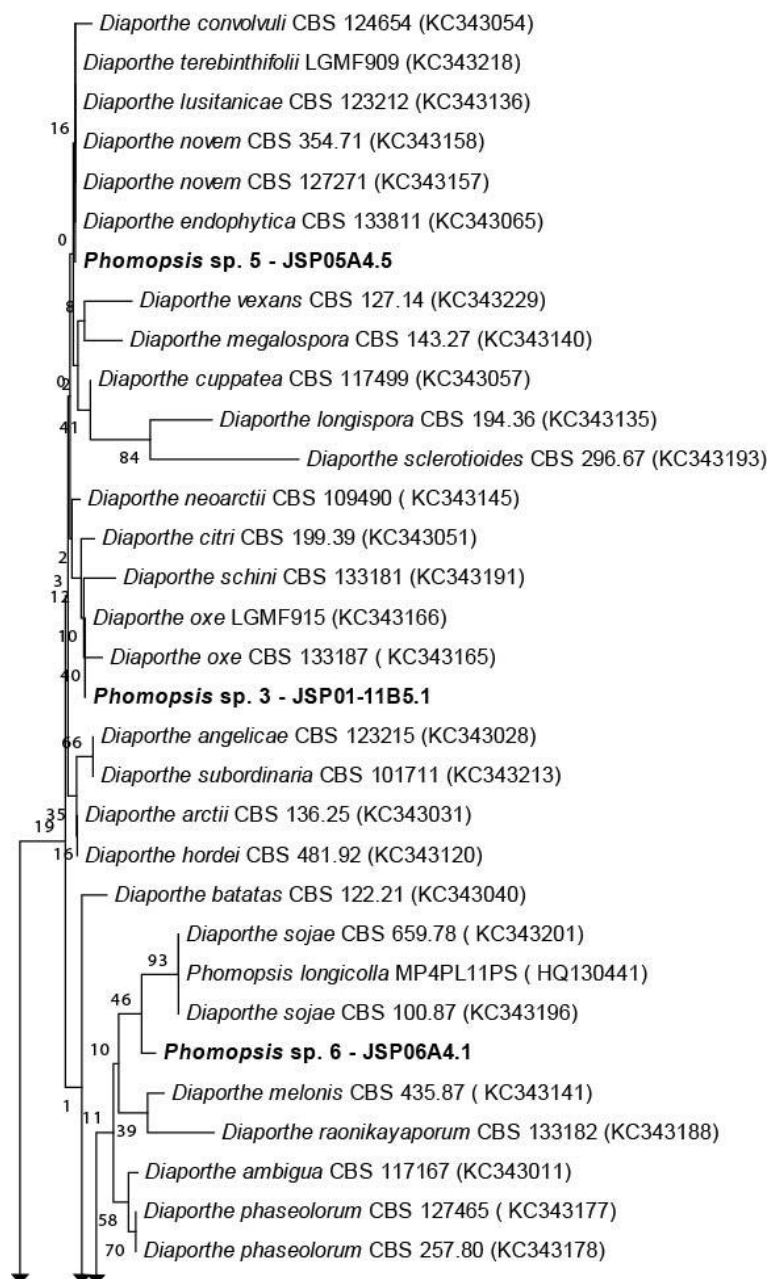


Strelitziana africana foi utilizado como grupo externo. JSP 03A2.3 foi isolado do ninho JSP 120410-03 de *Atta capiguara*; JSP 06B5.5 e JSP 07C5.1 foram isolados dos ninhos JSP 120410-06 e 120410-07, respectivamente, de *Atta sexdens rubropilosa*, todos coletados no dia 10/04/2012; JSP 01-11A2.5, JSP 01-11B3.4 e JSP 01-11A5.4 foram isolados do ninho JSP 120411-01, coletado no dia 11/04/201; JSP 30-01B1.3, JSP 30-02B5.1, JSP 30-02C5.1, JSP 30-03B3.1, JSP 30-03A2.1 e JSP 30-04B5.4 foram isolados dos ninhos JSP 130130-01, JSP 130130-02, JSP 130130-02, JSP 130130-03 e JSP 130130-04, respectivamente, 30/01/2013. Árvore baseada nos artigos: Crous et al. (2007b), Quaedvlieg et al. (2012) e Passador et al. (2012). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.11 (continuação)

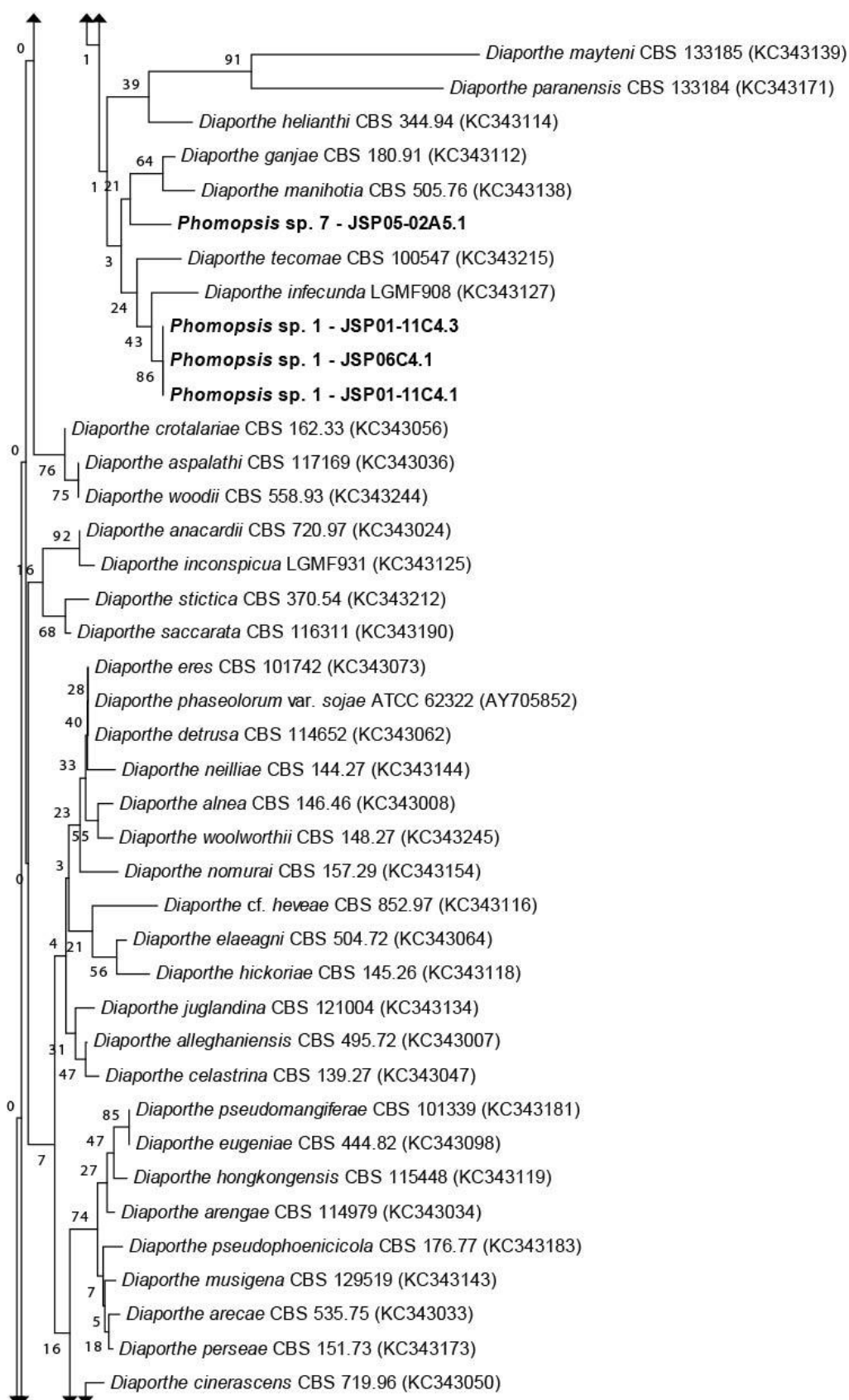


Apêndice C.12 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS do gênero *Diaporthe* e relacionados. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em negrito correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.

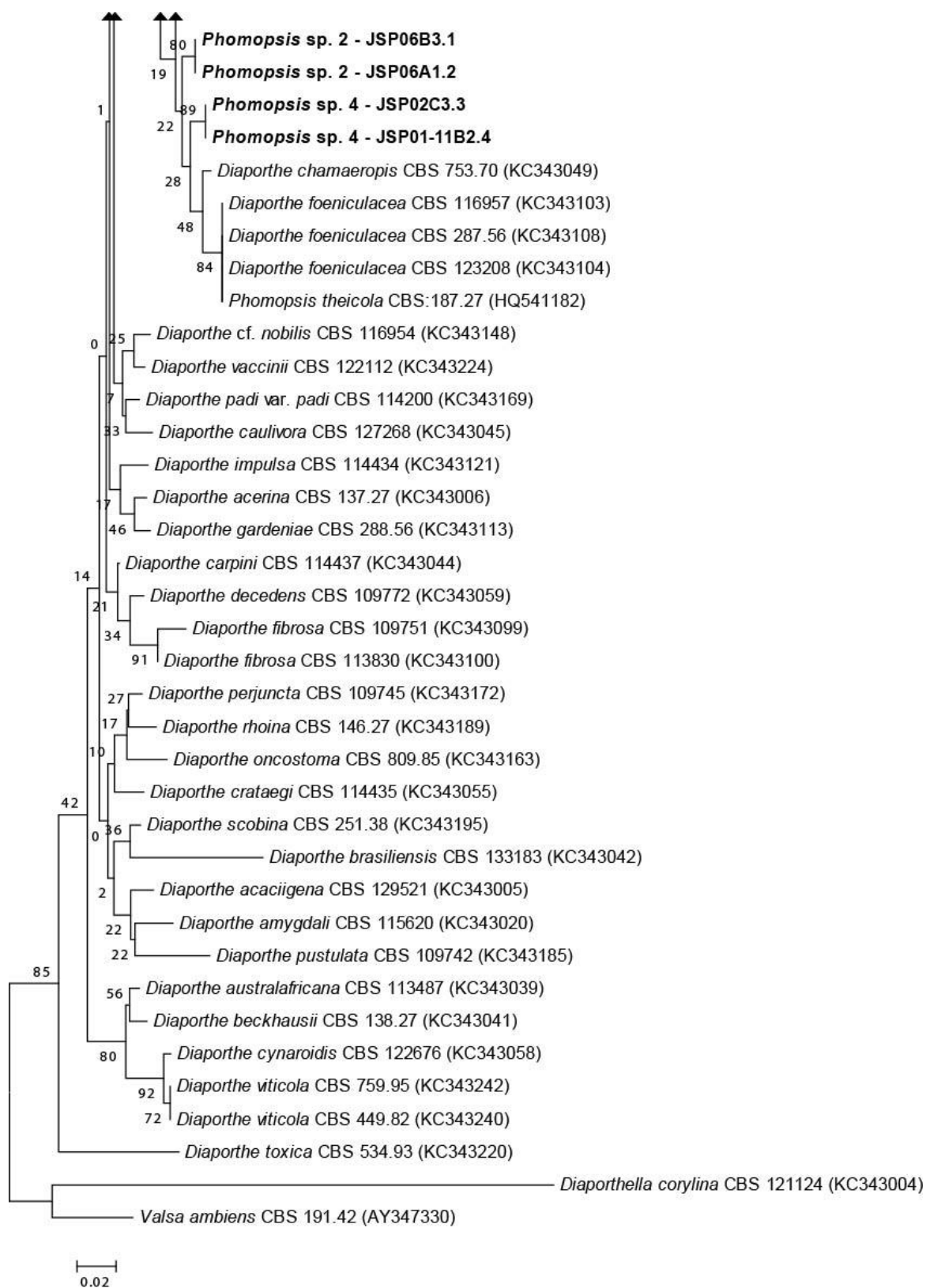


Diaporthella corylina e *Valsa ambiens* foi utilizado como grupo externo. JSP 02C3.3 foi isolado dos ninhos 120410-02 de *Atta capiguara*; JSP 05A4.5, JSP06A4.1, JSP 06C4.1, JSP 06B3.1 e JSP 06A1.2 foram isolados dos ninhos JSP 120410-05 e JSP 120410-06, respectivamente, de *Atta sexdens rubropilosa*; JSP 01-11B5.1, JSP 01-11C4.3, JSP 01-11C4.1, JSP 01-11B2.4 foram isolados do ninho JSP 120411-01 de *Atta sexdens rubropilosa*; JSP 05-02A5.1 foi isolado do ninho JSP 130305-02 de *Atta capiguara*, coletado no dia 05/03/2013. Árvore baseada nos artigos: Udayanga et al. (2012) e Gomes et al. (2013). Fonte: Elaborada pela autora.

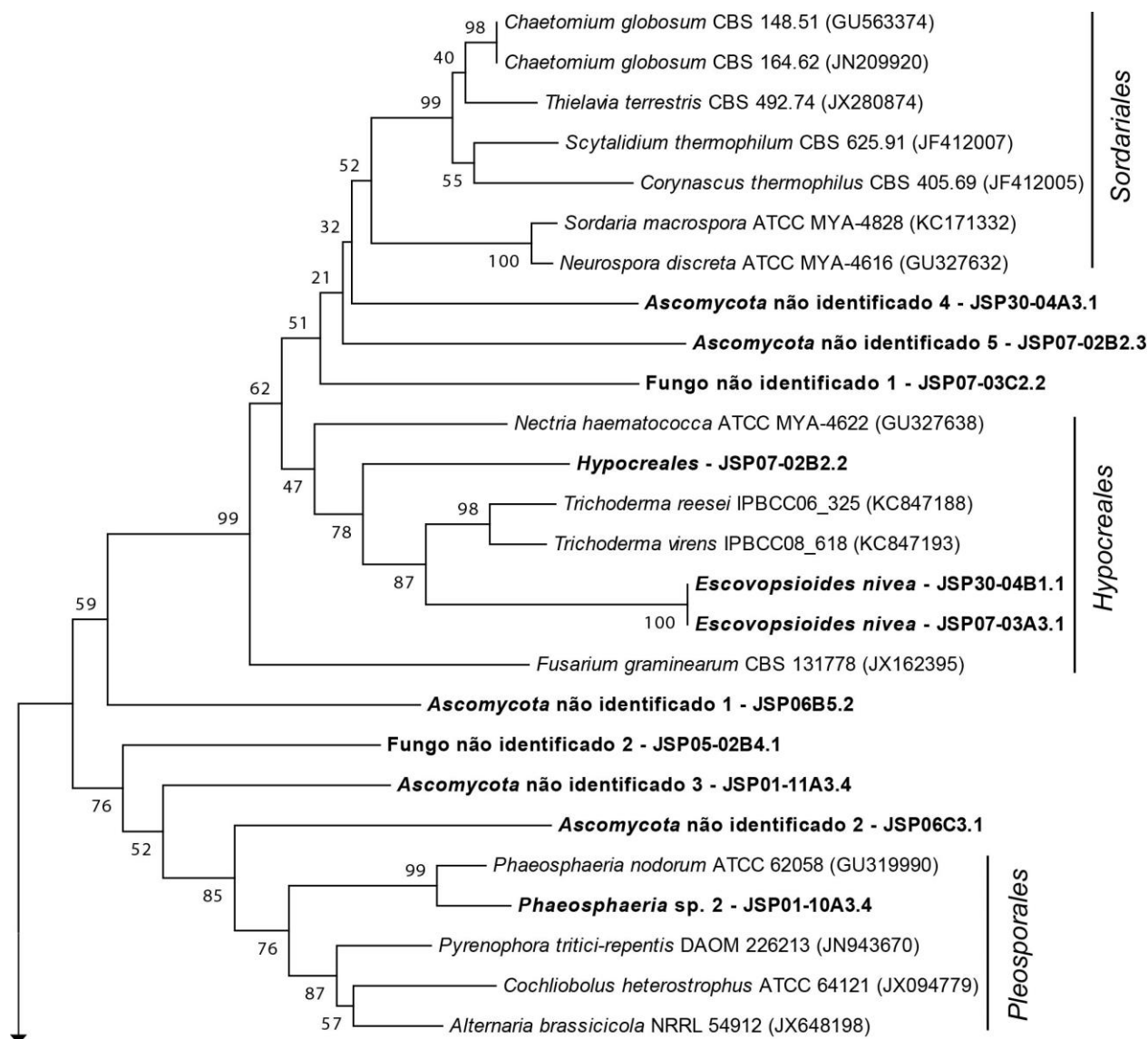
Apêndice C.12 (continuação)



Apêndice C.12 (continuação)



Apêndice C.13 – Árvore filogenética inferida a partir de sequências da região ITS das famílias *Sordariales*, *Hypocreales*, *Pleosporales*, *Agaricales* e *Polyporales*. A árvore foi reconstruída utilizando o algoritmo de *neighbor-joining* com modelo de substituição nucleotídica de Kimura 2-parâmetros. Números nos ramos representam valores de suporte de *bootstrap* (n= 1000 pseudoréplicas). O nome do fungo é seguido pelo código de acesso da cultura e do número de acesso da sequência do GenBank (em parênteses). Códigos em negrito correspondem aos isolados de fungos obtidos no presente estudo.



JSP 01-10A3.4, JSP 02A1.1, JSP03C1.2 e JSP 04C4.2 foram isolados dos ninhos JSP 120410-01, JSP 120410-02, JSP 120410-03 e JSP 120410-04, respectivamente, de *Atta capiguara*; JSP 06B5.2, JSP 06C3.1, foram isolado do ninho JSP 120410-06 de *Atta sexdens rubropilosa*, todos coletado no dia 11/04/2012; JSP 01-11A3.4 e JSP 01-11B3.2 foram isolados dos ninhos JSP 120411-01 de *Atta sexdens rubropilosa*, coletado no dia 11/04/2012; JSP 30-01C1.3, JSP 30-04A3.2, JSP 30-04B1.1 e JSP30-04A3.1 foram isolados dos ninhos JSP 130130-01 e JSP 130130-04, respectivamente, de *Atta sexdens rubropilosa*, coletos no dia 30/01/2013; JSP 05-02B4.1 foi isolado do ninhos JSP 130305-02 de *Atta capiguara*, coletado no dia 05/03/2013; JSP 07-02B2.3, JSP 07-02B2.2, JSP 07-03C2.2, JSP 07-03A3.1 e JSP 07-03B5.1 foram isolados dos ninhos 130107-02 e JSP 130307-03, respectivamente, de *Atta capiguara*, coletados no dia 07/03/2013. Árvore baseada no artigo: Morgenstern et al. (2012). Fonte: Elaborada pela autora.

Apêndice C.13 (continuação)

