

Relații parazitice între ciuperca *Rickia wasmannii*  
(Ascomycota: Laboulbeniales) și furnica *Myrmica  
scabrinodis*: modificări comportamentale și  
mecanisme de apărare



Graph: Natalia Timuș

DOCTORAND: ENIKŐ CSATA

Îndrumător științific: prof. dr ELENA RÁKOSY-TICAN

Școala Doctorală Biologie Integrativă  
Facultatea de Biologie și Geologie  
Universitatea Babeș-Bolyai  
Cluj-Napoca, Romania  
2015

## Contents

I. Introduction .....	2
1.1. The importance of parasites in the ecosystem .....	3
1.2. Host–parasite interactions .....	4
1.3. Bizarre interactions in the world of invertebrates .....	5
1.4. Ants and their parasites .....	6
1.5. Defense mechanism: individual and social strategies .....	8
1.6. Breaking the code .....	10
1.7. Ants and parasitic fungi .....	12
II. Aims of study .....	14
III. Myrmecopathogenic fungi in Romania .....	17
IV. Study species and sites	
4.1. Study species .....	33
4.1.1. The minute mystery: <i>Rickia wasmannii</i> Cavara, 1899 .....	33
4.1.2. The most common ant host in Romania: <i>Myrmica scabrinodis</i> .....	37
4.2. Study sites .....	39
4.2.1. Luna de Jos (Cluj county) and Borșa Cățun (Cluj county) .....	39
4.2.2. Fânațele Clujului (Cluj County) .....	41
V. Results .....	43
5.1. Distribution of the myrmecoparasitic fungus <i>Rickia wasmannii</i> (Ascomycota: Laboulbeniales) across colonies, individuals, and body parts of <i>Myrmica scabrinodis</i> .....	44
5.2. Effects of the ectoparasitic fungus <i>Rickia wasmannii</i> on its ant host <i>Myrmica scabrinodis</i> : changes in host mortality and grooming behavior.....	63
5.3. Lockpick to the society: fungal infection facilitates the intrusion of strangers into ant colonies .....	77
5.4. The effects of age and fungal infection on the locomotory behavior of the ant <i>Myrmica scabrinodis</i> .....	93
VI. General conclusions .....	113
VII. Acknowledgments.....	117
VIII. References.....	121
IX. List of scientific publications .....	155
9.1. List of scientific publications from the topic of the thesis .....	157
9.2. List of scientific publicatiios instead of the thesis .....	158

## Conținut

### Conținutul tezei de doctorat

1. Furnicile și paraziții lor.....	4
2. Obiectivele studiului.....	5
3. Specia studiată.....	5
3.1. Misterul minutului: <i>Rickia wasmannii</i> Cavara, 1899 .....	7
4. Zonele studiate .....	8
3. Rezultate .....	10
3.1. Distribuția ciupercii mirmecoparazitică <i>Rickia wasmannii</i> (Ascomycota: Laboulbeniales) .....	10
5.2. Efectul ciupercii <i>R. wasmannii</i> asupra șanselor de supraviețuire a gazdei și al comportamentului allo și auto-curățării .....	12
5.3. Efectul ciupercilor asupra societății de furnici: <i>R. wasmannii</i> facilitează pătrunderea străinilor în coloniile de furnici.....	15
5.4. Efectele de vârstă și infecții fungice asupra comportamentului locomotorice ale <i>Myrmica scabrinodis</i> .....	17
6. Concluzii.....	19

**Cuvinte cheie:** *Rickia wasmannii*, *Myrmica scabrinodis*, relația gazdă parazit, ciuperca, modificări comportamentale

## 1. Furnicile și paraziții lor

Patogenii, paraziții și gazdele lor sunt modele excelente pentru studierea coevoluției. Ele sunt strâns legate dar interesul lor evolutiv diferă. În cazul patogenilor selecția se întâmplă prin exploatarea cât mai eficace a gazdei, iar în cazul gazdei prin excluderea agentului patogen (Bush și colab., 2001). Schimbările comportamentale sunt bine cunoscute dintr-o arie largă de interacțiuni gazdă/paraziți (Hindsbo, 1972; Curtis, 1987; Combes, 1991; Lafferty și Morris, 1996; Poulin, 1998; Poulin și Thomas, 1999; Berdoy și colab., 2000; Moore, 2002).

Cu toate acestea, nu doar organisme unitare pot avea paraziți sau schimbare de comportament indus de paraziți, ci și comportamentul superorganismelor, ca de exemplu societățile de insecte eusociale, poate fi afectat de paraziți (Hölldobler and Wilson, 1990, 2009). Furnicile sunt frecvent vizate de paraziți, iar în unele cazuri acești paraziți induc schimbări în istoria vieții, în fiziologia și în comportamentul gazdelor (Schmid-Hempel, 1998). Viața socială a furnicilor implică o frecvență mare de contacte între indivizii aceleiași cuib, crescând riscul de răspândire a oricărui agent patogen sau parazit printre membrii coloniei. În plus, existența unor generații suprapuse permite transmiterea verticală între generații și persistența paraziților și a agenților patogeni (Hamilton, 1987; Schmid-Hempel, 1998; Baer și Schmid-Hempel, 1999).

Există o mulțime de organisme diferite, care parazitează furnici, cum ar fi endosimbiontul intracelular *Wolbachia* spp. (Keller și colab., 2001; Dedeine și colab., 2005), *Dicrocoelium* spp. (Spindler și colab., 1986; Manga-González și colab., 2001), nematode (Poinar și Yanoviak, 2008; Csősz and Majoros, 2009), acarieni (Bruce și LeCato, 1980), larve de fluturi Maculinea (Witek și colab., 2010), dipterele *Microdon* spp. (Witek și colab., 2014), și alte fungi (Pontoppidan și colab., 2009; Espadaler și Santamaria, 2012; Haelewaters și colab., 2012; Csata și colab., 2013; Csata și colab., 2014).

Pentru a se apăra, furnicile au dezvoltat o varietate mare de adaptări împotriva paraziților, inclusiv răspunsuri comportamentale, biochimice și imunologice pentru a reduce virulența și transmiterea agenților entomopatogeni. Mai precis, împotriva fungilor din colonie, au dezvoltat producția de antibiotice prin metapleură și alte glande, auto- și allocurățare,

curățarea cuibului, evitarea patogenilor, izolarea parazitului (încapsulare socială), îndepărtarea indivizilor infectați, managementul deșeurilor, și uneori, chiar mutarea întregi colonii (Howard și Tschinkel, 1976; Schmid-Hempel, 1998; Hart și Ratnieks, 2002; Soeprono și Rust, 2004, Boomsma și colab., 2005; Roy și colab., 2006; Schlüns și Crozier, 2009; Wilson-Rich și colab., 2009; Konrad și colab., 2012; Ortiz- Urquiza și Keyhani, 2013; Otti și colab., 2014).

Dintre organismele care parazitează furnici, ciupercile sunt una dintre cele mai diverse grupuri, în ceea ce privește atât sistematica cât și stilul de viață (Weir și Blackwell, 2005; Roy și colab., 2006). Ciupercile afișează o varietate largă de interacțiuni cu furnicile, începând de la una tranzitorie, trecătoare, până la o asociere obligatorie. Unele sunt cunoscute a fi letale pentru gazdă, în timp ce altele sunt considerate a fi aproape neutre, iar în multe cazuri pot fi benefice pentru insectă sau ciupercă, sau pentru ambele (Vega și colab., 2009; Blackwell, 2010). Cercetare fundamentală s-a concentrat pe multe aspecte teoretice și practice ale biologiei, fiziologiei, ecologiei și epidemiologiei acestora, dar în principal din punctul de vedere al potențialului lor în influențarea populației gazdă. Recent, Espadaler și Santamaria (2012) au oferit un studiu cuprinzător despre ciupercile myrmecoparazite prezente în Europa. În România au existat puține studii despre ciupercile myrmicopatogene (Pașcovici, 1983).

## **2. Obiectivele studiului**

În cadrul tezei mele voi prezenta rezumatul cunoștințelor actuale legate de ciupercile myrmicopatogene din România și mă voi concentra în mod special asupra distribuției, prevalenței și efectelor speciei *Rickia wasmannii*, o ciuperca mirmecoparazită din ordinul Laboulbeniales. În acest studiu am investigat relația gazdă-parazit, dintre ciuperca ectoparazită *Rickia wasmannii* și furnica gazdă a acesteia, *Myrmica scabrinodis*. Obiectivele acestei teze au fost elaborarea modului în care infecția cu această ciupercă poate afecta comportamentul furnicilor gazdă.

## **3. Specia studiată**

În Europa există doar câteva specii de ciupercă care parazitează furnici, dintre care majoritatea sunt insuficient cunoscute. Datele despre filogenia, distribuția geografică, specificitatea gazdei și despre efectul lor asupra gazdei sunt limitate (Bezděčka și Bezděčková, 2011; Lapeva-Gjonova și Santamaria, 2011; Espadaler și Santamaria, 2012; Csata și colab., 2013.; Báthori și colab., 2014; Haelewaters și colab., 2015). În România în

prezent cunoaștem cinci specii de fungi myrmecopatogenice: *Aegeritella superficialis*, *Myrmicinosporidium durum*, *Pandora myrmecophaga*, *Laboulbenia camponoti* and *Rickia wasmannii* (Espadaler și Santamaria, 2012; Csata și colab., 2013; Báthori și colab., 2014).

*Pandora myrmecophaga* (Turian et Wuest) S. Keller (2005)

*P. myrmecophaga* face parte din ordinul Entomophthoromycotina. Ciuperca produce spori infecțioși, care pătrund cuticula gazdei sale și ucigându-l. Miceliul crește din cap, gaster, picioare și antenele furnicilor. Ciuperca este larg răspândită în Europa, iar din România este raportată pentru prima dată. A fost identificată pe *Formica exsecta* lângă mlaștina protejată După Luncă, din Voșlăbeni, Harghita (Fig. 1).

*Aegeritella superficialis* Bałazy et J. Wiśn. (1974)

*A. superficialis* este unul dintre cele cinci specii cunoscute *Aegeritella* (Pezizomycotina) din încregătura Ascomycetes. Toate speciile din *Aegeritella* cresc pe suprafața cuticulară a lucrătorilor speciilor de *Formica* (Espadaler și Wiśniewski, 1987; Espadaler și Monteserín, 2003; Espadaler și Santamaria, 2012). Pe baza datelor disponibile, poate fi considerată specia cea mai răspândită în România. Pascovici (1983) a raportat această specie de pe *Formica polycтена* Foerster, 1850, *F. pratensis* Retzius, 1783 and *F. rufa* Linnaeus, 1761 din nouă localități (Fig. 1).

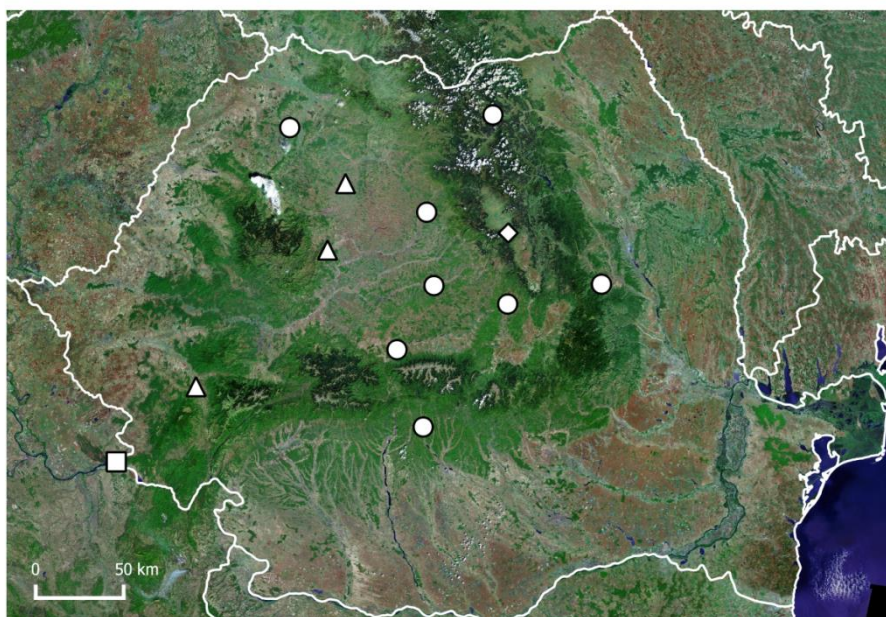
*Myrmicinosporidium durum* Hölldobler, 1933

Poziția sa filogenetică corectă este încă necunoscută clar (Sanchez-Peña și colab., 1993; Espadaler și Santamaria, 2012), dar face parte din ordinul Entomophthoromycotina (fostul ordin Entomophorales). Furnicile infectate sunt ușor de recunoscut pe baza aspectelor vizibile: corpul lor conține numeroase capsule întunecate lentiforme (circa 30-50μm în diametru), iar aceste spore cu perete gros pot fi observate cu ușurință prin cuticulă, la microscop (Sanchez -Peña și colab., 1993;. Buschinger și colab., 2004;. Pereira, 2004, Gonçalves și colab., 2012). Este larg răspândită în Europa. În România a fost descoperită recent la două specii diferite din trei locații diferite (Csösz et al., 2012) (Fig. 1).

*Laboulbenia camponoti* S. W. T. Batra 1963

Această specie este un membru al încregăturii Ascomycota, din ordinul Laboulbeniales. Sunt paraziți externi al artropodelor, în special al insectelor (Tavares, 1985;

Santamaria, 1998). Este răspândită din Asia până în Europa. În România Báthori și colab., (2014) au raportat-o de la Baziaș (Fig. 1).



**Fig. 1** Arealul de răspândire al *Aegeritella superficialis* (punct alb), *Myrmicinosporidium durum* (triunghi alb), *Pandora myrmecophaga* (romb alb) and *Laboulbenia camponoti* (pătrat alb), cunoscut până în prezent.

O altă ciupercă din ordinul Laboulbeniales, cunoscută din România este *Rickia wasmannii*, larg răspândită în Europa. Această ciupercă și interacțiunile ei cu gazda *Myrmica scabrinodis* sunt prezentate în această teză.

### 3.1. Misterul minutului: *Rickia wasmannii* Cavara, 1899

Ciuperca *Rickia wasmannii* face parte din ordinul monofiletic Laboulbeniales, încrengătura Ascomycetes. Aproximativ 1500 de specii de Laboulbeniales sunt cunoscute, toate fiind ectoparaziți ai artropodelor. Aceste specii parazitează mai ales specii de insecte din ordinele Blattodea, Coleoptera, Dermaptera, Diptera, Heteroptera, Hymenoptera, Isoptera, Mallophaga, Orthoptera, Thysanoptera și specii din alte grupe de artropode ca Diplopoda și Arachnida. Ciuperca este o specie extrem de specifică ca și apariție (este setiformă, conferă gazdei un aspect păros neobișnuit, Fig. 2).



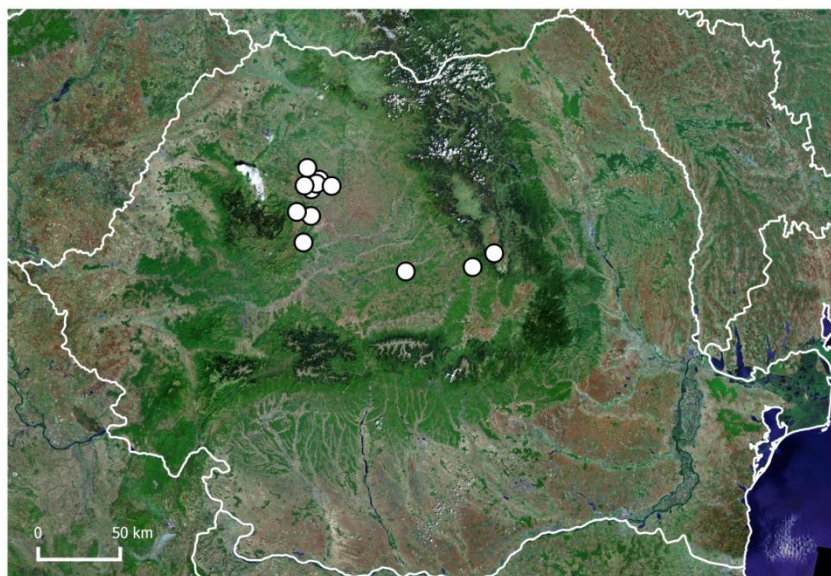
**Fig. 2.** Lucrătoare *M. scabrinodis* infectată cu *R. wasmannii* (fotografie SEM făcută cu JSM-5510 de către Ciprian Mihali).

Deși *R. wasmannii* este cunoscută din multe țări, datele nu sunt deloc frecvente, ba chiar specia este considerată o raritate (Espadaler și Santamaria, 2012; Haelewaters, 2012, Csata și colab., 2013, 2014; Haelewaters *et. al.*, 2015; Santamaria și Espadaler, 2015; Báthori și colab., 2014, 2015: Fig. 3). Din regiunea noastră au fost publicate 2 populații infestate, iar noi am descoperit încă 10 populații infestate (Fig. 3). Efectul ciupercilor Laboulbeniales asupra gazdelor lor e puțin cunoscut, au fost considerate ca având un efect neutru (Tartally și colab., 2007; García și colab., 2010; Lapeva-Gjonova și Santamaria, 2011; Bezděčka și Bezděčková, 2011; Espadaler și Santamaria, 2012).

#### 4. Zonele studiate

Colectarea speciei studiate s-a realizat în trei locații din zona județului Cluj, România (Luna de Jos, Fânațele Clujului and Borșa Cătun). Acestea sunt pășuni cu expunere nordică alcătuită dintr-un mozaic de zone umede și uscate. Siturile Luna de Jos și Borșa Cătun sunt în cea mai mare parte acoperite de pășuni mesoxerice (dominate de *Festuca rupicola*, *Brachypodium pinnatum*, *Agrostis tenuis*, *Poa angustifolia*), bogate în specii (ex. *Dorycnium herbaceum*, *Filipendula vulgaris*, *Salvia pratensis*). Celălalt site de la Fânațele Clujului este o pășune semi-uscată, bazofilă, dominate de *Festuca rupicola*, *Brachypodium pinnatum*, *Elymus hispidus*, *Agrostis capillaris*, *Carex michelii*, și cu o reprezentare mare de *Filipendula vulgaris*, *Adonis vernalis*, *Salvia pratensis*, *Clematis recta*, *Plantago media*, *Lotus corniculatus* and *Trifolium montanum*.



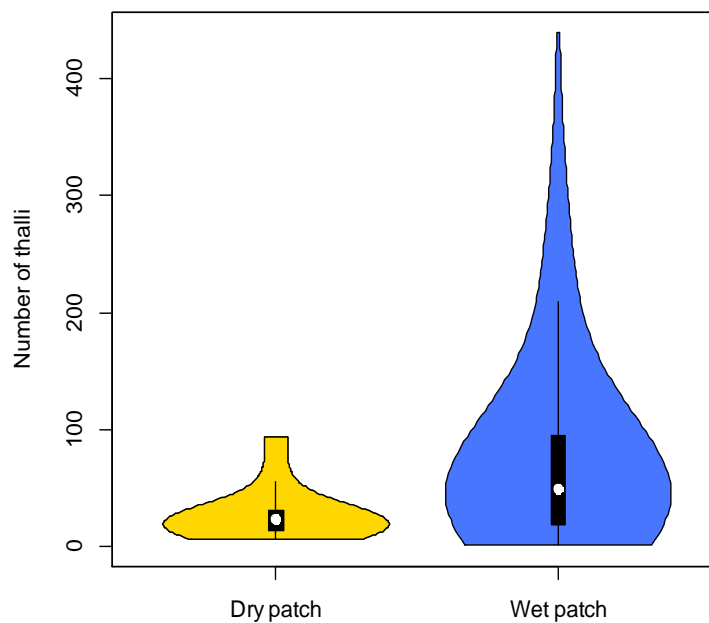


**Fig. 3.** Distribuția cunoscută în prezent în România a ciupercii ectoparazite *Rickia wasmannii* (cele 12 populații).

## 5. Rezultate

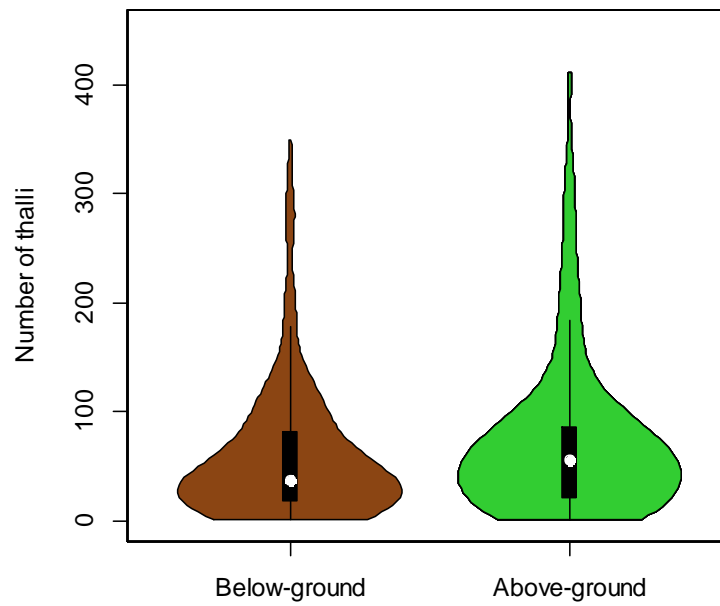
### 5.1. Distribuția ciupercii mirmecoparazitică *Rickia wasmannii* (Ascomycota: Laboulbeniales)

În acest capitol scopul nostru a fost să oferim informații despre prevalența și distribuția ciupercii *R. wasmannii* pe diferite nivel spațiale - colonii, indivizi, și pe diferitele părți ale corpului gazdei. Am comparat nivelurile de infecție între diferite tipuri de habitate (umed versus uscat) și, de asemenea, între diferite părți ale coloniilor infectate (partea de mai jos și sus al cuibului). Prin studiul nostru prezent, numai *Myrmica scabrinodis* a fost infestată de către ciuperca *R. wasmannii*. Tipul de habitat (umed versus uscat) nu a influențat semnificativ distribuția coloniilor infestate sau neinfestate (GLMM  $t = 0.8$ ,  $p = 0.42$ ; Fig. 4.).



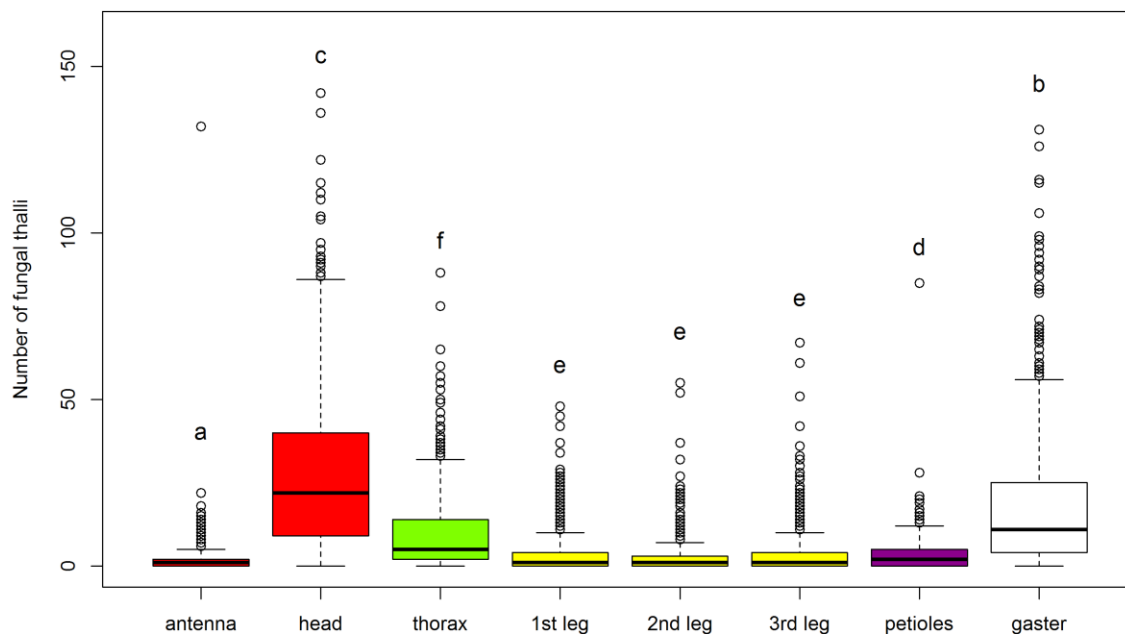
**Fig. 4.** Diferența în intensitatea de infecție între lucrătoarele din habitate umede și uscate.

Primele rezultate legate de preferințele de habitat: am putut demonstra că lucrătoarele din partea de mai jos a cuibului (coloniei) sunt mai puțin infestate, decât cele din partea de sus (GLMM  $t = -3.25$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 5).



**Fig. 5.** Diferența între intensitatea infecție la lucrătoarele din partea de jos și sus a cuibului (coloniei).

Ciuperca este prezentă pe toată suprafața corpului gazdei, capul și abdomenul sunt cele mai infestate părți ale corpului, de la mandibule până la abdomen, în unele cazuri extreme, am găsit ciuperca pe ochii indivizilor (Fig. 6). În mare abundență ciuperca a fost prezentă pe capul și abdomenul furnicilor (Fig. 6).



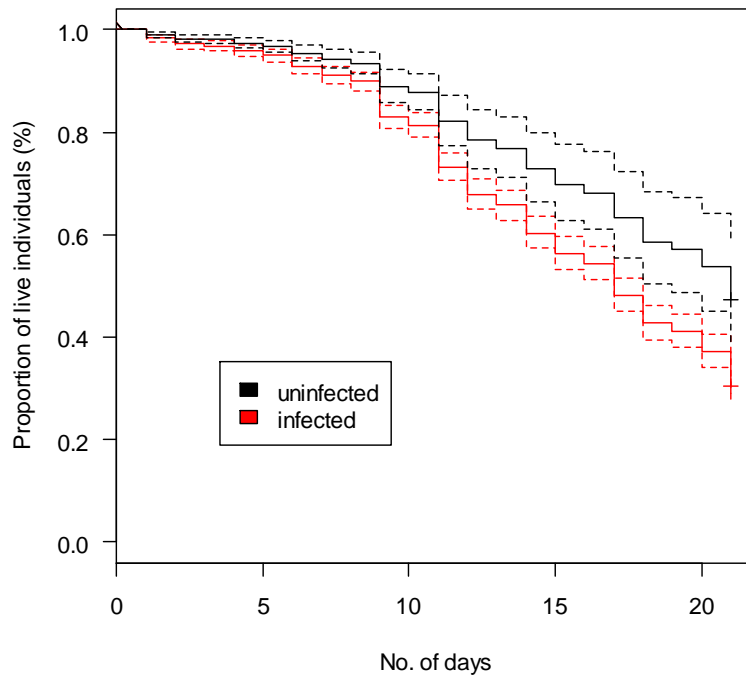
**Fig. 6.** Intensitatea infecției pe diferite părți ale corpului (GLMM,  $\chi^2 = 7538.3$ ,  $p < 0.0001$ ).

## 5.2. Efectul ciupercii *R. wasmannii* asupra șanselor de supraviețuire a gazdei și al comportamentului allo și auto-curățării

Abundența extremă a talusurilor de *R. wasmannii* pe cuticula gazdei (Markó și colab., subm.) și absența unor date de patogenitate ne-a condus la investigarea în condiții de laborator, al efectului ciupercii *Rickia wasmannii* asupra șanselor de supraviețuire al gazdei și dacă apar modificări comportamentale la gazdele infestate. Considerăm că apar modificări în ceea ce privește frecvența comportamentului auto- și/sau allo-curățării la indivizii infestați.

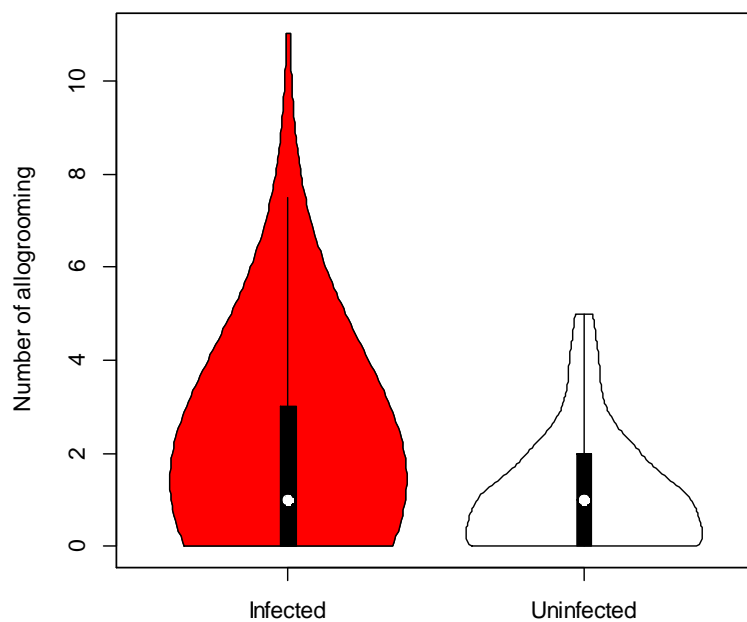
Astfel analiza rezultatelor dovedește clar că prezența ciupercii reduce considerabil șansele de supraviețuire a indivizilor infestați Regresiunea Cox (Fig. 7): Cox coeficient = 0.62,  $z = -2.86$ ,  $p < 0.004$ .

Frecvența autocurățării crește considerabil la indivizii infestați, fapt ce poate induce o suprainfestare a indivizilor prin dispersia activă a sporilor pe toată suprafața corpului ( $z = 4.02$ ,  $p < 0.001$ ), la indivizii infestați procesul de autocurățare a durat mai mult decât la cei neinfestați ( $z = 4.17$ ,  $p < 0.001$ ).

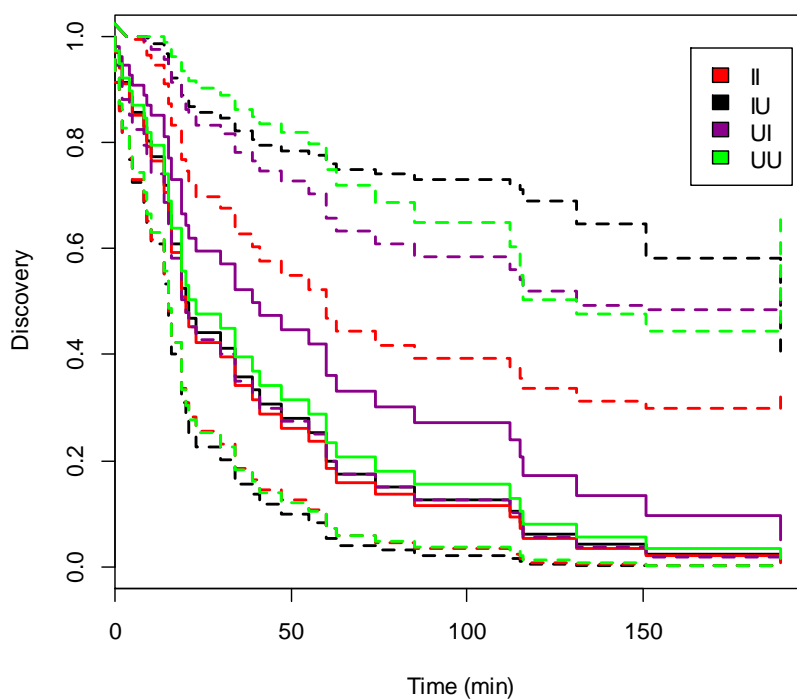


**Fig. 7.** Prezența ciupercii reduce considerabil șansele de supraviețuire ale indivizilor infestați.

Între indivizii infestați și cei neinfestați am găsit diferențe semnificative în ceea ce privește frecvența allo-curățătoare ( $z = 3.65$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 8). Astfel indivizii infestați s-au autocurățat mai frecvent decât indivizii neinfestați și pentru o perioadă mai lungă de timp ( $z = 3.1$ ,  $p < 0.001$ ). Nu am găsit diferențe semnificative între timpul scurs până la descoperirea cadavrelor infestate (II) și neinfestate (UI) în cazul coloniilor *M. scabrinodis* infestate (Fig. 9. Cox Coef = 1,05,  $z = 0,10$ ,  $p = \text{NS}$ ,  $n = 27$ ), și, nici în cazul coloniilor neinfestate (Cox Coef = 1.42,  $z = 0.77$ ,  $p = \text{NS}$ ,  $n = 27$ , Fig. 9). Nu am găsit diferențe semnificative în reacția furnicilor infestate față de cadavrele neinfestate.



**Fig. 8.** Frecvența allo-curățării în grupele *Myrmica scabrinodis* infestate și neinfestate.

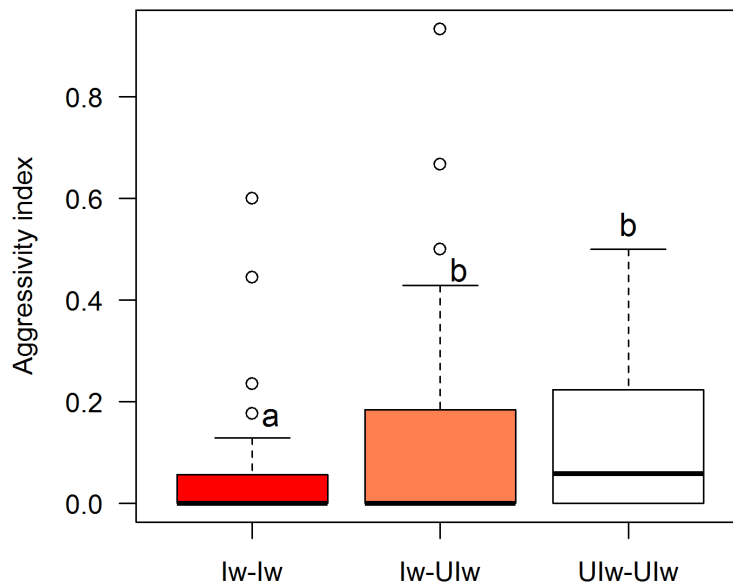


**Fig. 9.** Timpul scurs până la descoperirea cadavrelor infestate și neinfestate (UI = coloniile neinfestate cu cadavre neinfestate, II = coloniile infestate cu cadavre infestate, UI = coloniile neinfestate cu cadavre infestate, și UI = coloniile neinfestate cu cadavre neinfestate).

### 5.3. Efectul ciupercilor asupra societății de furnici: *R. wasmannii* facilitează pătrunderea străinilor în coloniile de furnici

În următorul experiment am înregistrat frecvența și natura interacțiunilor între lucrătoare de proveniență diferită și cu status de infestare diferit. Mai exact, am investigat: (1) capacitatea de discriminare a furnicilor lucrătoare infestate și neinfestate, pe baza agresivității față de lucrătoarele provenite din colonii infestate și neinfestate; (2) agresivitatea lucrătoarelor infestate și neinfestate față de măci din colonii neinfestate (3) agresivitatea lucrătoarelor infestate și neinfestate față de alte specii de furnici, cum ar fi *Lasius flavus* și *Tetramorium cf. caespitum*.

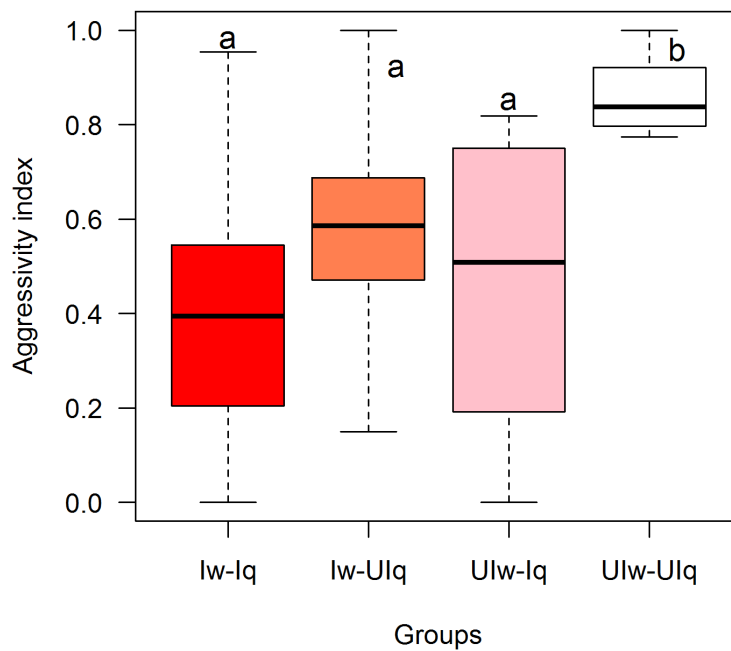
După analiza datelor rezultatele ne arată că în cazul în care ambele părți sunt infestate (II) agresivitatea scade semnificativ chiar dacă cele două părți provin din colonii diferite (IU) sau în cazul în care cele două părți sunt neinfestate se remarcă o agresivitate ridicată (UI-UI) ( $z \geq 2.47$ ,  $p \leq 0,03$ ; Fig. 10). Nu am găsit nici o diferență semnificativă între cele doua grupuri (I-UI vs UI-UI  $z = 0,64$ ,  $p = \text{NS}$ ).



**Fig.10.** Indexul de agresivitate între lucrătoarele *M. scabrinodis* (I – infestate cu *R. wasmannii*, UI – uninfestate).

Agresiunea lucrătoarelor față de măci străine a fost semnificativ mai mare în cazul în care atât muncitorii cât și regina au provenite din colonii neinfestate ( $z \geq 3.274$ ,  $p < 0,001$ ; Fig.

11), în timp ce nu s-au găsit diferențe între grupuri în cazul în care cel puțin un partener (mătcă sau lucrătoare) sau ambii parteneri au fost infestați de ciupercă ( $z \leq 1,34$ ,  $p = \text{NS}$ ; Fig. 11). În cazul în care am analizat agresiunea mătcă față de lucrătoare, am găsit faptul că în combinația (UI-UI) agresivitatea a fost mult mai mare decât în combinațiile II ( $z = 2.72$ ,  $p = 0,03$ ), dar nu am găsit diferențe semnificative în grupurile în care cel puțin un partener a fost infestat (I-UI și grupuri UI-I) ( $z \leq 1,10$ ,  $p = \text{NS}$ ).



**Fig. 11.** Indexul de agresivitate între reginele *M. scabrinodis* (q) și lucrătoare (w) cu status de inecție diferit (I – infestate cu *R. wasmannii*, UI – uninfestate).

Starea lucrătoarelor de *M. scabrinodis* (infestate sau neinfestate) nu a influențat în mod semnificativ agresivitatea față de *Lasius flavus* ( $z = -0.68$ ,  $p = \text{NS}$ ), sau față de *T. cf. caespitum* ( $z = -1.19$ ,  $p = \text{NS}$ ). De asemenea nu am găsit nici o diferență semnificativă între agresivitatea lucrătoarelor *Lasius flavus* și lucrătoarelor *M. scabrinodis* infestate sau neinfestate ( $z = -0.76$ ,  $p = \text{NS}$ ), sau nici în cazul agresivității lucrătoarelor *T. cf. caespitum* față de lucrătoarele *M. scabrinodis* infestate sau neinfestate ( $z = -1.0$ ,  $p = \text{NS}$ ). Deci, ciuperca poate reduce potențialul de discriminare al lucrătoarelor sau poate afecta agresivitatea.

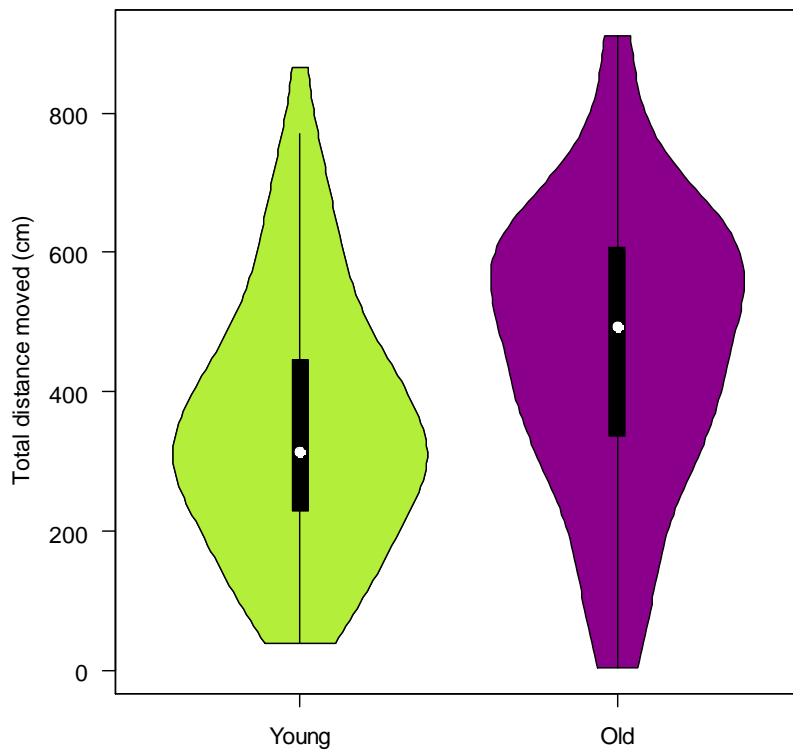


#### **5.4. Efectele de vârstă și infecții fungice asupra comportamentului locomotorice ale *Myrmica scabrinodis***

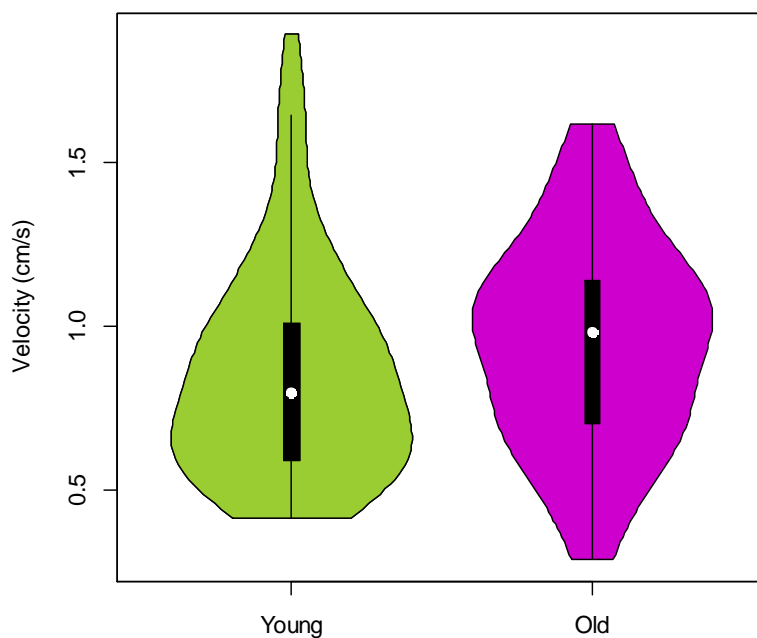
Se constată că ciuperca are un efect negativ asupra gazdei. Poate că prin abundența ei extremă constituie o greutate (capitolul 5.1), care poate afecta negativ abilitățile locomotorii ale gazdei. În lipsa dateor de patogenitate, și datorită supraviețuirii reduse ale gazdei (capitolul 5.2) am investigat în condiții de laborator, dacă parazitul poate induce modificări în comportamentul locomotor al gazdei *M. scabrinodis*. Activitatea indivizilor (adulți și tineri) a fost înregistrată timp de zece minute cu o cameră și comportamentul locomotor a fost analizat cu software-ul Ethovision. Am înregistrat distribuția indivizilor în diferite părți ale arenei (1), activitatea generală a furnicilor (2) și trei caracteristici ale traseului furnicilor (3) (Bernadou și Fourcassié, 2008; Bernadou și Heinze, 2013; Bernadou și colab., 2015 a, b).

După aceste înregistrări am măsurat procentul de grăsime al indivizilor și am numărat talusurile de ciuperci în cazul indivizilor infestați. Indivizii au fost împărțiți în două categorii de vârstă pe baza coloraturii corpului: tineri (galben, maro deschis) și bătrâni (maro închis). Unele studii au arătat deja faptul că lucrătorii tineri au mai multă grăsime, comparativ cu cei mai în vârstă (Porter și Jorgensen, 1981; Bernadou și colab., 2015b). Rezultatele noastre arată faptul că lucrătorii adulți au avut o cantitate mai mică de grăsimi comparativ cu cei tineri GLMM ( $z = 4.66$ ,  $p < 0,0001$ ), dar nu am găsit diferențe semnificative între indivizii infestați și cei neinfestați ( $z = 1,57$ ,  $p = \text{NS}$ ,  $n = 140$ ).

După analiza datelor, a reieșit clar faptul că vârsta indivizilor are un efect asupra distanței totale parcurse. Indivizii mai în vârstă parcurg o distanță mai mare decât cei tineri (LMM,  $\chi^2 = 12.72$ ,  $p < 0,0001$ ; Fig. 12). Procentul de grăsime are un efect semnificativ asupra vitezei indivizilor (LMM  $\chi^2 = 11.71$ ,  $p < 0.001$ ). Deci indivizi mai corpolenți au viteză mai redusă decât indivizii mai slabi. Viteza indivizilor tineri a fost mai redusă decât cea a indivizilor adulți (LMM  $\chi^2 = 9.66$ ,  $p = 0,001$ , Fig. 13).

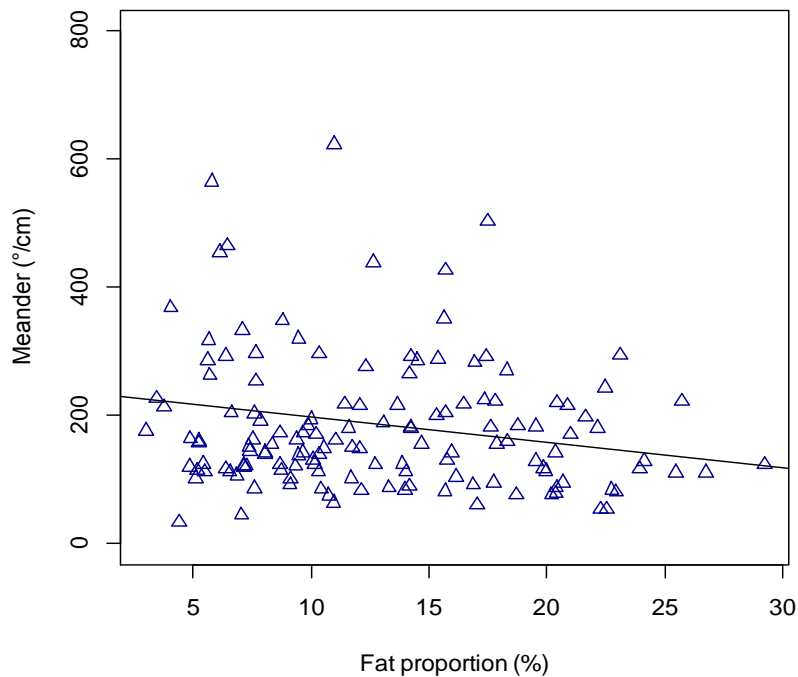


**Fig. 12.** Distanța totală parcursă (cm) de către indivizii adulți și tineri ai speciei *Myrmica scabrinodis*.



**Fig. 13.** Viteza (cm/s) indivizilor adulți și tineri ai speciei *Myrmica scabrinodis*.

Procentul de grăsime (LMM  $\chi^2 = 12.42$ ,  $p < 0,001$ ; Fig. 14) a avut un efect semnificativ asupra meandrului de mișcare. În ceea ce privește distribuția spațială a indivizilor adulți și tineri, a rezultat faptul că indivizii adulți parcurg o distanță mai mare în zona periferică a arenei decât cei tineri (LMM  $\chi^2 = 7,44$ ,  $p = 0,006$ ).



**Fig. 14.** Relația între meandru (°/cm) și procentul de grăsime (%) al indivizilor

## 6. Concluzii

Scopul principal al acestei teze a fost analiza efectului ciupercii ectoparazitice asupra furnicii gazdă *Myrmica scabrinodis* și totodată studierea prevalenței și distribuției acesteia în diferite scale spațiale-colonii, indivizi și diferite părți ale corpului indivizilor. Istoria speciei *Myrmica scabrinodis*, și în general a speciilor de ciuperci myrmecoparazite din ordinul Laboulbeniales, este destul de puțin înțeleasă față de ciuperciile din același grup, dar care parazitează alte insecte (de exemplu, De Kesel, 1996).

În capitolul 3 am raportat prezența a cinci specii de ciuperci în România: *Aegeritella superficialis*, *Myrmicinosporidium durum*, *Pandora myrmecophaga*, *Laboulbenia camponoti* and *Rickia wasmannii* (Csata și colab., 2013; Báthori și colab., 2015).

- Specia principal studiată de către noi a fost *Rickia wasmannii* care a fost identificată din 12 locații diferite din România. În majoritatea cazurilor *M. scabrinodis* a fost singura sau principala ei gazdă.
- În capitolul 5.1 am furnizat informații privind prevalența și distribuția acestei specii în diferite scale spațiale-colonii, indivizi și diferite părți ale corpului indivizilor. Ciuperca a apărut cel mai des la furnici care trăiesc în zone mai umede, unde prevalența ciupercii în interiorul coloniei poate să atingă și 100%. Prevalența mare a *R. wasmannii* în coloniile infectate poate fi rezultatul virulenței scăzute a ciupercii combinată cu o strategie eficientă de transmitere.
- În capitolul 5.2 am investigat în condiții de laborator dacă parazitul crește frecvența autocurățării în cazul cazdelor și dacă are efecte asupra șanselor de supraviețuire a gazdei. Am arătat că prezența *R. wasmannii* pe cuticula *Myrmica scabrinodis* crește semnificativ frecvența și durata auto și allocurățării în cazul gazdelor infectate. Cauzele din spatele scurtării duratei de viață în cazul indivizilor *M. scabrinodis* infectați pot fi multiple. Ciuperca poate atinge o abundență foarte mare pe gazdă, cum este prezentat în această lucrare, așadar cauzând modificări în structura cuticulei sau crescând riscul deshidratării, uscării indivizilor, dar pot fi și alte cauze încă necunoscute (vezi Kaur and Mukerji, 2006; Ortiz-Urquiza and Keyhani, 2013; Báthori *et al.*, 2015).
- În capitolul 5.3 am investigat efectul patogenului asupra interacțiunilor inter- și intraspecifice dintre furnici. Rezultatele noastre subliniază faptul că infecțiile fungice ar putea modifica comportamentul intraspecific al furnici, și că prezența agentului patogen ar putea schimba în mod semnificativ rezultatul acestor interacțiuni influențând de asemenea fitnessul gazdei pe termen lung.
- În capitolul 5.4 am analizat în ce măsură statusul infectării și conținutul de grăsime al indivizilor poate fi legată de comportamentul locomotor al furnicilor gazdă. Descoperirile noastre au demonstrat ca starea de nutriție a individului corelează cu vârsta acestuia. În cadrul tezei am demonstrat că consecințele relațiilor parazitare în contextul social ar putea fi multiple, începând de la schimbarea răspunsurilor individuale ale gazdei, la modificări în structura socială. Modificările de comportament cauzate de *R. wasmannii*, deși ușoare, și greu de observat pot fi de fapt adaptive din partea ciupercii permițându-i să ajungă la niveluri ridicate de prevalență și persistență în interiorul coloniilor infectate.

Sperăm că informațiile epidemiologice ierarhic structurate prezentate aici pot servi ca o linie de referință pentru viitoarele studii comparative sau de monitorizare, precum pot

contribui și la o mai bună înțelegere a relațiilor ecologie dintre gazdă-parazit, în special cea a ciupercilor parazite laboulbelian.

### **7. Bibliografie selectivă**

- Baer, B. & Schmid-Hempel, P. (1999). Experimental variation in polyandry affects parasite loads and fitness in a bumble-bee. *Ecology*, 397, 151–154.
- Báthori, F., Pfliegler, W.P. & Tartally, A. (2014). First records of the myrmecophilous fungus *Laboulbenia camponoti* Batra (Ascomycetes: Laboulbeniales) from Austria and Romania. *Sociobiology*, 61 (3), 338–340.
- Báthori, F., Csata, E. & Tartally, A. (2015). *Rickia wasmannii* increases the need for water in *Myrmica scabrinodis* (Ascomycota: Laboulbeniales; Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 126, 78–82.
- Berdoy, M., Webster, J.P. & Macdonald, D.W. (2000). Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 267, 1591–1594.
- Bernadou, A. & Fourcassié, V. (2008). Does substrate coarseness matter for foraging ants? An experiment with *Lasius niger* (Hymenoptera; Formicidae). *Journal of Insect Physiology*, 54, 534–542.
- Bernadou, A. & Heinze, J. (2013). Mating-Associated Changes in the Behaviour of *Leptothorax gredleri* Ant Queens. *Ethology*, 119, 634–643.
- Bernadou, A., Ruther, J. & Heinze, J. (2015a). Avoid mistakes when choosing a new home: Nest choice and adoption of *Leptothorax* ant queens. *Journal of Insect Physiology*, 79, 88–95.
- Bernadou, A., Busch, J. & Heinze, J. (2015b). Diversity in identity: behavioral flexibility, dominance, and age polyethism in a clonal ant. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 69 (8), 1365–1375.
- Bezděčka, P. & Bezděčková, K. (2011). First record of the myrmecophilous fungus *Rickia wasmannii* (Ascomycetes: Laboulbeniales) in Slovakia. *Folia faunistica*, 16, 71–72.
- Boomsma, J.J., Schmid-Hempel, P. & Hughes, W.O.H. (2005). Life histories and parasite pressure across the major groups of social insects. In: Holloway G, Rolff J, Fellowes M (eds) *Insect Evolutionary Ecology*. CABI Publishing, Wallingford, pp 139–176.
- Bruce, W.A. & LeCato, G.L. (1980). *Pyemotes tritici*: a potential new agent for biological control of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Acari: Pyemotidae). *International Journal of Acarology*, 6 (4), 271–274.
- Bush, A.O., Fernandez, J.C., Esch, G.W. & Seed, J.R. (2001). Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites. Cambridge University Press.
- Buschinger, A., Beibl, J., D'Etorre, P. & Ehrhardt, W. (2004). Recent records of *Myrmicinosporidium durum* Hölldobler, 1933, a fungal parasite of ants, with first record north of the Alps after 70 years. *Myrmecologische Nachrichten* 6, 9–12.
- Csata, E., Czekes, Zs., Erős, K., Német, E., Hughes, M., Csósz, S. & Markó, B. (2013). Comprehensive survey of Romanian myrmecoparasitic fungi: new species, biology and distribution. *North- Western Journal of Zoology*, 9, 23–29.
- Csata, E., Erős, K. & Markó, B. (2014). Effects of the ectoparasitic fungus *Rickia wasmannii* on its ant host *Myrmica scabrinodis*: changes in host mortality and behavior. *Insectes Sociaux*, 61, 247–252.
- Csósz, S. & Majoros, G. (2009). Ontogenic origin of mermithogenic *Myrmica* phenotypes (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, 56, 70–76.
- Espadaler, X. & Santamaria, S. (2012). Ecto- and endoparasitic fungi on ants from the

- Holarctic Region. *Psyche*, 1–10.
- Gonçalves, C., Patanita, I. & Espadaler, X. (2012). Substantial, and significant, expansion of ant host range for *Myrmicinosporidium* Hölldobler, 1933 (Fungi). *Insectes Sociaux*, 59, 395–399.
- Haelewaters, D. (2012). The first record of Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) on Ants (Hymenoptera, Formicidae) in The Netherlands. *Ascomycete org*, 4, 65–69.
- Haelewaters, D., van Wielink, P., van Zuijlen, J.W., Verbeken, A. & De Kesel, A. (2012). New records of Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) for the Netherlands. *Entomologische berichten*, 72, 175–183.
- Haelewaters, D., Boer, P. & Noordijk, J. (2015). Studies of Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) on *Myrmica* ants: *Rickia wasmannii* in the Netherlands. *Journal of Hymenoptera Research*, doi: 10.3897.
- Hamilton, W.D. (1987). Kinship, recognition, disease, and intelligence: constraints of social evolution. In: Itô Y, Brown JL, Kikkava J (eds) *Animal societies: theories and facts*. Japan Science Society, Tokyo, pp 81–102.
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. (2009). *The superorganism: the beauty, elegance, and strangeness of insect societies*. WW Norton & Company.
- Keller, L., Liautard, C., Reuter, M., Brown, W.D., Sundström, L. & Chapuisat, M. (2001). Sex ratio and *Wolbachia* infection in the ant *Formica exsecta*. *Heredity*, 87, 227–233.
- Konrad, M., Vyleta, M.L., Theis, F.J., Stock, M., Tragust, S., Klatt, M., Drescher, V., Marr, C., Ugelvig, L.V. & Cremer, S. (2012). Social transfer of pathogenic fungus promotes active immunisation in ant colonies. *PLOS Biology*, 10: e1001300.
- Lapeva-Gjonova, A. & Santamaría, S. (2011). First records of Laboulbeniales (Acomycota) on ants (Hymenoptera: Formicidae) in Bulgaria. *ZooNotes*, 22, 1–6.
- Manga-González, M.Y., González-Lanza, C., Cabanas, E. & Campo, R. (2001). Contributions to and review of dicrocoeliosis, with special reference to the intermediate hosts of *Dicrocoelium dendriticum*. *Parasitology*, 123, S91–S114.
- Moore, J. (2002). *Parasites and the Behavior of Animals*. Oxford University Press, Oxford.
- Ortiz-Urquiza, A. & Keyhani N.O. (2013). Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects*, 4, 357–374.
- Otti, O., Tragust, S. & Feldhaar, H. (2014). Unifying external and internal immune defences. *Trends in Ecology and Evolution*, 29 (11), 625–634.
- Pașcovici, V.D. (1983). O nouă entitate în microflora României: *Aegeritella superficialis* Bał. et Wiś., 1974 (Hiph., Blastosporae) parazită pe speciile din grupa *Formica* (Hym., Formicidae) [A new entity in the microflora of Romania: *Aegeritella superficialis* Bał. et Wiś., 1974 (Hiph., Blastosporae) parasite of *Formica* species (Hym., Formicidae)]. *Revista Pădurilor* 98 (3), 148–149. [in Romanian].
- Poinar Jr, G. & Yanoviak, S.P. (2008). *Myrmeconema neotropicum* ng, n. sp., a new tetradonematid nematode parasitising South American populations of *Cephalotes atratus* (Hymenoptera: Formicidae), with the discovery of an apparent parasite-induced host morph. *Systematic parasitology*, 69 (2), 145–153.
- Pontoppidan, M.B., Himaman, W., Hywel-Jones, N.L., Boomsma, J.J. & Hughes, D.P. (2009). Graveyards on the Move: The Spatio-Temporal Distribution of Dead *Ophiocordyceps*-Infected Ants. *PLoS ONE*, 4 (3), e4835.
- Porter, S.D. & Jorgensen, C.D. (1981). Foragers of the harvester ant, *Pogonomyrmex owyheei*: a disposable caste?. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 9 (4), 247–256.
- Roy, H.E., Steinkraus, D.C., Eilenberg, J., Hajek, A.E. & Pell, J.K. (2006). Bizarre interactions and endgames: Entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annual Review of Entomology*, 51, 331–357.
- Santamaria, S. & Espadaler, X., (2015). *Rickia lenoirii*, a new ectoparasitic species, with

- comments on world Laboulbeniales associated with ants. *Mycoscience* 56 (2), 224–229.
- Schmid-Hempel, P. (1998). *Parasites of Social Insects*. Princeton University Press, USA.
- Tartally, A., Szócs, B. & Ebsen, J.R. (2007). The first records of *Rickia wasmannii* Cavara, 1899, a myrmecophilous fungus, and its *Myrmica* Latreille, 1804 host ants in Hungary and Romania (Ascomycetes: Laboulbeniales; Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 10, 123.
- Tavares, I.I. (1985). *Laboulbeniales (Fungi, Ascomycetes)*. Braunschweig: Cramer.
- Vega, F.E., Goettel, M.S., Blackwell, M., Chandler, D., Jackson, M.A., Keller, S., Koike, M., Maniania, N.G., Monzón, A., Ownley, B.H., Pell, J.K., Rangel, D.E.N. & Roy, H.E. (2009). Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology*, 2, 149–159.
- Weir, A. & Blackwell, M. (2005). Phylogeny of arthropod ectoparasitic ascomycetes. In: *Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution* (Vega F.E. and Blackwell M., Eds): Oxford University Press, Oxford, UK, pp 119–145.
- Witek, M., Nowicki, P., Śliwiska, E.B., Skorka, P., Settele, J., Schoenrogge, K. & Woyciechowski, M. (2010). Local host ant specificity of *Phengaris (Maculinea) telex* butterfly, an obligatory social parasite of *Myrmica* ants. *Ecological Entomology*, 35 (5), 557–564.
- Witek, M., Barbero, F. & Markó, M. (2014). *Myrmica* ants host highly diverse parasitic communities: from social parasites to microbes. *Insectes Sociaux*, 6 (4), 307–323.

### **8. Lista publicațiilor științifice ale candidatei apărute din tema tezei**

1. Markó, M., Csata, E., Erős, K., Németh, E., Czekes, Zs. & Rózsa, L. (2015). Distribution of the myrmecoparasitic fungus *Rickia wasmannii* (Ascomycetes: Laboulbeniales) across colonies, individuals, and body parts of *Myrmica scabrinodis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, submitted, **IF: 2.41**.
2. Báthori, F., Csata, E. & Tartally, A. (2015). *Rickia wasmannii* increases the need for water in *Myrmica scabrinodis* (Ascomycota: Laboulbeniales; Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 126, 78–82. **IF: 2.41**.
3. Csata, E. (2015). Minute mystery: ant behavioral manipulation by a fungus. *Intelligens haló*, 85–93.
4. Csata, E., Erős, K. & Markó, B. (2014). Effects of the ectoparasitic fungus *Rickia wasmannii* on its ant host *Myrmica scabrinodis*: changes in host mortality and behavior. *Insectes Sociaux*, 61, 247–252. **IF: 1.02**.
5. Csata, E., Czekes, Zs., Erős, K., Németh, E., Hughes, M., Csósz, S. & Markó, B. (2013). Comprehensive survey of Romanian myrmecoparasitic fungi: new species, biology and distribution. *North-Western Journal of Zoology*, 9 (1), 23–29. **IF: 0.747**.
6. Csata, E. (2014). Egy különleges rovarparazita gombarend: a Laboulbenia-félék (Ascomycota: Laboulbeniales). *Biologia|Acta Scientiarum Transylvanica*, 20/1, 2012.

Manuscripts in preparation

1. Csata, E., Timuș, N., Witek, M., Babik, H., Erős, K., Czekes, Zs., Rákósy, L. & Markó, B. (2015). Lockpick to the society: fungal infection facilitates the intrusion of strangers into ant colonies, *manuscript*.
2. Csata, E., Bernadou, A., Markó, B., Elena, R. T. & Heinze, J. (2015). The effects of age and fungal infection on the activity of the ant *Myrmica scabrinodis*, *manuscript*.
3. Markó, B., Schrempf, A., Csata, E. & Heinze, J. (2015). Variation in sperm length and viability in two *Myrmica* species with varying fungal infection potential trade offs. *manuscript*.
4. Csata, E., Molnár, D., Kötő, E.A. & Markó, B. (2015). Sanitary behaviours induced by fungal infection in *Myrmica scabrinodis*, *in prep*.

**9.2. List of scientific publications not included in this thesis**

1. Nédli, J., Forró, L., Csata, E., Krízsik, V., Balogh, Cs. & G-Tóth, L. (2015). Morphometric characteristics and COI haplotype diversity of *Arctodiptomus spinosus* populations in sodic ponds in Hungary. *Hydrobiologia*, *submitted*. **IF: 2.35**
2. Csata, E., Markó, B., Erős, K., Gál, Cs., Szász-Len, A-M. & Czekes, Zs. (2012). Outstations as stable meeting points for workers from different nests in a polydomous nest system of *Formica exsecta* NYL. (Hymenoptera: Formicidae). *Polish Journal of Ecology*, 60 (1), 177–186. **IF: 0.506**
3. Markó, B., Czekes, Zs., Erős, K., Csata, E. & Szász-Len, A-M. (2012). The largest known polydomous system of mound building *Formica* ants (Hymenoptera: Formicidae) in Europe. *North-Western Journal of Zoology*, 8 (2), 287–291. **IF: 0.747**
4. Erős, K., Csata, E., Gál, Cs., Czekes, Zs., Szász-Len, A-M., Szőke, Zs., Maák, I. & Markó, B. (2011). Hangya-levéltetű-gazdanövény kapcsolatok egy egyedi szuperkoloniális rendszerben a vaslábi Fenékláp határában (Ant-aphid-host plant relationships in a unique polydomous system near the protected După Luncă area at Voşlobeni). In: Markó, B., Sárkány-Kiss, E. (ed.): *A Gyergyói-medence: egy mozaikos táj természeti értékei*. Presa Universitară Clujeană, Cluj-Napoca p. 244, 131–148 pp.



5. Erős, K., Markó, B., Gál, Cs., Czeker, Zs. & Csata, E. (2009). Sharing versus monopolizing: distribution of aphid sources among nests within a *Formica exsecta* Nyl. (Hymenoptera: Formicidae) supercolony. *Israel Journal of Entomology*, 39, 105–127.