

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

FERNANDO DE FARIAS MARTINS

PREFERÊNCIA DE UMIDADE NA OVIPOSIÇÃO DE GRILOS DE SERRAPILHEIRA
(ORTHOPTERA: GRYLLOIDEA): EXPERIMENTOS DE CAMPO E LABORATÓRIO

CASCADEL - PR

Março/2017

FERNANDO DE FARIAS MARTINS

PREFERÊNCIA DE UMIDADE NA OVIPOSIÇÃO DE GRILOS DE
SERRAPILHEIRA (ORTHOPTERA: GRYLLOIDEA): EXPERIMENTOS DE
CAMPO E LABORATÓRIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais

Área de Concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Prof. Dr. Neucir Szinwelski

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Frankl Sperber

CASCADEL - PR

Março/2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

M343p

Martins, Fernando de Farias

Preferência de umidade na oviposição de grilos de serrapilheira (Orthoptera: Grylloidea): experimentos de campo e laboratório. / Fernando de Farias Martins. Cascavel, 2017.

73 f.

Orientador: Prof. Dr. Neucir Szinwelski

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Frankl Sperber

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2017

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

1. Nicho ecológico. 2. Condições ambientais. 3. Mudanças climáticas globais. 4. Aridez de habitat. 5. Resposta linear e em formato de sino. 6. Substrato. 7. GAMM. 8. GLM. I. Szinwelski, Neucir. II. Sperber, Carlos Frankl. III. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. IV. Título.

CDD 21.ed. 595.7052

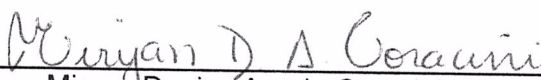
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

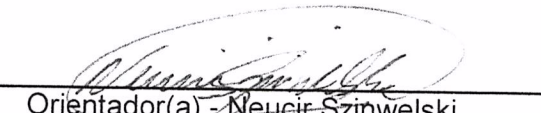
FERNANDO DE FARIAS MARTINS

Grilos de serapilheira preferem substratos com alta umidade para ovoposição:
evidencia em experimentos de campo e laboratório com *Ubiquepuella telytokous*
(Orthoptera: Grylloidea: Phalangopsidae)

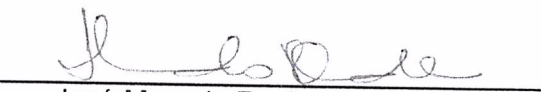
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Conservação e Manejo de Recursos Naturais em cumprimento parcial aos requisitos
para obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais,
área de concentração Ciências Ambientais, linha de pesquisa Biologia Aplicada e
Indicadores de Qualidade No Ambiente Terrestre, APROVADO(A) pela seguinte
banca examinadora:


Miryan Denise Araujo Coracini

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)


Orientador(a) - Neucir Szwedski

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)


José Marcelo Rocha Aranha

Universidade Federal do Paraná - Campus de Palotina (UFPR)

Cascavel, 16 de fevereiro de 2017

Dedico este trabalho à todas as pessoas que de alguma forma
contribuíram para minha formação acadêmica.

*“O maior inimigo do conhecimento não é a
ignorância, mas sim a ilusão da verdade”*

Stephen Willian Hawking

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meu excelentíssimo orientador, Prof. Dr. Neucir Szinwelski, por toda a dedicação e comprometimento com o nosso trabalho, e por apresentar-me o maravilhoso mundo dos Orthópteros.

Ao coorientador do nosso trabalho, Dr. Carlos Frankl Sperber, pelas valiosas e perspicazes contribuições, essenciais para realização dessa pesquisa.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela atenção dedicada e inestimável conhecimento repassado durante a realização das disciplinas.

A meus queridos pais, Lauri e Ivanilda, que são responsáveis pelo ser humano que sou hoje. Amo vocês!

Meu irmão Lauri, Jr., obrigado pelo companheirismo. Também te amo!

Aos amigos e futuros doutores: Victor, Suzana, Jéssica, Marcos e Aline. Foi um imenso prazer dividir o laboratório com vocês. Valeu!!!

Agradeço o Prof. Dr. José Flávio, Prof. Dra. Miryan, e Prof. Dr. J. Aranha pela participação na banca de qualificação e defesa, e grandes contribuições com nosso trabalho.

Meus agradecimentos ao ilustríssimo Prof. Dr. Eliseu Vieira Dias, por me orientar cientificamente durante a graduação, um passo inestimável para a obtenção do meu título de mestrado.

Aos grandes amigos que fiz durante todos esses anos de estudo: Victor, Gabriel, Eliseu, Anderson, Magno e Juliana.

Também aos amigos de longa data: Andrey, Renato, Aislan, Rômulo, Zé, Marcos e Ratto.

A minha amada noiva Débora, que nunca deixou de acreditar em mim. Te amo!

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO GERAL.....	9
CAPÍTULO I.....	14
Seco ou úmido? Preferência de oviposição de grilos de serrapilheira (Orthoptera: Grylloidea).....	15
Resumo.....	16
Introdução.....	17
Materiais e métodos.....	20
Resultados.....	22
Discussão.....	23
Referências.....	29
Legenda das tabelas.....	37
Legenda das figuras.....	40
CAPÍTULO II.....	44
Grilos de serrapilehira preferem substratos com alta umidade para oviposição: evidência em experimentos de campo e laboratório com <i>Ubiquepuella telytokous</i> (Orthoptera: Grylloidea: Phalangopsidae).....	45
Resumo.....	45
Introdução.....	46
Materiais e métodos.....	46
Resultados.....	49
Discussão.....	50
Conclusão.....	52
Referências.....	53
ANEXOS.....	58
Anexo I – Normas da revista <i>Journal of Animal Ecology</i>	59
Anexo II – Normas da revista <i>Plos One</i>	65

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Parque Nacional do Iguaçu (Foz do Iguaçu – Brasil).....	41
Figura 2. Ilustração do desenho experimental.....	42
Figura 3. Probabilidade de oviposição (variável binária) em função do nível de umidade em campo.....	43

CAPÍTULO II

Figura 1. Parque Nacional do Iguaçu, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil).....	47
Figura 2. Desenho experimental dos experimentos de campo (a) e laboratório (b).....	48
Figura 3. Probabilidade de oviposição (variável binária) em função dos níveis de umidade, nos experimentos de campo e laboratório.....	43

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Aleatorização da disposição das bandejas em cada transecto do experimento. Parque Nacional do Iguaçu, 2012.....	38
Tabela 2. Número de ovos encontrados em cada nível de umidade, após 48 horas do experimento.....	39

CAPÍTULO II

Tabela 1. Número de ovos encontrados em cada nível de tratamento após 48 horas dos experimentos de campo e laboratório.....	47
---	----

RESUMO

Para espécies que não apresentam cuidados parentais, tais como insetos ovíparos, a escolha de um local de oviposição favorável é de extrema importância para o sucesso da prole. A teoria do nicho prevê que a oviposição de grilos deve mostrar uma resposta em forma de sino à umidade do substrato. Entretanto, pelo menos um experimento de laboratório com paquinhos (Orthoptera: Gryllotalpoidea) indicou uma resposta de oviposição linear em relação a umidade do substrato. O grilo doméstico *Acheta domesticus* (Orthoptera: Grylloidea) também apresenta um crescimento corporal dos juvenis linear em relação a umidade do substrato, o que sugere uma relação positiva entre umidade e preferência de oviposição. Aqui testamos a relação entre a frequência de oviposição e a umidade do substrato, em espécies de grilos de serrapilheira florestal, primariamente compostas *Ubiquepuella telytokous*, utilizando experimentos de campo. Também testamos as respostas de oviposição de *U. telytokous* em experimentos de laboratório. Oferecemos substratos de oviposição que variaram a umidade de zero por cento até a capacidade máxima de absorção do substrato. A preferência de oviposição foi estimada utilizando presença ou ausência de ovos como uma variável resposta binária, regressão logística ajustada (GAMM) para testar respostas não lineares, e GLMs para testar respostas lineares. Verificamos que a probabilidade de oviposição aumenta linearmente com a umidade do substrato para *U. telytokous*, nos experimentos de campo e laboratório. Nossos resultados demonstram a importância da umidade do substrato como requisito de nicho ecológico para *Ubiquepuella telytokous*. Este trabalho reforça o conhecimento da associação de história de vida de grilos com a umidade, e sugere que esses organismos podem ser particularmente ameaçados por mudanças climáticas que tornam habitats áridos.

PALAVRAS-CHAVE Aridez de habitat; Nicho ecológico; Condições ambientais; Mudanças climáticas globais;; Resposta linear e em formato de sino; substrato; GAMM; GLM.

FOREST LITTER CRICKETS PREFER HIGHER SUBSTRATE HUMIDITY FOR
OVIPOSITION: EVIDENCE FROM LAB AND FIELD EXPERIMENTS WITH
Ubiquepuella telytokous (ORTHOPTERA: GRYLLOIDEA: PHALANGOPSIDAE)

ABSTRACT

For species that do not exhibit parental care such as oviparous insects, choosing a favorable oviposition site is of utmost importance for brood success. Niche theory predicts that crickets should show a bell-shaped oviposition response to substrate humidity. However, at least one lab experiment with mole crickets (Orthoptera: Gryllotalpoidea) indicated a linear oviposition responses to substrate humidity. The house cricket *Acheta domesticus* (Orthoptera: Grylloidea) also shows a linear juvenile body growth response to substrate humidity, which suggests a positive relationship between humidity and oviposition preference. We evaluated the relationship between oviposition frequency and substrate humidity in forest litter-dwelling species, primarily composed of *Ubiquepuella telytokous*, using field experiments. We also tested oviposition responses of *U. telytokous* to substrate humidity in a laboratory experiment. We offered oviposition substrates that varied in humidity from zero percent to maximum substrate water absorption capacity. Oviposition preference was estimated using presence or absence of eggs as a binary response variable, adjusted logistic regression (GAMM) was used to test for non-linear responses, and GLMs were used to test linear responses. We found that oviposition probability increased linearly with substrate humidity for *U. telytokous* in both field and lab experiments. Our results demonstrate the importance of substrate humidity as an ecological niche requirement for this species. This work bolsters knowledge of litter cricket life history association with humidity, and suggests that litter crickets may be particularly threatened by changes in climate that favor habitat drying.

KEY WORDS: Ecological niche; Environmental conditions; Global climate changes; Habitat drying; Linear versus bell-shaped response; Substrate; GAMM; GLM.

INTRODUÇÃO GERAL

A distribuição dos organismos é determinada por dois tipos de fatores ecológicos: de baixo para cima (*bottom-up*) e de cima para baixo (*top-down*) (BRUGGISSER et al., 2012; GIRARD et al., 2015). Fatores *top-down* controlam as populações através de relações tróficas entre os indivíduos, e só atuarão se os organismos controlados ocorrerem em locais onde existe presença de predadores, parasitas e competidores. Já fatores *bottom-up*, abrangem recursos e condições necessárias para que os organismos sobrevivam e se reproduzam. O conjunto destes fatores foi sintetizado no conceito de nicho ecológico (HUTCHINSON, 1957).

Um organismo pode ocorrer em locais onde não existem condições e recursos adequados para sobrevivência ou reprodução, mas neste caso, sua permanência dependerá do influxo de imigrantes vindos locais propícios (BRUGGISSER et al., 2012; GIRARD et al., 2015). Nesse caso, a distribuição dos organismos resultará de um balanço entre a possibilidade de persistência dos indivíduos no local, junto com as taxas de imigração. Estas taxas devem eventualmente compensar sumidouros, na qual a taxa de crescimento populacional seria negativa, considerando o local isolado. Assim, espera-se que em ambientes com mais recursos e condições adequadas, encontraremos maior densidade populacional, mesmo que ali também ocorra maior concentração de predadores (ZHANG et al., 2015).

A distribuição espacial de grilos (Orthoptera: Grylloidea) de serapilheira dentro de florestas é heterogênea: alguns locais possuem maior densidade de grilos do que outros (SZINWELSKI et al., 2012). Fatores que determinam esta distribuição podem envolver características da biologia destes organismos, atuando diretamente sobre os indivíduos, promovendo alterações de fenótipos, como coloração (ÇAĞLAR et al., 2014) e tamanho corporal (MCCLUNEY; DATE, 2008). Fatores como pressão atmosférica (MONTAGNA et al., 2012), luz (TOMIOKA et al., 1991), umidade (MCCLUNEY; DATE, 2008), e temperatura (ÇAĞLAR et al., 2014) podem afetar as taxas de reprodução, migração, crescimento (NETO et al., 1976).

Para aumentar a sobrevivência e o sucesso reprodutivo, os organismos devem buscar locais com condições e recursos dentro de uma faixa ótima. Nesses locais, as taxas de reprodução, crescimento e sobrevivência serão altas, enquanto que nos limites extremos, a sobrevivência e reprodução podem ser comprometidas (RANDALL et al., 2011).

Dentre os fatores citados, a água exerce um papel fundamental na fisiologia dos organismos, e consiste no principal composto dos fluidos de todos os seres vivos no planeta, totalizando 70% ou mais da massa na maioria dos organismos. Além de ser um solvente no qual ocorrem reações metabólicas, a água também atua diretamente em diversas reações químicas presente no metabolismo dos seres vivos. (SCHMIDT-NIELSEN, 1988; RANDALL et al., 2011; NELSON; COX, 2002).

Em situações de estresse hídrico, os insetos podem fazer uso de água metabólica, não requerendo uma fonte de água constante em seu ambiente (RANDALL et al., 2011). Outros, em época de escassez, entram em diapausa e quinetopausa (JAMESON; MACFARLANE; HOGAN, 1976; NETO et al., 1976), com interrupção do desenvolvimento e das atividades biológicas, respectivamente. Este processo protege os organismos durante o período em que o ambiente é desfavorável (BOYCHUK et al., 2015; GEHRKEN; DOUMBIA, 1996). Apesar de alguns insetos possuírem uma pequena tolerância a dessecação, a longo prazo a falta de água pode afetar o crescimento e comprometer a estrutura cuticular, impedindo o desenvolvimento (NORHISHAM et al., 2013).

As oviposições de grilos de serapilheira podem estar ligadas a alguma condição ambiental, como a umidade, na qual as fêmeas escolheriam locais mais adequados para a sobrevivência e desenvolvimento dos filhotes, tanto no período embrionário quanto pós-embrionário. Antes de ovipor, as fêmeas utilizam suas peças bucais para verificar a umidade do substrato (DESTEPHANO; BRADY; FARR, 1982). Se a superfície for úmida, a fêmea introduz o ovipositor, a fim de verificar a umidade inferior do local. Esta só procederá se detectar que o interior do substrato estiver úmido o suficiente para garantir o desenvolvimento dos ovos

(LAMB; WILLEY, 1989). Estudos que avaliam oviposição em grilos são regularmente publicados (GREEN; TREGENZA, 2009; OGAWA et al., 2011; SRYGLEY, 2014), porém não é conhecida bibliografia que avalie esse processo relacionado diretamente com a umidade, em experimentos de campo e laboratório.

Aqui avaliamos se diferenças na umidade do solo afetam a preferência de oviposição de grilos de serapilheira. A umidade da serapilheira é uma dimensão importante do nicho ecológico desses organismos, e está intimamente ligado com a sua distribuição e abundância. Locais muito secos, ou excessivamente úmidos, seriam preteridos em favor de locais com umidades intermediárias, mais adequadas ao metabolismo e ao desenvolvimento destes animais. Por outro lado, baseado na resposta de *Acheta domestiscus* (MCCLUNEY; DATE, 2008), em relação ao crescimento corporal em relação a disponibilidade de umidade, esperaríamos uma resposta linear em relação aos níveis de umidade. Desse modo, o objetivo desse trabalho é verificar a preferência de oviposição de grilos de serapilheira, em relação a diferentes níveis de umidade.

REFERÊNCIAS

- BOYCHUK, E. C. et al. Cold tolerance of the montane Sierra leaf beetle, *Chrysomela aeneicollis*. **Journal of Insect Physiology**, v. 81, p. 157–166, 2015.
- BRUGGISSER, O. T. et al. Direct and indirect bottom-up and top-down forces shape the abundance of the orb-web spider *Argiope bruennichi*. **Basic and Applied Ecology**, v. 13, n. 8, p. 706–714, 2012.
- ÇAĞLAR, S. S. et al. Humidity and seasonality drives body size patterns in males of the bush cricket *Isophya rizeensis* Sevgili, 2003 (Orthoptera: Tettigoniidae: Phaneropterinae). **Insect Science**, v. 21, n. 2, p. 213–226, 2014.
- DESTEPHANO, D. B.; BRADY, U. E.; FARR, C. A. Factors Influencing Oviposition Behavior in the Cricket, *Acheta domestiscus*. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 75, n. 2, p. 111–114, 1982.
- GEHRKEN, U.; DOUMBIA, Y. O. Diapause and quiescence in eggs of a tropical grasshopper *Oedaleus senegalensis* (Krauss). **Journal of Insect Physiology**, v. 42, n. 5, p. 483–491, 1996.

GIRARD, C. et al. Integrating top–down and bottom–up approaches to design global change adaptation at the river basin scale. **Global Environmental Change**, v. 34, p. 132–146, 2015.

GREEN, K.; TREGENZA, T. The influence of male ejaculates on female mate search behaviour, oviposition and longevity in crickets. **Animal Behaviour**, v. 77, n. 4, p. 887–892, 2009.

JAMESON, G. W.; MACFARLANE, J. R.; HOGAN, T. W. Esterases in relation to embryonic diapause in the field cricket, *Teleogryllus commodus*. **Insect Biochemistry**, v. 6, n. 1, p. 59–63, 1976.

MCCLUNEY, K. E.; DATE, R. C. The Effects of Hydration on Growth of the House Cricket, *Acheta domestica*. **Journal of Insect Science**, v. 8, n. 32, p. 1–9, 2008.

MONTAGNA, M. et al. Insect community structure and insect biodiversity conservation in an Alpine wetland subjected to an intermediate diversified management regime. **Ecological Engineering**, v. 47, p. 242–246, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Água. In: NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**. v.1. 3º ed. São Paulo: Sarvier, 2002, p.64-85

NETO, S. S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA-NOVA, N. A. Fatores Ecológicos. In:NETO, S. S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA-NOVA, N. A. **Manual de Ecologia dos Insetos**, v. 1. 1º ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1976, p. 34-97.

NORHISHAM, A. R. et al. Effect of humidity on egg hatchability and reproductive biology of the bamboo borer (*Dinoderus minutus* Fabricius). **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2013.

OGAWA, H. et al. Neural mechanism for generating and switching motor patterns of rhythmic movements of ovipositor valves in the cricket. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 2, p. 326–338, 2011.

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. FERNALD, R. Equilíbrio osmótico e iônico. In: RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. FERNALD, R. **Eckert, Fisiologia Animal: Mecanismos e Adaptações**. v.1. 4º ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 2011, p.531-581

SCHMIDT – NIELSEN, K. Água. In: SCHMIDT – NIELSEN, K. **Textos Básicos de Biologia Moderna – Fisiologia Animal**. v.1 1º ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, 2011, p. 57-78.

SRYGLEY, R. B. Effects of temperature and moisture on Mormon cricket reproduction with implications for responses to climate change. **Journal of Insect Physiology**, v. 65, p. 57–62, 2014.

SZINWELSKI, N. et al. Effects of Forest Regeneration on Crickets: Evaluating Environmental Drivers in a 300-Year Chronosequence. **International Journal of Zoology**, v. 2012, p. 1–13, 2012.

TOMIOKA, K. et al. Circadian control of hatching in the cricket, *Gryllus bimaculatus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 37, n. 5, p. 365–371, 1991.

ZHANG, L. et al. Four types of interference competition and their impacts on the ecology and evolution of size-structured populations and communities. **Journal of Theoretical Biology**, v. 380, p. 280–290, 2015.

Capítulo I

Seco ou úmido? Preferência de oviposição de grilos de serrapilheira (Orthoptera: Grylloidea)

Artigo apresentado no Exame de Geral de Qualificação

Artigo nas normas da revista ***Journal of Animal Ecology***

SECO OU ÚMIDO? PREFERÊNCIA DE
OVIPOSIÇÃO DE GRILOS DE
SERRAPILHEIRA (ORTHOPTERA:
GRYLLOIDEA)

Fernando de Farias Martins ^{*a}, Carlos Frankl Sperber ^b e Neucir
Szinwelski ^a

^a Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos
Naturais, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel,
Brasil.

^b Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa,
Viçosa, Brasil.

*Autor correspondente: fernando.martins4@unioeste.br
R. Universitária, 2069 - Jardim Universitário, Cascavel - PR,
85819-110. fone: 554499826382

*fernando.martins4@unioeste.br

Resumo

1. Em insetos que não possuem cuidado parental, a escolha do local de oviposição consiste em uma fase crucial para o desenvolvimento da prole, e a umidade seria um fator determinante nessa escolha. O conhecimento do fator umidade para esses insetos é de extrema importância, já que é negligenciado na maioria dos trabalhos ecológicos, que analisam apenas a temperatura.
2. Grilos de serrapilheira florestal possuem preferência específica para algum nível de umidade?
3. Realizamos um experimento manipulativo em campo, avaliando a oviposição de grilos em relação à umidade do substrato.
4. A preferência de oviposição aumenta linearmente com os níveis de umidade.
5. A umidade é um aspecto importante do nicho ecológico desses animais. Apesar do experimento ser realizado com insetos, existem indicativos de que a disponibilidade de umidade é um fator limitante para diversos grupos de animais, alterando sua distribuição geográfica e abundância. O trabalho também contribui para a conservação biológica de grilos de serrapilheira, através do conhecimento das variáveis ótimas para as populações desses organismos.

Palavras Chave

Ensifera; Experimento de campo; Grilos Neotropicais; Hemimetábolo; Local de oviposição; Orthoptera; Parque Nacional do Iguaçu; Serrapilheira Florestal.

Introdução

1 A distribuição dos organismos é determinada por dois tipos de fatores ecológicos:
2 de cima para baixo (*top-down*) e de baixo para cima (*bottom-up*) (Bruggisser et al.,
3 2012; Girard et al., 2015). Fatores *top-down* controlam as populações por meio de
4 relações tróficas entre os indivíduos, e atuarão devido à presença de predadores,
5 parasitas e competidores. Já fatores *bottom-up*, abrangem recursos e condições
6 necessários para que os organismos sobrevivam e se reproduzam. O conjunto destes
7 fatores foi sintetizado no conceito de nicho ecológico (Hutchinson, 1957).

8 Dentre os fatores *bottom-up*, a escolha do local de oviposição pode ser crucial
9 para a manutenção do *fitness* em espécies que não apresentam cuidado parental
10 (Réale & Roff, 2002; Moriyama & Numata, 2006). Entretanto, há uma disputa en-
11 tre o investimento na produção de ovos (quantidade e tamanho) e a busca por locais
12 adequados para a oviposição (Lack, 1947; Albeny-Simões et al., 2014; Szinwelski
13 et al., 2015). Geralmente o gasto de tempo em busca de substratos adequados
14 resulta no aumento do *fitness* (Rozen et al., 2010). Porém, gastar tempo na busca
15 por locais adequados levaria a diminuição do investimento em reprodução, pois
16 o alto gasto de tempo gera estresse e confusão (Silberbush & Blaustein, 2011).
17 Como na maioria dos insetos são os machos que atraem as fêmeas por meio de
18 feromônios (Yew & Chung, 2015), vibração do substrato (Bell, 1980) e/ou estri-
19 dulação (Forrest, 1991; Zefa et al., 2008), qualquer informação repassada por esses
20 mecanismos sobre a qualidade do macho e do ambiente de seu território favorecerá
21 a escolha da fêmea e diminuirá o tempo de busca por locais adequados para a ovi-
22 posição (Forrest, 1991; Rillich et al., 2009). Fêmeas irão preferir locais protegidos
23 de predadores, dessecação e congelamento (Ross & Harrison, 2006), e que apre-

24 sentem recursos e condições adequados (Loher & Dambach, 1989), pois isso terá
25 efeito positivo sobre a taxa de eclosão (Norhisham et al., 2013), sobrevivência da
26 prole (Pickford, 1966; Potter, 1983), e por fim, sobre as taxas reprodutivas líquidas
27 (Mousseau & Fox, 1998). Assim, os machos que conseguirem repassar informações
28 sobre seu *fitness* e sobre o ambiente que ocupam terão maior sucesso reprodutivo
29 (Bell, 1980; Loher & Dambach, 1989; Zizzari et al., 2009).

30 Dentre os fatores que levam as fêmeas à escolher um sítio de oviposição, a
31 umidade do substrato exerce um papel fundamental (Potter, 1983; Hinton, 1981;
32 Hilker & Meiners, 2011). A umidade é importante na fisiologia, desenvolvimento e
33 metabolismo dos organismos (Nelson & Cox, 2002; Randall et al., 2011). Sua falta,
34 especialmente durante as fases embrionárias e juvenis, influenciará negativamente
35 a síntese de quitina e a quantidade de mudas (ecdises) (Gwynne, 2001), tamanho
36 e peso corporal (McCluney & Date, 2008), coloração (Çağlar et al., 2014), além
37 de afetar a distribuição e abundância de insetos (Chown et al., 2011).

38 Na literatura, entretanto, são escassos estudos que avaliem o efeito que a umi-
39 dade exerce na oviposição de insetos (Hinton, 1981; Potter, 1983; Hertl et al., 2001;
40 Hilker & Meiners, 2011), especialmente porque esse fator é negligenciado em es-
41 tudos científicos, que geralmente se apoiam no efeito da temperatura como fator
42 de relação em padrões reprodutivos (Tauber et al., 1998; Hodek, 2003; Moriyama
43 & Numata, 2006). Embora sejam conhecidos alguns mecanismos que afetam a
44 oviposição de grilos (Orthoptera: Grylloidea), como compostos químicos presen-
45 tes no esperma do macho (Green & Tregenza, 2009), padrões neurais regulados
46 por sensilas associadas ao ovipositor (Ogawa et al., 2011), e temperatura (Srygley,
47 2014), não foi avaliado o efeito que a umidade exerce sobre a oviposição desses
48 insetos.

49 Grilos possuem grande importância ecológica devido ao seu papel fundamental
50 na cadeia trófica de ecossistemas, pois são fonte de alimento para diversos ani-
51 mais (Sperber et al., 2012). Além disso, espécies que vivem na serrapilheira são
52 considerados excelentes bioindicadores, pois respondem de forma rápida, precisa
53 e pontual a impactos e perturbações ambientais, permitindo a identificação e o
54 possível manejo de tais degradações. (Hoffmann et al., 2002; Sperber et al., 2007;
55 Cajaiba, 2012; Szinwelski et al., 2015). Grilos também são amplamente utilizados
56 como modelos biológicos em estudos de bioquímica, fisiologia e biologia molecular
57 (Uryu et al., 2013; Watanabe et al., 2014), citogenética (Zefa et al., 2014), além
58 de estudos em evolução e especiação (Zuk et al., 2006; Tinghitella & Zuk, 2009;
59 Balenger & Zuk, 2015).

60 Nesse trabalho, assumimos que a umidade do substrato é uma dimensão im-
61 portante do nicho ecológico dos grilos, sendo um fator chave para a oviposição,
62 distribuição e abundância desses animais, e avaliamos se a umidade do substrato
63 afeta a preferência de oviposição de grilos de serrapilheira. Baseado na teoria de
64 nicho ecológico (Hutchinson, 1957), na qual organismos apresentam um aspecto
65 ótimo de condições abióticas, com condições sub-ótimas e eventualmente letais em
66 valores extremos, seria esperada uma resposta não linear, em formato de sino, re-
67 lacionada a preferência de oviposição em um substrato com umidade variável. Por
68 outro lado, baseado na resposta de *Acheta domesticus* (Orthoptera: Grylloidea)
69 para disponibilidade de água (McCluney & Date, 2008), um aumento linear da
70 preferência de oviposição relacionado com a umidade do substrato também pode
71 ser esperado. Aqui, testamos hipóteses explicativas de que (i) a umidade do subs-
72 trato afeta a preferência de oviposição, apresentando uma resposta não linear, em
73 forma de sino, e (ii) que a preferência da oviposição aumenta linearmente com a

74 umidade do substrato, até a capacidade máxima de absorção do substrato.

75 **Materiais e métodos**

76 **Área de estudo**

77 O experimento foi realizado no Parque Nacional do Iguaçu (25°37'35"S - 54°27'9"W),
78 em Foz do Iguaçu, Paraná - Brasil, em maio de 2012 (Figura 1). A vegetação local
79 é composta de floresta tropical semi-decidual e ombrófila mista, dentro do bioma
80 Mata Atlântica. O clima da região pode ser classificado como mesotermal sub-
81 tropical úmido, com média anual de temperatura de 19 °C e precipitação de 1600
82 milímetros (Peel et al., 2007; Szinwelski et al., 2012). Na semana de realização
83 do experimento não houve precipitação, porém o tempo estava nublado no último
84 dia.

85 **Desenho experimental**

86 Para testar o efeito da umidade do substrato na preferência de oviposição de gri-
87 los de serrapilheira florestal, a 500 metros distantes da borda da floresta, foram
88 criados 30 transectos paralelos de 100 metros de comprimento e 30 metros dis-
89 tantes uns dos outros. Em cada transecto, a cada 10 metros, foram colocadas 10
90 bandejas plásticas, preenchidas com 29.2 gramas de algodão hidrofílico. Utiliza-
91 mos bandejas de poliestireno, com 10 centímetros de comprimento, 10 centímetros
92 de largura e três centímetros de profundidade. As bandejas foram enterradas no
93 solo, mantendo-se a abertura no nível da serrapilheira. O tratamento consistiu
94 em variar a quantidade de umidade disponível em cada bandeja, de zero a 198

gramas de água, em intervalos de 22 gramas (Figura 2). A disposição das bandejas com cada nível de umidade foi aleatorizada para cada transecto (ver tabela 1 para o procedimento de aleatorização). Utilizamos bandejas de poliestireno, com 10 centímetros de comprimento, 10 centímetros de largura e três centímetros de profundidade.

O experimento ficou instalado no campo durante 48 horas. Após esse período, as bandejas foram retiradas e pesadas, para quantificar a perda ou ganho de água durante o experimento. Após a pesagem, as bandejas foram tampadas e embaladas em plástico filme, para evitar a eclosão dos ovos, e consequentemente a perda de dados. O esforço total de amostragem foi de 300 bandejas, alocadas linearmente nos transectos ($n = 30$). As bandejas foram levadas para o Laboratório, para triagem e contagem dos ovos, com auxílio de estereomicroscópio. A identificação dos ovos foi feita a partir de características morfológicas, específicas para grilos de serrapilheira (Furneau et al., 1969; McFarlane, 1970; Donoughe & Extavour, 2016).

Análise dos dados

Para estimar a preferência de oviposição de grilos em relação a umidade do substrato, usamos a presença ou ausência de ovos nas bandejas como variável resposta binária. Fizemos isso devido a grande quantidade de zeros nos dados coletados, ou seja, muitas bandejas não possuíam nenhum ovo. Portanto, ajustamos modelos binomiais generalizados, com função de ligação canônica e distribuição de erros binomiais (Crawley, 2013).

Para testar se a preferência de oviposição de grilos segue um padrão não linear

118 em forma de sino, em resposta a umidade do substrato, ajustamos GAMM's -
119 Modelos Generalizados Aditivos Mistos (Zuur, 2012), com os níveis de umidade do
120 substrato como termos inteiros, variando de zero (sem adição de água) até nove
121 (198 gramas de água). Também ajustamos GAMM's alternativos, variando o valor
122 de k (*knots* – número de nós), de dois a dez, de modo a lidar com eventuais ten-
123 dências dos resultados ajustados (Zuur, 2012). Nos modelos aditivos, os transectos
124 foram ajustados como efeito aleatório (Gelman & Hill, 2007).

125 Para testar se a preferência de oviposição de grilos segue um padrão linear em
126 resposta a umidade do substrato, ajustamos modelos lineares generalizados mistos
127 (GLMM), com presença/ausência de ovos como variável resposta, e os níveis de
128 umidade como variável explicativa. O número de réplicas foi ajustado como efeito
129 aleatório, com utilização de distribuição binomial. Entretanto, os modelos ajus-
130 tados apresentaram sobre-dispersão, e portanto, foram ajustados com distribuição
131 de erros binomial negativa (*negbin family*), como recomendado por Zuur et al.
132 (2009), Crawley (2013) e Winter & Wieling (2016).

133 Todos os modelos ajustados foram sujeitos a análise de resíduo para avaliar sua
134 adequação aos dados e presença de sub ou sobre-dispersão dos dados. Todas as
135 análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico R, versão 3.2.4
136 (R Core Team, 2016).

137 Resultados

138 No total, foram encontrados 229 ovos de grilos nas bandejas instaladas no campo.
139 Cento e setenta e nove bandejas não apresentaram oviposição, 51 bandejas apre-
140 sentaram um único ovo, 40 bandejas apresentaram dois ovos, 22 bandejas apresen-

141 taram três ovos, e oito bandejas apresentaram quatro ovos.

142 Houve um pequeno número de ovos ovipostos nos níveis menores de umidade (0-
143 3), quando comparado com níveis maiores de umidade de substrato (4-9) (Tabela
144 2). Os três maiores níveis de umidade (9, 8 e 7) apresentaram 123 ovos (54% do
145 total de ovos ovipostos). Os próximos três níveis (6, 5 e 4) apresentaram 85 ovos
146 (37%), e os quatro menores níveis (3, 2, 1 e 0) acumularam 21 ovos (9%). Cerca
147 de 90% dos ovos (208) foram ovipositados nos substratos com umidade maior de
148 44% (níveis 9-4).

149 Dentre todos os modelos generalizados aditivos mistos testados, não encon-
150 tramos evidência de um efeito não linear entre a probabilidade de oviposição e a
151 umidade do substrato ($P > 0.005$). Isso foi corroborado pelo valor do "edf" (*ef-*
152 *fective degrees of freedom* - graus de liberdade efetivos), que variou entre de 0.9 a
153 1.1, indicando a linearidade dos modelos (Zuur et al., 2009; Crawley, 2013).

154 Utilizando modelos lineares generalizados mistos, verificamos que a probabi-
155 lidade de oviposição aumentou linearmente com a umidade do substrato ($\chi^2 =$
156 99.38, $P < 0.001$ - Figura 3).

157 **Discussão**

158 Em nosso estudo, verificamos que os grilos de serrapilheira ovipõem preferencial-
159 mente em locais mais úmidos, pois este seria um fator importante do nicho desses
160 animais e/ou garante maior sucesso reprodutivo. A umidade do substrato é im-
161 portante para a oviposição em insetos, como demonstrado para coleópteros (Potter,
162 1983), paquinhos (Orthoptera: Gryllotalpidae) (Hertl et al., 2001) e interações en-
163 tre a umidade retida pelas plantas e a oviposição de insetos (Hinton, 1981; Hilker &

164 Meiners, 2011). Em todos esses estudos a umidade se correlacionou positivamente
165 com a taxa de postura, sobrevivência e eclosão dos ovos.

166 A umidade afeta a sobrevivência pós-eclosão, e em locais mais úmidos, uma
167 maior proporção de juvenis consegue chegar à fase adulta (Moriyama & Numata,
168 2006). A sobrevivência maior de juvenis pode estar ligada diretamente ao tama-
169 nho corporal dos insetos (Neto et al., 1976; McCluney & Date, 2008). Em grilos,
170 o tamanho corporal e o peso estão relacionados à fertilidade e resistência à des-
171 secação (Gray et al., 2001; Whitman, 2008; Çağlar et al., 2014). Adicionalmente,
172 as fêmeas preferem grilos maiores (Sugano et al., 2008; Branson, 2008) por esses
173 serem melhores competidores e assim ocuparem os territórios com recursos mais
174 abundantes e condições favoráveis (Filin et al., 2008).

175 Para paquinhãs, a umidade tem efeito direto na estridulação (Forrest, 1991).
176 Machos com maior disponibilidade de umidade durante o desenvolvimento con-
177 seguem produzir um volume maior de som. Por meio da estridulação os machos
178 passam para as fêmeas informações de sua aptidão sexual, e portanto sons mais
179 altos tendem a atrair mais fêmeas para o acasalamento (Hertl et al., 2001), por
180 atingirem maiores distâncias. Adicionalmente, além de reconhecer as característi-
181 cas do macho através do som (Alexander, 1957; Bell, 1980; Miyoshi et al., 2007;
182 Zefa et al., 2008), a fêmea recebe informações da umidade do local onde o macho
183 se encontra. Sua escolha, portanto, levará em conta os atributos do macho e se
184 as características do ambiente são favoráveis à postura de seus ovos, garantindo
185 assim, maior sucesso reprodutivo (Hertl et al., 2001). Em nosso experimento não
186 houve controle das espécies que ovipositaram nas bandejas oferecidas. Entretanto,
187 é sabido que a comunidade de grilos da região de estudo é heterogênea (Souza-Dias,
188 2009; Szinwelski et al., 2012), ou seja, há espécies com aparelho estridulatório de-

189 envolvido e espécies não estridulantes. Espécies de grilo que possuem aparelho
190 estridulatório funcional podem apresentar mecanismos de envio de informações se-
191 melhantes ao das paquinhãs. Por outro lado, espécies sem aparelho estridulatório
192 funcional podem reconhecer informações dos machos e de seus territórios por meio
193 de sinais químicos de feromônios, que também são regulados e influenciados pela
194 umidade, devido a alterações nos perfis químicos desses compostos (Yew & Chung,
195 2015).

196 Mesmo havendo preferência pela oviposição em locais úmidos, as fêmeas tam-
197 bém podem colocam seus ovos em locais secos (Réale & Roff, 2002). Isso pode ser
198 explicado pelo comportamento de *bet-hedger* (aposta) (Seeger & Brockmann, 1987;
199 Philippi & Seeger, 1989). Esse termo segue a ideia de que locais com condições am-
200 bientais variáveis e imprevisíveis favorecem genótipos com uma baixa variabilidade
201 de *fitness*. Isso significa que organismos que não utilizam estratégias específicas de
202 reprodução podem ser favorecidos, devido a um aumento da probabilidade da prole
203 desenvolver-se em um ambiente variável, mesmo que em tamanho populacional re-
204 duzido (Hopper, 1999). Desse modo, espécies que apresentam esse comportamento
205 diminuem seu *fitness* a curto prazo, porém em um período maior de tempo, seu
206 *fitness* é aumentado, pois suas populações apresentam menor chance de serem
207 extintas dado a variabilidade ambiental (Olofsson et al., 2009). No caso de ovi-
208 posição em grilos, sob a condição de alta variabilidade de umidade, a oviposição
209 nos diferentes tipos de umidade pode ser um comportamento de aposta. Fêmeas
210 que colocam seus ovos em umidades variáveis teriam maior sucesso reprodutivo do
211 que fêmeas que colocam os ovos sempre na mesma umidade (Réale & Roff, 2002).
212 Esse comportamento pode explicar a presença de ovos em praticamente todos os
213 níveis de umidade em nosso experimento (mesmo que em pequenas quantidades

214 nos menores níveis).

215 Em substratos secos, a oviposição acontece em uma camada profunda do solo,
216 o que propicia maior proteção contra a dessecação. A profundidade de oviposição
217 constitui, portanto, um mecanismo adicional de aposta. Quando a umidade no
218 substrato é elevada, os ovos tendem a ser ovipostos em camadas superficiais, já
219 que a dessecação é menor e o desenvolvimento é mais rápido, devido a facilidade
220 dos ovos absorverem água (100% do seu peso) durante a embriogênese (Fur-
221 neaux et al., 1969; Loher & Dambach, 1989; McFarlane, 1970). Além disso, a taxa de
222 mortalidade é baixa nos ovos colocados em profundidades menores, pois os grilos
223 recém eclodidos conseguem escavar facilmente para fora do substrato. Juvenis que
224 eclodem em solos secos e profundidades maiores possuem maior dificuldade em
225 escavar o solo, e suas taxas de sobrevivência são reduzidas (Moriyama & Numata,
226 2006). Nosso trabalho não avaliou a profundidade da postura dos ovos de grilos,
227 mas Réale & Roff (2002) demonstraram que fêmeas ovipõem mais profundamente
228 em substratos secos do que substratos úmidos, sem haver diferença no número de
229 ovos colocados em cada substrato. Entretanto, somente dois níveis de umidades
230 foram testados pelos autores, e isso pode ter influenciado o comportamento de
231 aposta pela falta de opções de substrato para oviposição, levando ao número similar
232 de ovos colocados em cada um destes.

233 Umidade também está relacionada com a interrupção do desenvolvimento em-
234 brionário nos insetos, chamada de diapausa, que consiste na interrupção da embrio-
235 gênese, devido à exposição desses organismos a um período ambiental desfavorável
236 (Gehrken & Doumbia, 1996; Ruppert et al., 2005; Boychuk et al., 2015). Em es-
237 peranças (Orthoptera: Tettigoniidae) foi verificado que a umidade é um fator que
238 "liga e desliga" esse processo fisiológico (Ingrisch, 1996). Deste modo, níveis bai-

239 xos de umidade ativariam a diapausa (ambiente desfavorável), e níveis elevados de
240 umidade a encerrariam (ambiente favorável). A diapausa é um importante meca-
241 nismo evolutivo, permitindo às populações persistirem ao longo do tempo (Hodek,
242 2003), além de ampliarem a sua distribuição (Bang et al., 2011).

243 Seria esperado que a alta umidade no substrato criasse um ambiente propício
244 para o crescimento e desenvolvimento de fungos e bactérias, que podem causar
245 infecções nos ovos e torná-los inviáveis (Butenschoen & Scheu, 2014; Makita &
246 Fujii, 2015). Entretanto, os ovos dos grilos possuem revestimentos de ceras e ca-
247 madas específicas que garantem proteção contra patógenos (Furneaux et al., 1969).
248 Adicionalmente, dos embriões aos adultos ocorre a presença de lisozimas específi-
249 cas na hemolinfa, que atuam como antibióticos e conferem a proteção necessária
250 (Schneider, 1985).

251 A umidade dentro da floresta é variável e a chuva representa a principal fonte
252 de umidade. Determinados locais no ambiente mantêm a umidade independente
253 de precipitação (Wilcox & Murphy, 1985), pela retenção de água ou retardo da
254 evaporação (Subramanian & Sivaramakrishnan, 2005; Groll et al., 2016). Em nosso
255 experimento, as fêmeas identificaram o substrato ofertado, demonstrando a busca
256 por níveis adequados de umidade para a oviposição, apesar do baixo número de
257 ovos encontrados.

258 O baixo número de ovos nas bandejas contrasta com a média de ovos coloca-
259 dos por fêmeas de grilos de serrapilheira (Loher & Dambach, 1989). Mas o baixo
260 número de ovos pode ser explicado pela textura do substrato oferecido durante o
261 experimento (algodão). A textura do substrato de oviposição é um fator avaliado
262 pelas fêmeas, e o fazem por meio de receptores nos palpos e no ovipositor (Des-
263 tephano et al., 1982). Algodão não é um substrato comum para esses insetos, e

264 seria preterido por substratos comuns de oviposição, como solo, galhos e folhiços
265 vegetais (Loher & Dambach, 1989; Bradford et al., 1993; Sperber et al., 2012).
266 Além do mais, no caso de não encontrar um substrato adequado, fêmeas podem
267 não ovipor naquele momento simplesmente atrasando a oviposição (Hertl et al.,
268 2001), ou colocando uma quantidade reduzida de ovos, para evitar gasto de energia
269 (Ghouri & McFarlane, 1958). Este pode ter sido o caso do baixo número de ovos
270 em nosso experimento.

271 Apesar do experimento ser realizado com grilos, podemos esperar que a dispo-
272 nibilidade de umidade é um fator limitante para a oviposição de diversos grupos de
273 insetos e outros animais. A disponibilidade desse fator pode alterar a distribuição
274 geográfica e abundância desses organismos, especialmente no caso de um déficit,
275 no qual as populações seriam gravemente afetadas, devido à diminuição das taxas
276 de recrutamento (Gehrken & Doumbia, 1996). Este trabalho contribui para a con-
277 servação biológica de grilos neotropicais de serrapilheira, através do conhecimento
278 do efeito de uma variável abiótica sobre uma etapa crítica do desenvolvimento e
279 reprodução desses organismos. Informações relacionadas à biologia dos animais
280 são extremamente importantes para a conservação, pois permitem conhecer carac-
281 terísticas do ciclo de vida, suas taxas de natalidade e mortalidade, seu padrão de
282 distribuição, sua importância nas cadeias tróficas e seu estado de vulnerabilidade.

283 Agradecimentos

284 Agradecemos L. Chaiben, M. Johann, R. Tarka, T. Lombado, V. Silva e V. Ri-
285 beiro, pelo auxílio durante o experimento de campo e triagem das amostras no
286 laboratório; M. Fianco, J. Ricci, S. Magro, V. Prasniewski e D. Albeny-Simões

287 pelas sugestões na redação do manuscrito; ao Parque Nacional do Iguaçu e as
288 instituições de fomento: FAPEMIG, Fundação Araucária, CAPES e CNPQ. Este
289 artigo é parte do mestrado de F. Farias-Martins (Programa de Pós-Graduação em
290 Conservação e Manejo de Recursos Naturais - UNIOESTE).

291 Acessibilidade dos dados

292 Os dados brutos do trabalho serão disponibilizados no repositório DRYAD (www.dryad.com), após a submissão do artigo para a revista, conforme normas da
293 mesma.
294

295 Referências

- 296 Albeny-Simões, D., Murrell, E. G., Elliot, S. L., Andrade, M. R., Lima, E., Juliano,
297 S. A., & Vilela, E. F. (2014). Attracted to the enemy: *Aedes aegypti* prefers
298 oviposition sites with predator-killed conspecifics. *Oecologia*, 175(2), 481–492.
- 299 Alexander, R. D. (1957). Sound production and associated behavior in insects.
300 *The Ohio Journal of Science*, 57(2), 101–113.
- 301 Balenger, S. L. & Zuk, M. (2015). Roaming Romeos: Male crickets evolving in
302 silence show increased locomotor behaviours. *Animal Behaviour*, 101, 213–219.
- 303 Bang, H. S., Shim, J. K., Jung, M. P., Kim, M. H., Kang, K. K., Lee, D. B., & Lee,
304 K. Y. (2011). Temperature effects on embryonic development of *Paratlanticus*
305 *ussuriensis* (Orthoptera: Tettigoniidae) in relation to its prolonged diapause.
306 *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14(3), 373–377.
- 307 Bell, P. D. (1980). Multimodal communication by the black-horned tree cricket,
308 *Oecanthus nigricornis* (Walker) (Orthoptera: Gryllidae). *Canadian Journal of*
309 *Zoology*, 58(10), 1861–1868.
- 310 Boychuk, E. C., Smiley, J. T., Dahlhoff, E. P., Bernards, M. a., Rank, N. E., & Sin-
311 clair, B. J. (2015). Cold tolerance of the montane Sierra leaf beetle, *Chrysomela*
312 *aeneicollis*. *Journal of Insect Physiology*, 81, 157–166.
- 313 Bradford, M. J., Guerette, P. A., & Roff, D. A. (1993). Testing hypotheses of
314 adaptive variation in cricket ovipositor lengths. *Oecologia*, 93(2), 263–267.

- 315 Branson, D. H. (2008). Influence of individual body size on reproductive traits
316 in melanopline grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Orthoptera*
317 *Research*, 17(2), 259–263.
- 318 Bruggisser, O. T., Sandau, N., Blandenier, G., Fabian, Y., Kehrli, P., Aebi, A.,
319 Naisbit, R. E., & Bersier, L. F. (2012). Direct and indirect bottom-up and
320 top-down forces shape the abundance of the orb-web spider *Argiope bruennichi*.
321 *Basic and Applied Ecology*, 13, 706–714.
- 322 Butenschoen, O. & Scheu, S. (2014). Climate change triggers effects of fungal
323 pathogens and insect herbivores on litter decomposition. *Acta Oecologica*, 60,
324 49–56.
- 325 Cajaiba, R. L. (2012). Ocorrência do grilo *Endecous* em quatro cavernas no mu-
326 nicípio de Uruará - PA, Brasil. *EntomoBrasilis*, 5(2), 120–124.
- 327 Çağlar, S. S., Karacaoğlu, Ç., Kuyucu, A. C., & Sağlam, I. K. (2014). Humidity
328 and seasonality drives body size patterns in males of the bush cricket *Isophya*
329 *rizeensis* Sevgili, 2003 (Orthoptera: Tettigoniidae: Phaneropterinae). *Insect*
330 *Science*, 21(2), 213–226.
- 331 Chown, S. L., Sørensen, J. G., & Terblanche, J. S. (2011). Water loss in insects: An
332 environmental change perspective. *Journal of Insect Physiology*, 57(8), 1070–
333 1084.
- 334 Crawley, M. J. (2013). *The R Book* (2 ed.). West Sussex: John Wiley & Sons,
335 Ltd.
- 336 Destephano, D. B., Brady, E. U., & Farr, C. A. (1982). Factors Influencing Oviposi-
337 tion Behavior in the Cricket, *Acheta domesticus*. *Annals of the Entomological*
338 *Society of America*, 75(2), 111–114.
- 339 Donoughe, S. & Extavour, C. G. (2016). Embryonic development of the cricket
340 *Gryllus bimaculatus*. *Developmental biology*, 411, 140–156.
- 341 Federle, W., Barnes, W. J. P., Baumgartner, W., Drechsler, P., & Smith, J. (2006).
342 Wet but not slippery: Boundary friction in tree frog adhesive toe pads. *Journal*
343 *of the Royal Society Interface*, 3(10), 689–697.
- 344 Filin, I., Schmitz, O. J., & Ovadia, O. (2008). Consequences of individual size vari-
345 ation for survival of an insect herbivore: An analytical model and experimental
346 field testing using the red-legged grasshopper. *Journal of Orthoptera Research*,
347 17(2), 283–291.

- 348 Forrest, T. G. (1991). Power output and efficiency of sound production by crickets.
349 *Behavioral Ecology*, 2(4), 327–338.
- 350 Furneaux, P. J. S., James, C. R., & Potter, S. A. (1969). The egg shell of the
351 house cricket (*Acheta domestica*): An electron-microscope study. *Journal of*
352 *Cell science*, 5(1), 227–249.
- 353 Gehrken, U. & Doumbia, Y. O. (1996). Diapause and quiescence in eggs of a tro-
354 pical grasshopper *Oedaleus senegalensis* (Krauss). *Journal of Insect Physiology*,
355 42(5), 483–491.
- 356 Gelman, A. & Hill, J. (2007). *Data analysis using regression and multile-*
357 *vel/hierarchical models* (1 ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- 358 Ghouri, A. S. K. & McFarlane, J. E. (1958). Observations on the Development of
359 Crickets. *The Canadian Entomologist*, 90, 158–165.
- 360 Girard, C., Pulido-Velazquez, M., Rinaudo, J.-D., Pagé, C., & Caballero, Y.
361 (2015). Integrating top-down and bottom-up approaches to design global
362 change adaptation at the river basin scale. *Global Environmental Change*, 34,
363 132–146.
- 364 Gray, D. A., Walker, T. J., Conley, B. E., & Cade, W. H. (2001). A morphological
365 means of distinguishing females of the cryptic field cricket species, *Gryllus rubens*
366 and *G. texensis* (Orthoptera: Gryllidae). *Florida Entomologist*, 84(2), 314–315.
- 367 Green, K. & Tregenza, T. (2009). The influence of male ejaculates on female
368 mate search behaviour, oviposition and longevity in crickets. *Animal Behaviour*,
369 77(4), 887–892.
- 370 Groll, M., Thomas, A., Jungermann, L., & Schäfer, K. (2016). Typology of ri-
371 verbed structures and habitats (TRiSHa) - A new method for a high resolution
372 characterization of the spatial distribution and temporal dynamic of riverbed
373 substrates and microhabitats. *Ecological Indicators*, 61, 219–233.
- 374 Gwynne, D. T. (2001). *Katydid and bush-Crickets: Reproductive behaviour and*
375 *evolution of the Tettigoniidae* (1 ed.). Ithaca and London: Cornell University
376 Press.
- 377 Hertl, P. T., Brandenburg, R. L., & Barbercheck, M. E. (2001). Effect of soil
378 moisture on ovipositional behavior in the southern mole cricket (Orthoptera:
379 Gryllotalpidae). *Environmental Entomology*, 30(3), 466–473.
- 380 Hilker, M. & Meiners, T. (2011). Plants and insect eggs: How do they affect each
381 other? *Phytochemistry*, 72(13), 1612–1623.

- 382 Hinton, H. E. (1981). *Biology of insect eggs* (1 ed.). Oxford: Pergamon Press.
- 383 Hodek, I. (2003). Role of water and moisture in diapause development (A review).
384 *Eur. J. Entomol*, 100, 223–232.
- 385 Hoffmann, B. D., Lowe, L. M., & Griffiths, A. D. (2002). Reduction in cricket
386 (Orthoptera: Ensifera) populations along a gradient of sulphur dioxide from mi-
387 ning emissions in northern Australia. *Australian Journal of Entomology*, 41(2),
388 182–186.
- 389 Hopper, K. R. (1999). Risk-spreading and bet-hedging in insect population biology.
390 *Annual Review of Entomology*, 44(1), 535–560.
- 391 Hutchinson, G. E. (1957). Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on*
392 *Quantitative Biology*, 22, 415–427.
- 393 Ingrisch, S. (1996). Evidence of an embryonic diapause in a tropical Phaneropte-
394 rinae (Insecta Ensifera Tettigonioidea). *Tropical Zoology*, 9(2), 431–439.
- 395 Lack, D. (1947). The significance of clutch-size. *Ibis - International Journal of*
396 *Avian Science*, 89(2), 302–352.
- 397 Loher, W. & Dambach, M. (1989). Reproductive Behavior. In F. Huber, T. E.
398 Moore, & W. Loher (Eds.), *Cricket Behavior and Neurobiology* (1 ed.). (pp.
399 43–82). New York: Cornell University Press.
- 400 Makita, N. & Fujii, S. (2015). Tree species effects on microbial respiration from
401 decomposing leaf and fine root litter. *Soil Biology and Biochemistry*, 88, 39–47.
- 402 McCluney, K. E. & Date, R. C. (2008). The Effects of Hydration on Growth of
403 the House Cricket, *Acheta domesticus*. *Journal of Insect Science*, 8(32), 1–9.
- 404 McFarlane, J. (1970). The permeability of the cricket egg shell. *Comparative*
405 *Biochemistry and Physiology*, 37(2), 133–141.
- 406 Miyoshi, A. R., Zefa, E., Martins, L. d. P., Dias, P. G. B. S., Drehmer, C. J., &
407 Dornelles, J. E. F. (2007). Stridulatory file and calling song of two populati-
408 ons of the tropical bush cricket *Eneoptera surinamensis* (Orthoptera, Gryllidae,
409 Eneopterinae). *Iheringia. Série Zoologia*, 97(4), 461–465.
- 410 Moriyama, M. & Numata, H. (2006). Induction of egg hatching by high humidity in
411 the cicada *Cryptotympana facialis*. *Journal of Insect Physiology*, 52, 1219–1225.
- 412 Mousseau, T. A. & Fox, C. W. (1998). The adaptive significance of maternal
413 effects. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(10), 403–407.

- 414 Nelson, D. L. & Cox, M. M. (2002). Água. In D. Nelson & M. M. Cox (Eds.),
415 *Lehninger: Princípios de Bioquímica* (3 ed.). (pp. 64–85). São Paulo: Sarvier.
- 416 Neto, S., Nakano, O., Barbin, D., & Villa-Nova, N. A. (1976). Fatores ecológicos. In
417 S. Neto, O. Nakano, D. Barbin, & N. A. Villa-Nova (Eds.), *Manual de Ecologia*
418 *dos Insetos* (1º ed.). (pp. 34–97). São Paulo: Editora Agronômica Ceres.
- 419 Norhisham, A. R., Abood, F., Rita, M., & Hakeem, K. R. (2013). Effect of
420 humidity on egg hatchability and reproductive biology of the bamboo borer
421 (*Dinoderus minutus* Fabricius). *SpringerPlus*, 2(9), 1–6.
- 422 Ogawa, H., Kagaya, K., Saito, M., & Yamaguchi, T. (2011). Neural mechanism for
423 generating and switching motor patterns of rhythmic movements of ovipositor
424 valves in the cricket. *Journal of Insect Physiology*, 57(2), 326–338.
- 425 Olofsson, H., Ripa, J., & Jonzén, N. (2009). Bet-hedging as an evolutionary game:
426 The trade-off between egg size and number. *Proceedings of The Royal Society*
427 *B*, 2963–2969.
- 428 Peel, M. C., Finlayson, B. L., & McMahon, T. A. (2007). Updated world map of
429 the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences*,
430 11(2007), 1633–1644.
- 431 Philippi, T. & Seger, J. (1989). Hedging one's evolutionary bets, revisited. *Trends*
432 *in Ecology & Evolution*, 4(2), 2–5.
- 433 Pickford, R. (1966). Development, survival and reproduction of *Camnula pellucida*
434 (Scudder) (Orthoptera: Acrididae) in relation to climatic conditions. *Canadian*
435 *Entomologist*, 98(2), 158–169.
- 436 Potter, D. A. (1983). Effect of soil moisture on oviposition water absorption, and
437 survival of southern masked chafer (Coleoptera: Scarabaeidae) eggs. *Environ-*
438 *mental Entomology*, 12(4), 1223–1227.
- 439 R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing.
- 440 Randall, D., Burggren, W., French, K., & Fernald, R. (2011). Equilíbrio osmótico
441 e iônico. In D. Randall, W. Burggren, K. French, & R. Fernald (Eds.), *Eckert:*
442 *Fisiologia Animal: Mecanismos e Adaptações*. (4º ed.). (pp. 531–581). Rio de
443 Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A.
- 444 Réale, D. & Roff, D. A. (2002). Quantitative genetics of oviposition behaviour and
445 interactions among oviposition traits in the sand cricket. *Animal Behaviour*,
446 64(3), 397–406.

- 447 Rillich, J., Buhl, E., Schildberger, K., & Stevenson, P. A. (2009). Female crickets
448 are driven to fight by the male courting and calling songs. *Animal Behaviour*,
449 77(3), 737–742.
- 450 Ross, C. L. & Harrison, R. G. (2006). Viability selection on overwintering eggs in
451 a field cricket mosaic hybrid zone. *OIKOS*, 115(1), 53–68.
- 452 Rozen, J. G., Özbek, H., Ascher, J. S., Sedivy, C., Praz, C., Monfared, A., &
453 Müller, A. (2010). Nests, petal usage, floral preferences, and immatures of
454 *Osmia* (*Ozbekosmia*) *avosetta* (Megachilidae: Megachilinae: Osmiini), including
455 biological comparisons with other Osmiine bees. *American Museum Novitates*,
456 3680(3680), 1–22.
- 457 Ruppert, E. E., Fox, R. S., & Barnes, R. D. (2005). *Zoologia de Invertebrados* (7
458 ed.). São Paulo: Ed. Rocca.
- 459 Schneider, P. M. (1985). Purification and properties of three lysozymes from he-
460 molymph of the cricket, *Gryllus bimaculatus* (De Geer). *Insect Biochemistry*,
461 15(4), 463–470.
- 462 Seger, J. & Brockmann, H. J. (1987). What is bet-hedging? In P. Harvey &
463 L. Partridge (Eds.), *Oxford Surveys in Evolutionary Biology* (4 ed.), volume 4
464 (pp. 182–211). Oxford: Oxford University Press.
- 465 Silberbush, A. & Blaustein, L. (2011). Mosquito females quantify risk of predation
466 to their progeny when selecting an oviposition site. *Functional Ecology*, 25(5),
467 1091–1095.
- 468 Souza-Dias, P. G. B. (2009). *Novos táxons de Grylloidea da floresta latifoliada*
469 *semidecídua da região de Foz Do Iguaçu-PR (Orthoptera, Ensifera)*. PhD thesis,
470 Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
- 471 Sperber, C. F., Mews, C. F., Lhano, M. G., Chamorro, J., & Mesa, A. (2012).
472 Orthoptera - Oliver 1791. In R. Albertino, G. A. R. De Melo, C. J. De Carvalho,
473 S. Casari, & R. Constantino (Eds.), *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*
474 (1 ed.). (pp. 272–273). Ribeirão Preto: Holos Editora.
- 475 Sperber, C. F., Soares, L. G. S., & Pereira, M. R. (2007). Litter disturbance
476 and trap spatial positioning affects number of captured individuals and genera
477 of crickets (Orthoptera: Grylloidea). *Journal of Orthoptera Research*, 16(1),
478 77–83.
- 479 Srygley, R. B. (2014). Effects of temperature and moisture on Mormon cricket
480 reproduction with implications for responses to climate change. *Journal of Insect*
481 *Physiology*, 65, 57–62.

- 482 Subramanian, K. A. & Sivaramakrishnan, K. G. (2005). Habitat and microhabitat distribution of stream insect communities of the Western Ghats. *Current Science*, 89(6), 976–987.
- 485 Sugano, Y. C., Sasaki, Y., & Akimoto, S. (2008). Effects of body size and shape on mating frequency in the brachypterous grasshopper *Podisma sapporensis*. *Journal of Orthoptera Research*, 17(2), 243–248.
- 488 Szinwelski, N., Rosa, C. S., De Castro Solar, R. R., & Sperber, C. F. (2015). Aggregation of cricket activity in response to resource addition increases local diversity. *PLoS ONE*, 10(10), 1–11.
- 491 Szinwelski, N., Rosa, C. S., Schoereder, J. H., Mews, C. M., & Sperber, C. F. (2012). Effects of forest regeneration on crickets: Evaluating environmental drivers in a 300-year chronosequence. *International Journal of Zoology*, 2012, 1–13.
- 495 Tauber, M. J., Tauber, C. A., Nyrop, J. P., & Villani, M. G. (1998). Moisture, a vital but neglected factor in the seasonal ecology of insects: Hypotheses and tests of mechanisms. *Environmental Entomology*, 27(3), 523–530.
- 498 Tinghitella, R. M. & Zuk, M. (2009). Asymmetric mating preferences accommodated the rapid evolutionary loss of a sexual signal. *Evolution*, 63(8), 2087–2098.
- 500 Uryu, O., Karpova, S. G., & Tomioka, K. (2013). The clock gene cycle plays an important role in the circadian clock of the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Journal of Insect Physiology*, 59(7), 697–704.
- 503 Watanabe, T., Noji, S., & Mito, T. (2014). Geneknockout by targeted mutagenesis in a hemimetabolous insect, the two-spotted cricket *Gryllus bimaculatus*, using TALENs. *Methods in Molecular Biology*, 1338(1), 143–155.
- 506 Whitman, D. W. (2008). The significance of body size in the Orthoptera: a review. *Journal of Orthoptera Research*, 17(2), 117–134.
- 508 Wilcox, B. A. & Murphy, D. D. (1985). Conservation Strategy: The Effects of Fragmentation on Extinction. *The American Naturalist*, 125(6), 879.
- 510 Winter, B. & Wieling, M. (2016). How to analyze linguistic change using mixed models, Growth Curve Analysis and Generalized Additive Modeling. *Journal of Language Evolution*, 1(1), 7–18.
- 513 Yew, J. Y. & Chung, H. (2015). Insect pheromones: An overview of function, form, and discovery. *Progress in Lipid Research*, 59, 88–105.

- 515 Zefa, E., Martins, L. D. P., & Szinwelski, N. (2008). Complex mating behavior in
516 *Adelosgryllus rubricephalus* (Orthoptera, Phalangopsidae, Grylloidea). *Iherin-*
517 *gia. Série Zoologia*, 98(3), 325–328.
- 518 Zefa, E., Redu, D., Matiotti da Costa, M. K., Fontanetti, C., Gottschalk, M.,
519 Padilha, G., Fernandes e Silva, A., & Martins, L. (2014). A new species of
520 *Endecous* Saussure, 1878 (Orthoptera, Gryllidae) from northeast Brazil with
521 the first X1X20 chromosomal sex system in Gryllidae. *Zootaxa*, 3847(1), 125–
522 132.
- 523 Zizzari, Z. V., Braakhuis, A., van Straalen, N. M., & Ellers, J. (2009). Female
524 preference and fitness benefits of mate choice in a species with dissociated sperm
525 transfer. *Animal Behaviour*, 78(5), 1261–1267.
- 526 Zuk, M., Rotenberry, J. T., & Tinghitella, R. M. (2006). Silent night: adaptive
527 disappearance of a sexual signal in a parasitized population of field crickets.
528 *Biology letters*, 2(4), 521–524.
- 529 Zuur, A. F. (2012). *A Beginner’s Guide to Generalized Additive Models with R* (1
530 ed.). Newburgh: Highland Statistics Ltd.
- 531 Zuur, A. F., Ieno, E. N., Walker, N. J., Saveliev, A. A., & Smith, G. M. (2009).
532 *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R* (1 ed.), volume 1. New
533 York: Springer.

534 Legenda das tabelas

535 **Tabela 1.** Aleatorização da disposição das bandejas em cada transecto do expe-
536 rimento. Parque Nacional do Iguaçu, 2012.

537 **Tabela 2.** Número de ovos encontrados em cada nível de umidade, após 48 horas
538 do experimento. Parque Nacional do Iguaçu, 2012.

Tabela 1:

Transecto	Ordem aleatória das bandejas
1	8, 9, 5, 7, 6, 2, 1, 3, 4, 0
2	5, 7, 8, 1, 6, 2, 0, 9, 3, 4
3	0, 7, 4, 2, 6, 3, 9, 8, 5, 1
4	5, 7, 0, 4, 9, 6, 2, 3, 1, 8
5	1, 6, 4, 3, 9, 0, 2, 7, 8, 5
6	4, 3, 7, 6, 1, 0, 5, 2, 8, 9
7	9, 4, 3, 6, 7, 5, 8, 1, 0, 2
8	7, 5, 1, 4, 3, 2, 0, 8, 9, 6
9	7, 9, 8, 4, 2, 1, 6, 0, 3, 5
10	8, 9, 0, 1, 2, 6, 3, 7, 5, 4
11	7, 0, 8, 1, 3, 9, 4, 2, 6, 5
12	7, 8, 6, 1, 5, 9, 4, 3, 0, 2
13	4, 7, 9, 5, 1, 2, 0, 3, 6, 8
14	1, 9, 2, 5, 3, 6, 4, 8, 7, 0
15	2, 0, 5, 1, 8, 3, 7, 6, 4, 9
16	3, 0, 7, 1, 5, 2, 9, 8, 4, 6
17	9, 0, 1, 3, 4, 7, 5, 8, 6, 2
18	2, 4, 9, 8, 1, 0, 5, 6, 3, 7
19	2, 3, 9, 5, 8, 0, 6, 1, 7, 4
20	1, 2, 6, 8, 9, 0, 4, 7, 5, 3
21	1, 5, 0, 9, 7, 6, 3, 2, 4, 8
22	1, 7, 8, 6, 3, 5, 2, 0, 9, 4
23	9, 3, 1, 2, 5, 4, 6, 8, 7, 0
24	5, 3, 2, 8, 1, 9, 4, 0, 7, 6
25	6, 3, 2, 5, 8, 0, 9, 7, 4, 1
26	4, 7, 6, 2, 9, 5, 3, 8, 0, 1
27	9, 2, 6, 8, 5, 7, 1, 4, 0, 3
28	8, 4, 1, 5, 0, 7, 6, 2, 9, 3
29	6, 3, 8, 1, 4, 9, 7, 2, 5, 0
30	6, 9, 5, 3, 8, 7, 2, 0, 4, 1

Tabela 2:

Níveis de umidade/g de Água	Nº de Ovos
0 (0 g)	3
1 (22 g)	3
2 (44 g)	9
3 (66 g)	6
4 (88 g)	12
5 (110 g)	29
6 (132 g)	44
7 (154 g)	44
8 (176 g)	39
9 (198 g)	40
Total	229

539 **Legenda das figuras**

540 **Figura 1.** Parque Nacional do Iguaçu (Foz do Iguaçu - Brasil). A estrela repre-
541 senta as coordenadas geográficas do local de realização do experimento.

542 **Figura 2.** Ilustração do desenho experimental. Trinta transectos com dez trata-
543 mentos cada (níveis de umidade), completamente aleatorizados.

544 **Figura 3.** Probabilidade de oviposição (variável binária) em função do nível de
545 umidade em campo. O tamanho dos círculos representa a sobreposição de obser-
546 vações em um nível de umidade (número de ovos). A curva representa o modelo
547 mínimo adequado da regressão logística ajustada.

Figura 1:

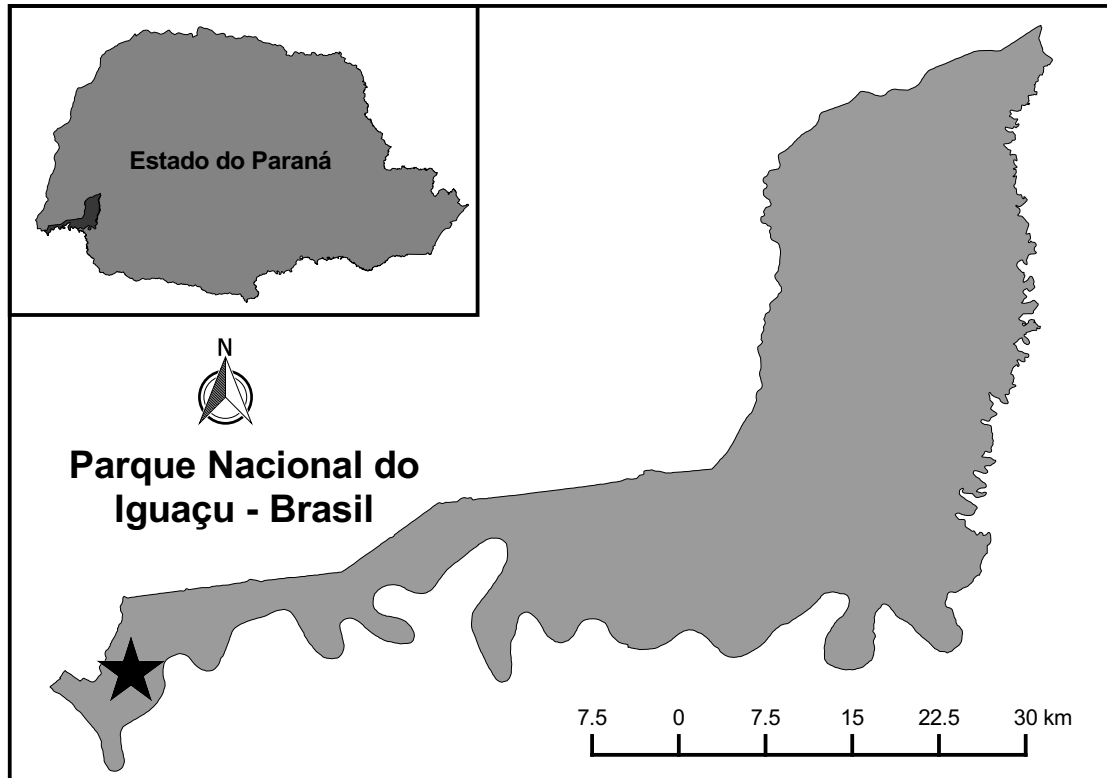
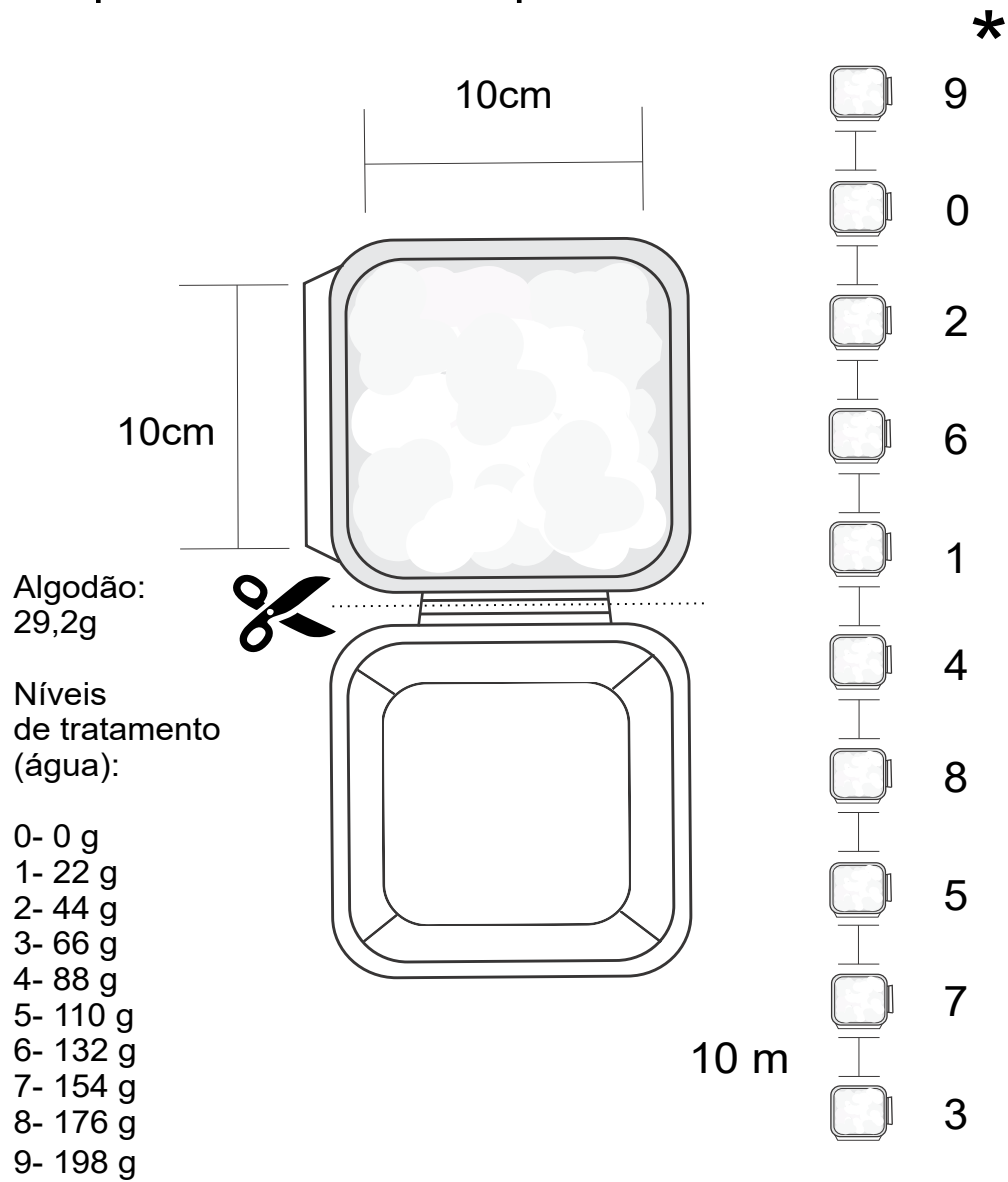


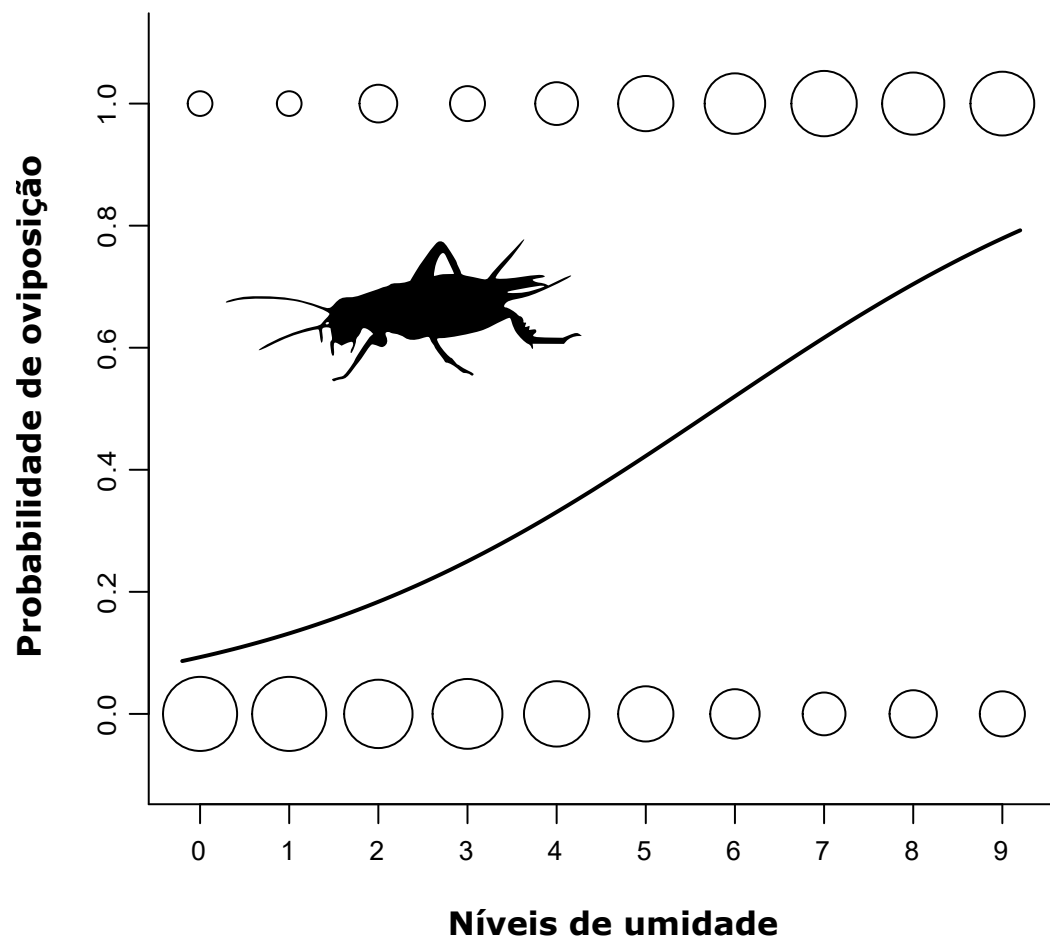
Figura 2:

Experimento de campo



*A ordem dos níveis de tratamento foi aleatorizada para cada transecto (n=30).
Ver tabela 1 para o procedimento de aleatorização.

Figura 3:



Capítulo II

Grilos de serrapilehira preferem substratos com alta umidade para oviposição:
evidência em experimentos de campo e laboratório com *Ubiquepuella telytokous*
(Orthoptera: Grylloidea: Phalangopsidae)

Artigo apresentado na defesa da dissertação do mestrado

Artigo nas normas da revista ***Plos One***

Grilos de Serrapilheira Preferem Substratos com Alta Umidade para Oviposição: Evidência em Experimentos de Campo e Laboratório com *Ubiquepuella telytokous* (Orthoptera: Grylloidea: Phalangopsidae)

Fernando de Farias-Martins^{1,2*}, Carlos Frankl Sperber⁴, Daniel Albeny-Simões³, Marcos Fianco¹, Jennifer Ann Breau³, Neucir Szinwelski¹

1 Laboratório de Orthoptera, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná, Brazil.

2 Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná, Brazil.

3 Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Comunitária da Região de Chapecó, Chapecó, Santa Catarina, Brazil.

4 Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

*fernando.martins4@unioeste.br

Resumo

Para espécies que não apresentam cuidados parentais, tais como insetos ovíparos, a escolha de um local de oviposição favorável é de extrema importância para o sucesso da prole. A teoria do nicho prevê que a oviposição de grilos deve mostrar uma resposta em forma de sino à umidade do substrato. Entretanto, pelo menos um experimento de laboratório com paquinhos indicou uma resposta de oviposição linear em relação a umidade do substrato. O grilo doméstico *Acheta domestica* também apresenta um crescimento corporal dos juvenis linear em relação a umidade do substrato, o que sugere uma relação positiva entre umidade e preferência de oviposição. Aqui testamos a relação entre a frequência de oviposição e a umidade do substrato em espécies de grilos de serrapilheira florestal, primariamente compostas de *Ubiquepuella telytokous*, utilizando experimentos de campo. Também testamos as respostas de oviposição de *U. telytokous* em experimentos de laboratório. Oferecemos substratos de oviposição que variaram a umidade de zero por cento até a capacidade máxima de absorção do substrato. A preferência de oviposição foi estimada utilizando presença ou ausência de ovos como uma variável resposta binária, regressão logística ajustada (GAMM) para testar respostas não lineares, e GLMs para testar respostas lineares. Verificamos que a probabilidade de oviposição aumenta linearmente com a umidade do substrato para *U. telytokous*, nos experimentos de campo e laboratório. Nossos resultados demonstram a importância da umidade do substrato como requisito de nicho ecológico para *Ubiquepuella telytokous*. Este trabalho reforça o conhecimento da associação de história de vida de grilos com a umidade, e sugere que esses organismos podem ser particularmente ameaçados por mudanças climáticas que tornam habitats áridos.

Introdução

A distribuição de organismos em um ambiente resulta de dois mecanismos de regulação opostos e simultâneos: “Top-down” (cima para baixo) e “Bottom-up” (baixo para cima) [1,2]. Os mecanismos “Top-down” controlam populações por meio de interações tróficas entre indivíduos (por exemplo: predação, competição e parasitismo). Já os mecanismos “Bottom-up” estão relacionados com a produção primária e incluem a disponibilidade de recursos e o conjunto de condições físicas que afetam a sobrevivência e reprodução. O conceito de nicho ecológico sintetiza a influência das forças “Top-down” e “Bottom-up” nas áreas de ocupação física das espécies [3], e nesse quadro o nicho fundamental é reduzido ao nicho realizado [4]. Dentre os comportamentos de grilos influenciados por fatores “Bottom-up”, a escolha do local de oviposição é crucial para o “fitness” da prole, especialmente em espécies sem cuidado parental [5,6]. Fêmeas deverão preferir locais que ofereçam proteção contra predadores, dessecação e congelamento [7], assim como locais com disponibilidade de recursos adequada e condições físicas apropriadas [8], para garantir altas taxas de eclosão [9], probabilidade de sobrevivência da prole [10,11], e consequentemente, altas taxas reprodutivas líquidas [12].

A umidade do substrato está entre os fatores mais importantes para a seleção do local de oviposição de grilos [13,14], pois exerce efeitos na fisiologia, no desenvolvimento e no metabolismo [15,16]. A limitação ao acesso de água, especialmente durante os estágios embrionários e juvenis, pode dificultar a síntese de quitina e a ecdise [17], reduzir o tamanho e a massa corporal [18], alterar a pigmentação [19], dificultar a locomoção [20,21] além de afetar a distribuição e abundância das espécies [22]. No entanto, poucos estudos investigam os efeitos da umidade do substrato, na preferência de oviposição de insetos [10,13,14,23], em vez disso são publicados trabalhos focando nos efeitos da temperatura em padrões reprodutivos [11,24,25]. Para grilos de serrapilheira (Orthoptera: Grylloidea), fatores conhecidos que afetam a preferência de oviposição incluem compostos químicos no esperma do macho [26], respostas neurais regulados por sensilas no ovipositor [27] e temperatura [28]. No entanto, para grilos, a preferência de oviposição em resposta à umidade do substrato ainda não foi avaliada.

Nós avaliamos as respostas de oviposição de *Ubiquepuella telytokous* em substratos com diferentes níveis de umidade. A teoria ecológica do nicho prediz que os organismos têm uma faixa ótima de condições abióticas [3], fora dessa faixa o “fitness” pode ser sub-ótimo, nocivo, ou mesmo letal em valores extremos. Neste caso, para a oviposição, nós esperaríamos uma resposta não linear – em forma de sino, para um gradiente de umidade do substrato, que varia de zero a 100%. No entanto, um experimento com paquinhos indicou uma resposta linear de oviposição em resposta a umidade do substrato [23], assim como o grilo doméstico *Acheta domesticus* (Orthoptera: Gryllidae) mostra uma resposta linear do crescimento corporal em relação à disponibilidade de água [18], indicando a possibilidade de um aumento linear na preferência de oviposição em resposta à umidade do substrato. Aqui testamos as hipóteses alternativas de que (i) a preferência de oviposição mostra uma resposta não-linear à umidade do substrato; ou (ii) que a oviposição aumenta linearmente com a umidade do substrato.

Materiais e Métodos

Experimento de Campo

O experimento foi realizado no Parque Nacional do Iguaçu (25°37'35"S - 54°27'9"W), em Foz do Iguaçu, Paraná - Brasil, em maio de 2012 (Figura 1). A vegetação local é composta de floresta tropical semi-decidual e ombrófila mista, pertencente ao bioma

Mata Atlântica. O clima da região pode ser classificado como mesotermal subtropical úmido, com média anual de temperatura de 19 °C e precipitação de 1600 milímetros [29].



Figura 1. Parque Nacional do Iguaçu, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. A estrela representa as coordenadas geográficas do local do experimento.

Trinta transectos paralelos foram estabelecidos dentro da floresta, colocados a 500 metros da borda. Cada transecto possuía 100 m de comprimento, e a distância entre transectos foi de 30 m. Dez bandejas plásticas (10 x 10 x 3 cm) foram colocadas ao longo de cada transecto, com 10 m de distância entre elas (esforço total de amostragem = 300 bandejas; N = 30). As bandejas foram preenchidas com 29.2 g de algodão hidrófilo (capacidade máxima da bandeja) e enterradas no chão com a abertura no nível da serrapilheira. A umidade nas bandejas foi manipulada pela adição de água, variando de zero a 100% da capacidade de absorção. Conseguimos isso medindo o peso total da bandeja, substrato de algodão e a água em uma escala, calculando o peso da água como segue: [bandeja (g) + substrato de algodão (g) + água (g)] - [bandeja (g) + substrato de algodão (g)] = água (g). Depois do tratamento com zero % de água, foi adicionado 22 g de água nas bandejas, até chegar a um total de 198g no tratamento com 100% da capacidade máxima de absorção (Fig 2a). A disposição das bandejas em cada transecto foi aleatorizada. As bandejas permaneceram no campo durante 48 horas para permitir a oviposição dos grilos nas mesmas. Apesar do desenho experimental permitir a oviposição de grilos de qualquer espécie, *Ubiquepuella telytokous* é de longe a espécie mais comum na área de estudo, e é portanto a mais provável a ovipor no substrato. Depois do período de 48 horas, as bandejas foram embaladas e transportadas para o laboratório, para contagem dos ovos.

Experimento de laboratório

O experimento de oviposição em laboratório ocorreu em uma sala climatizada à 25 °C, com 80% de umidade relativa e um fotoperíodo de 12:12, D:N. Os experimentos foram conduzidos utilizando o grilo partenogenético *Ubiquepuella telytokous*, coletados no Parque Nacional do Iguaçu [30], onde são extremamente abundantes [31]. Os grilos foram mantidos em um terrário de 150 x 50 x 50 cm, com água e alimento abundantes.

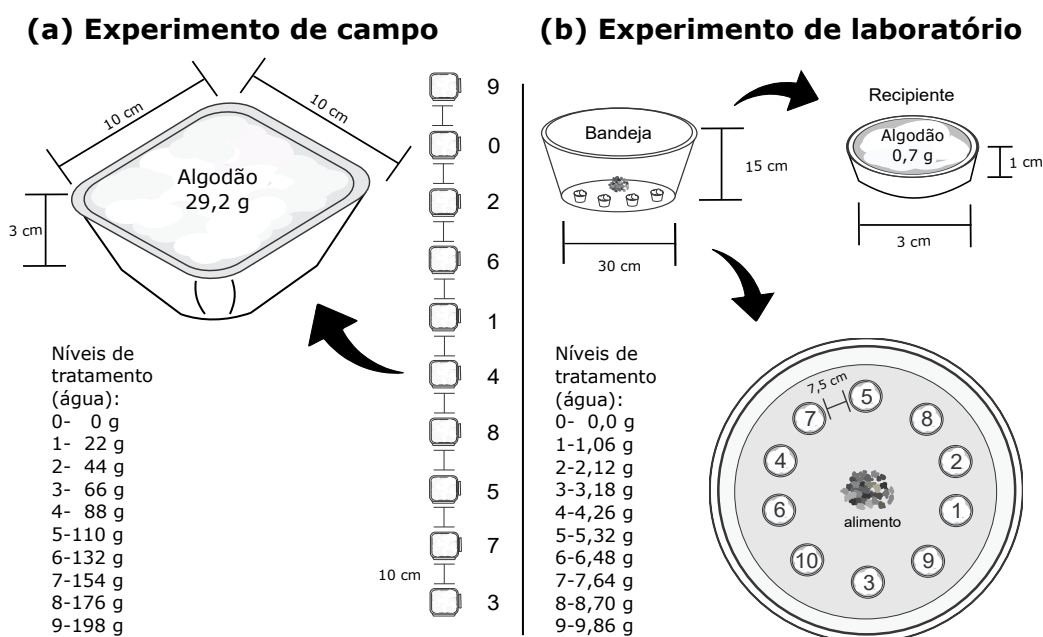


Figura 2. Desenho experimental dos experimentos de campo (a) e laboratório (b). *Exemplo do desenho experimental. A ordem dos níveis de umidade foi aleatória em cada transecto/bandeja.

O terrário foi mantido em uma sala climatizada durante dois dias antes do experimento de oviposição, para aclimação.

O experimento de laboratório consistiu em uma reprodução do experimento de campo em uma escala menor (20.75 vezes menor), com condições ambientais controladas. Nós estabelecemos arenas com múltiplas escolhas (ao invés de transectos) para cada fêmea de grilo, utilizando bandejas circulares e transparentes (30 cm de diâmetro e 15 de altura) (Fig 2b). Nós utilizamos bandejas circulares para evitar o efeito da preferência de grilos por cantos (N. Szinwelski, pers. obs.). Dez recipientes menores (3 cm de diâmetro x 1 cm altura) foram distribuídos e fixados radialmente nas bandejas (Fig 2b). Os recipientes foram preenchidos com 0.7 g de algodão hidrofílico. Os tratamentos consistiram de dez níveis de umidade, variando de zero a 9.54 gramas (capacidade máxima de absorção) de água, com 1.06 gramas entre os tratamentos (ver métodos: pesagem de água para para o experimento de campo). Assim como o experimento de campo, os níveis de umidade de substrato (recipientes) foram aleatoriamente distribuídos na arena.

No centro de cada bandeja, colocamos três gramas de alimento (alimento para peixes em flocos) [8]. Depois de montar as arenas de múltipla escolha, selecionamos trinta fêmeas previamente aclimatadas, com as maiores massas corporais, pois indivíduos mais pesados tendem a ser mais férteis [32] e são mais prováveis à ovipor em ambiente laboratorial. Fêmeas foram colocadas sozinhas no centro de cada bandeja, para evitar competição e eventual dano ou morte das fêmeas competidoras. Os ensaios de oviposição duraram 48 horas em uma sala climatizada.

Depois do experimento, as fêmeas foram sacrificadas, fixadas em etanol [31] e depositadas no Laboratório de Orthoptera, afiliado ao museu regional de Entomologia

na Universidade Federal de Viçosa (UFV). A autorização de coleta no Parque Nacional do Iguaçu foi cedida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade - ICMBio for NS (SISBIO 46964). Os insetos estudados não estão em listas vermelhas, ameaçadas ou em risco de extinção.

Triagem das amostras

As bandejas de ambos experimentos foram levadas ao laboratório para triagem e contagem de ovos, com auxílio de um estêromicroscópio. A identificação dos ovos foi realizada com base em características morfológicas específicas – coloração amarelo pálido e formato fusiforme, com bordas arredondadas [30,33–35].

Análise dos dados

Nós realizamos as análises de dados separadamente para os experimentos de campo e laboratório. Para estimar a preferência de oviposição, utilizamos a presença ou ausência de ovos como uma variável resposta binária. Nós utilizamos essa abordagem devido ao baixo número de ovos encontrados em cada recipiente com substrato. Ajustamos modelos binomiais generalizados, com função logit e distribuição binomial de resíduos [36].

Com objetivo de testar se a preferência de oviposição tem uma resposta não linear, em formato de sino em função da umidade do substrato, nós ajustamos Modelos Generalizados Aditivos Mistos (GAMM) [37], com os níveis de umidade do substrato como termos de suavização inteiros, variando de zero (sem adição de água) até 9 (100% da capacidade de absorção do substrato). Ajustamos GAMMs alternativos variando o valor de k (“knots” – nós) de dois a dez, para considerar o eventual viés nos resultados ajustados [37]. As bandejas replicadas (experimentos de laboratório) ou transectos (experimento de campo) foram incluídos no modelo como efeitos aleatórios, em modelos separados para experimentos de campo e laboratório.

Ajustamos modelos de efeitos mistos com intercepto aleatório [38] para considerar as interações comportamentais no mesmo indivíduo, e no centro de cada bandeja (experimento de laboratório), assim como para a correlação espacial das bandejas próximas no campo (devido a fauna comum de grilos na área). Apesar do correlação espacial no campo ser menor do que no laboratório, nós utilizamos a mesma abordagem estatística, por motivos de simetria.

Devido a sobre-dispersão que não pôde ser superada pela distribuição de Poisson em lugar da distribuição binomial negativa, nós abandonamos o número de ovos como variável resposta e substituímos pela variável resposta binária “presença de ovos”. Nós ajustamos regressões binomiais binárias com o nível de umidade como uma variável explicativa quantitativa. A arena de múltipla escolha (bandeja circular no experimento de laboratório) ou o transecto (experimento de campo) foram ajustados como efeitos aleatórios. Nós utilizamos o AICc (“Akaike Information Criteria”, corrigido para amostras pequenas) como critério para escolher o melhor modelo.

Os modelos ajustados foram sujeitos à análise de resíduos para avaliar a adequação do modelo. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software estatístico R, versão 3.2.4 [39].

Resultados

Encontramos um total de 270 ovos, com oviposição cinco vezes maior no campo (229) do que no laboratório (41) – (Tabela 1). O número de ovos variou de zero a sete, por unidade experimental de substrato. No experimento de laboratório, apenas oito fêmeas

(30%) ovipositaram em mais de uma unidade de substrato; houveram 267 unidades sem ovos, 30 unidades com um único ovo, duas unidades com dois ovos, e uma unidade de substrato com sete ovos. No experimento de campo 179 unidades de substrato não continham ovos, 51 unidades continham um único ovo, 40 unidades com dois ovos, 22 com três ovos, e oito unidades continham quatro ovos. No experimento de laboratório houve um grande numero de substratos sem ovos, o que pode ser explicado pelo uso de apenas uma única fêmea por réplica.

Tabela 1. Número de ovos encontrados em cada nível de tratamento após 48 horas dos experimentos de campo e laboratório.

Níveis de umidade	Número de ovos	
	Laboratório	Campo
0	0	3
1	1	3
2	0	9
3	0	6
4	5	12
5	1	29
6	1	44
7	5	44
8	17	39
9	11	40
Total	41	229

No geral, houve um menor número de ovos em umidades baixas, comparadas com os substratos com umidades maiores (Tabela 1). No experimento de campo, os três maiores níveis de umidade acumularam 123 ovos (54%), os próximos três acumularam 85 (37%), e os quatro substratos com os menores níveis acumularam 21 ovos (9%). No experimento de laboratório, os três maiores níveis de umidade acumularam 33 ovos (80% do total), enquanto os próximos três níveis acumularam sete ovos (17%); e houve um único ovo (2%) oviposito entre os quatro substratos com os menores níveis de umidade.

No experimento de campo, 90.83% dos ovos foram ovipostos em substratos com umidade acima de 44%; no experimento de laboratório esse número aumentou para 97.56%. Não houve diferença entre os experimentos de campo e laboratório, no efeito da umidade do substrato na frequência de oviposição de grilos ($\chi^2 = 1.05$, $P = 0.30$), entretanto, a probabilidade de oviposição foi maior no campo do que no experimento de laboratório ($\chi^2 = 83.78$, $P = 2.2e-16$). Em ambos experimentos, a probabilidade de oviposição aumentou linearmente com a umidade do substrato ($\chi^2 = 99.38$, $P = 2.2e-16$, Fig. 3). Não encontramos evidência para um efeito não linear na probabilidade de oviposição (edf variou entre 0.9993 e 1.001) [66].

Discussão

A oviposição de grilos de serrapilheira foi positivamente correlacionada à umidade do substrato, indicando a umidade como uma importante dimensão do nicho para esses organismos. A umidade do substrato parece influenciar a aptidão em vários grupos de insetos. Alta umidade do substrato afeta positivamente a sobrevivência pós-eclosão em cigarras, com uma maior proporção de juvenis atingindo a fase adulta [11]. A disponibilidade de água no substrato de oviposição pode afetar o tamanho corporal (por exemplo, grilos domésticos [18]), e o tamanho do corpo é provavelmente correlacionado com a probabilidade de sobrevivência [40]. O tamanho e a massa do corpo em grilos estão positivamente correlacionados com a fecundidade e resistência à

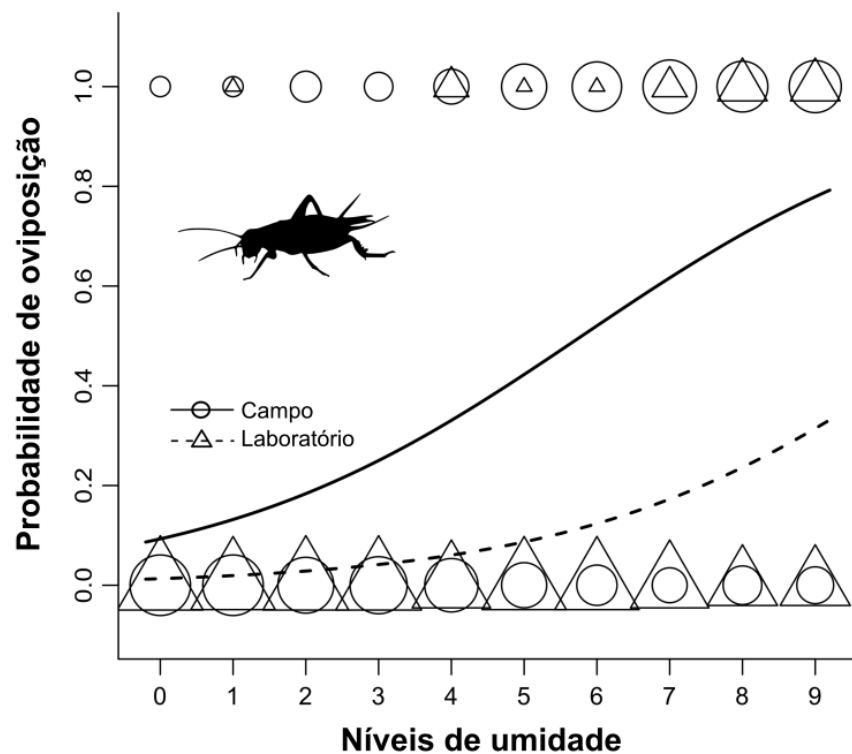


Figura 3. Probabilidade de oviposição (variável binária) em função dos níveis de umidade, nos experimentos de campo e laboratório. O tamanho dos círculos e triângulos representa a sobreposição de observações (número de ovos) em um nível de umidade. As curvas representam o modelo mínimo adequado para o modelo mínimo ajustado da regressão logística ajustada.

dessecação [19,32,41]. Além disso, fêmeas de grilos preferem machos maiores [42,43], pois são melhores competidores e tendem a ocupar territórios com recursos abundantes e condições ambientais favoráveis [44].

A umidade tem efeito direto na taxa de estridulação em paquínhas (Orthoptera: Gryllotalpoidea) [45]. O alto teor de umidade permite que os machos produzam sons de chamado mais altos, porque o solo úmido é menos poroso e absorve menos som; sons mais altos atingem distâncias maiores e tendem a atrair mais fêmeas [23]. Além de reconhecer as características masculinas através do som [46–49], as fêmeas também recebem informações sobre a umidade no ambiente dos machos, e podem ser capazes de avaliar se as condições ambientais são favoráveis para a postura de ovos nesse local [23]. A umidade também está relacionada com a supressão do desenvolvimento embrionário em insetos, chamada diapausa, que é a interrupção da embriogênese devido à exposição de um organismo a um período ambiental desfavorável [54–56]. Em esperanças (Orthoptera: Tettigoniidae) a umidade é um fator que começa e termina o processo fisiológico da diapausa [57]. Assim, baixos níveis de umidade poderiam ativar a diapausa (em um ambiente desfavorável), e níveis de umidade mais elevados poderiam encerrá-la (em um ambiente favorável). A diapausa é um mecanismo evolutivo importante, pois permite que as populações persistam em ambientes parcialmente desfavoráveis [25], aumentando a distribuição das espécies [58].

Apesar da preferência pela oviposição em substratos úmidos, as fêmeas também

podem colocar seus ovos em substratos secos [5]. Isso é parcialmente explicado pelo comportamento de “bet-hedger” (comportamento de aposta) [50,51], em que locais com condições ambientais imprevisíveis e variáveis favorecem genótipos com baixa variabilidade na aptidão. Os organismos que carecem de estratégias reprodutivas específicas são favorecidos neste caso, devido ao aumento da probabilidade de desenvolvimento de descendentes num ambiente com condições variáveis (mesmo com pequeno tamanho populacional) [52]. Espécies que apresentam comportamentos de aposta diminuem a sua aptidão a curto prazo, mas durante um período de tempo mais longo a aptidão é aumentada, pois as populações têm uma menor probabilidade de extinção, devido à variabilidade ambiental [53]. Quando a umidade é altamente variável, fêmeas de grilos que ovipositam em substratos com diferentes níveis de umidade podem ter maior sucesso reprodutivo, do que fêmeas que ovipositam em substratos com o mesmo nível de umidade [5]. Isto pode explicar parcialmente a presença de ovos em praticamente todos os níveis de umidade (incluindo os baixos) em nossos experimentos.

Em substratos secos, grilos ovipositam profundamente no solo, para evitar a dessecação [5], representado um mecanismo adicional de aposta. Quando a umidade do substrato é alta, as fêmeas tendem a colocar seus ovos em camadas superficiais, uma vez que o risco da dessecação é baixo e o desenvolvimento é acelerado, devido a rápida absorção de água dos ovos durante a embriogênese (100% do peso) [8,33,34]. Adicionalmente ovos colocados em profundidades mais rasas tem menor mortalidade, uma vez que os grilos recém-nascidos podem facilmente escavar o substrato. Juvenis que eclodem em solos mais secos e mais profundos têm mais dificuldade em escavar, e as taxas de sobrevivência são consequentemente reduzidas [11].

Nossos resultados de laboratório mostram que grilos de serrapilheira irão ovipositar seus ovos entre uma ampla faixa de níveis umidade, com uma clara preferência por substratos mais úmidos. A umidade dentro da floresta é variável, e a chuva é sua fonte principal. Certos locais conseguem manter a umidade independente de precipitação [59], devido a retenção de água, ou por um atraso na evaporação [60,61]. Em nosso experimento de campo, fêmeas foram capazes de identificar as badejas com algodão mais úmido, demonstrando a busca ativa por níveis adequados de umidade, para a oviposição. O baixo número de ovos nas bandejas não é correspondente com a média de ovos postos por grilos de serrapilheira na natureza [8]. Isto pode ser explicado pela textura do substrato de algodão, uma vez que foi demonstrado que a textura é detectada pelas fêmeas antes da oviposição, pelo uso de receptores sensoriais nos palpos e ovipositor [62]. Algodão não é um substrato comum para esses insetos, e provavelmente seriam ignorados na presença de substratos comuns de oviposição, tais como solo, galhos e folhas [8,63,64]. Além disso, se a fêmea não encontrar um substrato adequado, esta pode atrasar a oviposição ou reabsorver os ovos, para evitar gastos de energia desnecessários [65].

Conclusão

Embora a experiência seja realizada com grilos, podemos esperar que a disponibilidade de umidade seja um fator limitante para a oviposição de vários grupos de insetos, especificamente de artrópodes de serrapilheira. A disponibilidade de umidade pode alterar a distribuição geográfica e a abundância desses organismos, e as populações podem ser seriamente afetadas pela redução crônica nos níveis de umidade, devido a quedas no recrutamento [54]. Nossos resultados também indicam que a umidade do substrato é uma importante dimensão do nicho ecológico de grilos, e sugerem que esses organismos são particularmente vulneráveis às mudanças climáticas que favorecem a aridez do habitat.

Agradecimentos

Agradecemos L. Chaiben, M. Johann, R. Tarka, T. Lombado, V. Silva e V. Ribeiro pelo auxílio no campo; J. Ricci, S. Magro, V. Prasniewski, D. Jacomini, M. Coracini, J.F. Cândido Jr. e J.M. Aranha pelas valiosas sugestões na escrita do manuscrito; Parque Nacional do Iguaçu, pelas instalações concedidas. Também agradecemos a CAPES, CNPQ e FAPEMIG pelo fomento. Este estudo é parte do mestrado de F. Farias-Martins – Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais (UNIOESTE, Cascavel, Paraná, Brazil).

Referências

1. Bruggisser OT, Sandau N, Blandenier G, Fabian Y, Kehrli P, Aebi A, et al. Direct and indirect bottom-up and top-down forces shape the abundance of the orb-web spider *Argiope bruennichi*. *Basic and Applied Ecology*. 2012;13(8):706–714. doi:10.1016/j.baae.2012.10.001.
2. Girard C, Pulido-Velazquez M, Rinaudo JD, Pagé C, Caballero Y. Integrating top-down and bottom-up approaches to design global change adaptation at the river basin scale. *Global Environmental Change*. 2015;34:132–146. doi:10.1016/j.gloenvcha.2015.07.002.
3. Hutchinson GE. Concluding Remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 1957;22:415–427. doi:10.1101/SQB.1957.022.01.039.
4. Soberón J, Peterson AT. Interpretation of models of fundamental ecological niches and species distributional areas. *Biodiversity Informatics*. 2005;2:1–10. doi:10.1093/wber/lhm022.
5. Réale D, Roff DA. Quantitative genetics of oviposition behaviour and interactions among oviposition traits in the sand cricket. *Animal Behaviour*. 2002;64(3):397–406. doi:10.1006/anbe.2002.3084.
6. Abbott KR, Dukas R. Substrate choice by ovipositing mothers and consequent hatchling behaviour: the exploration sharing hypothesis. *Animal Behaviour*. 2016;121:53–59. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2016.08.012.
7. Ross CL, Harrison RG. Viability selection on overwintering eggs in a field cricket mosaic hybrid zone. *Oikos*. 2006;115(1):53–68. doi:10.1111/j.2006.0030-1299.15054.x.
8. Loher W, Dambach M. Reproductive Behavior. In: Huber F, Moore TE, Loher W, editors. *Cricket Behavior and Neurobiology*. 1st ed. New York: Cornell University Press; 1989. p. 43–82.
9. Norhisham AR, Abood F, Rita M, Hakeem KR. Effect of humidity on egg hatchability and reproductive biology of the bamboo borer (*Dinoderus minutus* Fabricius). *SpringerPlus*. 2013;2(9):1–6. doi:10.1186/2193-1801-2-9.
10. Potter DA. Effect of soil moisture on oviposition water absorption, and survival of southern masked chafer (Coleoptera: Scarabaeidae) eggs. *Environmental Entomology*. 1983;12(4):1223–1227. doi: http://dx.doi.org/10.1093/ee/12.4.1223.
11. Moriyama M, Numata H. Induction of egg hatching by high humidity in the cicada *Cryptotympana facialis*. *Journal of Insect Physiology*. 2006;52:1219–1225. doi:10.1016/j.jinsphys.2006.09.005.

12. Mousseau TA, Fox CW. The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution*. 1998;13(10):403–407. doi:10.1016/S0169-5347(98)01472-4.
13. Hinton HE. *Biology of insect eggs*. 1st ed. Oxford: Pergamon Press; 1981.
14. Hilker M, Meiners T. Plants and insect eggs: How do they affect each other? *Phytochemistry*. 2011;72(13):1612–1623. doi:10.1016/j.phytochem.2011.02.018.
15. Nelson DL, Cox MM. Água. In: Nelson D, Cox MM, editors. *Lehninger: Princípios de Bioquímica*. 3rd ed. São Paulo: Sarvier; 2002. p. 64–85.
16. Randall D, Burggren W, French K, Fernald R. Equilíbrio osmótico e iônico. In: Randall D, Burggren W, French K, Fernald R, editors. *Eckert: Fisiologia Animal: Mecanismos e Adaptações*. 4th ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A.; 2011. p. 531–581.
17. Gwynne DT. *Katydid and Bush-Crickets: Reproductive behaviour and evolution of the Tettigoniidae*. 1st ed. Ithaca and London: Cornell University Press; 2001.
18. McCluney KE, Date RC. The effects of hydration on growth of the house cricket, *Acheta domesticus*. *Journal of Insect Science*. 2008;8(32):1–9. doi:10.1673/031.008.3201.
19. Çağlar SS, Karacaoğlu Ç, Kuyucu AC, Sağlam IK. Humidity and seasonality drives body size patterns in males of the bush cricket *Isophya rizeensis* Sevgili, 2003 (Orthoptera: Tettigoniidae: Phaneropterinae). *Insect Science*. 2014;21(2):213–226. doi:10.1111/1744-7917.12027.
20. Federle W, Riehle M, Curtis ASG, Full RJ. An integrative study of insect adhesion: mechanics and wet adhesion of pretarsal pads in ants. *Integrative and Comparative Biology*. 2002;1106(6):1100–1106. doi:10.1093/icb/42.6.1100.
21. Reitz M, Gerhardt H, Schmitt C, Betz O, Albert K, Lammerhofer M. Analysis of chemical profiles of insect adhesion secretions by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2015;854:47–60. doi:10.1016/j.aca.2014.10.056.
22. Chown SL, Sørensen JG, Terblanche JS. Water loss in insects: an environmental change perspective. *Journal of Insect Physiology*. 2011;57(8):1070–1084. doi:10.1016/j.jinsphys.2011.05.004.
23. Hertl PT, Brandenburg RL, Barbercheck ME. Effect of soil moisture on ovipositional behavior in the southern mole cricket (Orthoptera: Gryllotalpidae). *Environmental Entomology*. 2001;30(3):466–473. doi:http://dx.doi.org/10.1603/0046-225X-30.3.466.
24. Tauber MJ, Tauber CA, Nyrop JP, Villani MG. Moisture, a vital but neglected factor in the seasonal ecology of insects: Hypotheses and tests of mechanisms. *Environmental Entomology*. 1998;27(3):523–530. doi:10.1093/ee/27.3.523.
25. Hodek I. Role of water and moisture in diapause development (A review). *European Journal of Entomology*. 2003;100:223–232. doi:10.14411/eje.2003.037.
26. Green K, Tregenza T. The influence of male ejaculates on female mate search behaviour, oviposition and longevity in crickets. *Animal Behaviour*. 2009;77(4):887–892. doi:10.1016/j.anbehav.2008.12.017.

27. Ogawa H, Kagaya K, Saito M, Yamaguchi T. Neural mechanism for generating and switching motor patterns of rhythmic movements of ovipositor valves in the cricket. *Journal of Insect Physiology*. 2011;57(2):326–338. doi:10.1016/j.jinsphys.2010.11.021.
28. Srygley RB. Effects of temperature and moisture on Mormon cricket reproduction with implications for responses to climate change. *Journal of Insect Physiology*. 2014;65:57–62. doi:10.1016/j.jinsphys.2014.05.005.
29. Peel MC, Finlayson BL, McMahon TA. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences*. 2007;11(2007):1633–1644. doi:10.5194/hess-11-1633-2007.
30. Fernandes ML, Zacaro AA, Serrão JE. First report of a parthenogenetic Grylloidea and new genus of Neoacolini (Insecta: Orthoptera: Grylloidea: Phalangopsidae: Phalangopsinae). *Zootaxa*. 2015;4032(4):407–416. doi:10.11646/zootaxa.4032.4.5.
31. Szinwelski N, Fialho VS, Yotoko KSC, Seleme LR, Sperber CF. Ethanol fuel improves arthropod capture in pitfall traps and preserves DNA. *ZooKeys*. 2012;196:11–22. doi:10.3897/zookeys.196.3130.
32. Gray DA, Walker TJ, Conley BE, Cade WH. A morphological means of distinguishing females of the cryptic field cricket species, *Gryllus rubens* and *G. texensis* (Orthoptera: Gryllidae). *Florida Entomologist*. 2001;84(2):314–315. doi:10.2307/3496190.
33. Furneaux PJS, James CR, Potter SA. The egg shell of the house cricket (*Acheta domestica*): an electron-microscope study. *Journal of Cell science*. 1969;5(1):227–249.
34. McFarlane JE. The permeability of the cricket egg shell. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 1970;37(2):133–141. doi:10.1016/0010-406X(70)90540-2.
35. Donoughe S, Extavour CG. Embryonic development of the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Developmental Biology*. 2016;411(1):140–156. doi:10.1016/j.ydbio.2015.04.009.
36. Crawley MJ. *The R Book*. 2nd ed. West Sussex - UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013.
37. Zuur AF. *A beginner's guide to generalized additive models with R*. 1st ed. Newburgh: Highland Statistics Ltd.; 2012.
38. Gelman A, Hill J. *Data analysis using regression and multilevel/hierarchical models*. 1st ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2007.
39. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*; 2016. Available from: <http://www.r-project.org/>.
40. Neto SS, Nakano O, Barbin D, Villa-Nova NA. Fatores ecológicos. In: Neto SS, Nakano O, Barbin D, Villa-Nova NA, editors. *Manual de ecologia dos insetos*. 1st ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres; 1976. p. 34–97.
41. Whitman DW. The significance of body size in the Orthoptera: a review. *Journal of Orthoptera Research*. 2008;17(2):117–134. doi:10.1665/1082-6467-17.2.117.

42. Sugano YC, Sasaki Y, Akimoto S. Effects of body size and shape on mating frequency in the brachypterous grasshopper *Podisma sapporensis*. *Journal of Orthoptera Research*. 2008;17(2):243–248.
43. Branson DH. Influence of individual body size on reproductive traits in melanopline grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Orthoptera Research*. 2008;17(2):259–263.
44. Filin I, Schmitz OJ, Ovadia O. Consequences of individual size variation for survival of an insect herbivore: an analytical model and experimental field testing using the red-legged grasshopper. *Journal of Orthoptera Research*. 2008;17(2):283–291. doi:10.1665/1082-6467-17.2.283.
45. Forrest TG. Power output and efficiency of sound production by crickets. *Behavioral Ecology*. 1991;2(4):327–338. doi:10.1093/beheco/2.4.327.
46. Alexander RD. Sound production and associated behavior in insects. *The Ohio Journal of Science*. 1957;57(2):101–113. doi:hdl.handle.net/1811/4430.
47. Bell PD. Multimodal communication by the black-horned tree cricket, *Oecanthus nigricornis* (Walker) (Orthoptera: Gryllidae). *Canadian Journal of Zoology*. 1980;58(10):1861–1868. doi:10.1139/z80-254.
48. Miyoshi AR, Zefa E, Martins LdP, Dias PGBS, Drehmer CJ, Dornelles JEF. Stridulatory file and calling song of two populations of the tropical bush cricket *Eneoptera surinamensis* (Orthoptera, Gryllidae, Eneopterinae). *Iheringia Série Zoologia*. 2007;97(4):461–465. doi:10.1590/S0073-47212007000400016.
49. Zefa E, Martins LDP, Szinwelski N. Complex mating behavior in *Adelosgryllus rubricephalus* (Orthoptera, Phalangopsidae, Grylloidea). *Iheringia Série Zoologia*. 2008;98(3):325–328. doi:10.1590/S0073-47212008000300006.
50. Seger J, Brockmann HJ. What is bet-hedging? In: Harvey PH, Partridge L, editors. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*. vol. 4. 4th ed. Oxford: Oxford University Press; 1987. p. 182–211.
51. Philippi T, Seger J. Hedging one's evolutionary bets, revisited. *Trends in Ecology & Evolution*. 1989;4(2):2–5. doi:10.1016/0169-5347(89)90138-9.
52. Hopper KR. Risk-spreading and bet-hedging in insect population biology. *Annual Review of Entomology*. 1999;44(1):535–560. doi:10.1146/annurev.ento.44.1.535.
53. Olofsson H, Ripa J, Jonzén N. Bet-hedging as an evolutionary game: the trade-off between egg size and number. *Proceedings of The Royal Society B*. 2009;276:2963–2969. doi:10.1098/rspb.2009.0500.
54. Gehrken U, Doumbia YO. Diapause and quiescence in eggs of a tropical grasshopper *Oedaleus senegalensis* (Krauss). *Journal of Insect Physiology*. 1996;42(5):483–491. doi:10.1016/0022-1910(95)00128-X.
55. Ruppert EE, Fox RS, Barnes RD. *Zoologia de Invertebrados*. 7th ed. São Paulo: Ed. Rocca; 2005.
56. Boychuk EC, Smiley JT, Dahlhoff EP, Bernards Ma, Rank NE, Sinclair BJ. Cold tolerance of the montane Sierra leaf beetle, *Chrysomela aeneicollis*. *Journal of Insect Physiology*. 2015;81:157–166. doi:10.1016/j.jinsphys.2015.07.015.

57. Ingrisch S. Evidence of an embryonic diapause in a tropical Phaneropterinae (Insecta: Ensifera: Tettigonioidae). *Tropical Zoology*. 1996;9(2):431–439. doi:10.1080/03946975.1996.10539321.
58. Bang HS, Shim JK, Jung MP, Kim MH, Kang KK, Lee DB, et al. Temperature effects on embryonic development of *Paratlanticus ussuriensis* (Orthoptera: Tettigoniidae) in relation to its prolonged diapause. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 2011;14(3):373–377. doi:10.1016/j.aspen.2011.04.007.
59. Wilcox BA, Murphy DD. Conservation strategy: the effects of fragmentation on extinction. *The American Naturalist*. 1985;125(6):879. doi:10.1086/284386.
60. Subramanian KA, Sivaramakrishnan KG. Habitat and microhabitat distribution of stream insect communities of the Western Ghats. *Current Science*. 2005;89(6):976–987.
61. Groll M, Thomas A, Jungermann L, Schäfer K. Typology of riverbed structures and habitats (TRiSHa) - A new method for a high resolution characterization of the spatial distribution and temporal dynamic of riverbed substrates and microhabitats. *Ecological Indicators*. 2016;61:219–233. doi:10.1016/j.ecolind.2015.09.019.
62. Destephano DB, Brady EU, Farr CA. Factors Influencing Oviposition Behavior in the Cricket, *Acheta domesticus*. *Annals of the Entomological Society of America*. 1982;75(2):111–114. doi:dx.doi.org/10.1093/aesa/75.2.111.
63. Bradford MJ, Guerette PA, Roff DA. Testing hypotheses of adaptive variation in cricket ovipositor lengths. *Oecologia*. 1993;93(2):263–267. doi:10.1007/BF00317680.
64. Sperber CF, Mews CF, Lhano MG, Chamorro J, Mesa A. Orthoptera - Oliver 1791. In: Albertino RJ, De Melo GAR, De Carvalho CJ, Casari SA, Constantino R, editors. *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. 1st ed. Ribeirão Preto: Holos Editora; 2012. p. 272–273.
65. Ghouri ASK, McFarlane JE. Observations on the development of crickets. *The Canadian Entomologist*. 1958;90:158–165. doi:doi.org/10.4039/Ent90158-3.
66. Zuur AF, Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA, Smith GM. *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. 1st ed. New York: Springer; 2009. doi:10.1007/978-0-381-87458-6.

ANEXOS

Normas das revistas científicas

Anexo I – *Journal of Animal Ecology*

Anexo II – *Plos One*

ANEXO I

Normas da revista Journal of Animal Ecology

Article specifications and requirements

For general tips and guidance for authors or article preparation and submission visit the Wiley-Blackwell **Author Services** site.

Typescripts

Papers are expected to be *no more than* 10 published pages in length (8500 words maximum), unless otherwise agreed or invited by the editor.

Manuscripts must be in English and spelling should conform to the *Concise Oxford Dictionary of Current English*.

- Lines must be numbered, preferably within pages.
- Use the 'cover letter' section to highlight anything about your paper that needs to be drawn to the attention of the Editors or the Editorial Office.
- Editors reserve the right to modify manuscripts that do not conform to scientific, technical, stylistic or grammatical standards.

Please upload your manuscript as MS word or LaTeX (source, rather than compiled PDF) files. For your convenience, we have provided some basic template files for submission below:

MS Word:

- **Journal of Animal Ecology Template.docx**

LaTeX:

- **LaTeX template files**

Basic guidelines for uploading a LaTeX formatted manuscript to ScholarOne:

1. For reviewing purposes please upload a single PDF that you have generated from your own source files. Please use the file designation "Main Document".
2. Please upload your LaTeX and EPS source files, designating them as files 'not for review'. These will be used for typesetting purposes and must be uploaded with each version of your paper, i.e. original version and all revisions. A single .tar or .zip file containing all of your source files and a readme file should be uploaded. If you have used a .bib file to generate your bibliography in LaTeX please do include this in your .tar/.zip archive along with the .bbl and .tex files; this will aid the typesetting process.
3. Note Regarding pdfTeX: Please do not use pdfTeX to create your PDF. We have found that PDFs created using pdfTeX often fail. The latest version of pdfTeX is not currently supported by ScholarOne. If you have used pdfTeX please also upload a PS file.

Requirements

Title page. This should contain:

1. A concise and informative title (as short as possible). Do not include the authorities for taxonomic names in the title. Titles with numerical series designations (I, II, III, etc.) are acceptable provided the editors agreement is sought and that at least Part II of the series has been submitted and accepted before Part I is sent to the printer. Such series must begin in one of the journals of the BES.
2. A list of authors' names with names and addresses of Institutions.
3. The name, address and e-mail address of the correspondence author to whom proofs will be sent.
4. A running headline of not more than 45 characters.

Summary/Abstract. This should summarise the main results and conclusions of the paper using simple, factual, numbered statements. **It must not exceed 350 words.**

- Summaries/abstracts are key to getting people to read your article.
- Summaries should be understandable in isolation from your article.

- Summaries should have 5 points, ideally, listing; (1) the background, (2) the goal of the study, (3) what was done in the study, (4) what was found and (5) what this means.
- Advice for optimising your *Summary/Abstract* (and Title) so that your paper is more likely to be found in online searches is provided at: authorservices.wiley.com/bauthor/seo.asp

Key-words. Listed in alphabetical order, the key-words should not exceed 10 words or short phrases. Please pay attention to the keywords you select: they should not already appear in the title or abstract. Rather, they should be selected to draw in readers from wider areas that might not otherwise pick up your paper when they are using search engines.

Introduction. This should state the reason for doing the work, the nature of the hypothesis or hypotheses under consideration, and should outline the essential background.

Materials and methods. This should provide sufficient details of the techniques to enable the work to be repeated. Do not describe or refer to commonplace statistical tests in Methods but allude to them briefly in Results.

Results. This should state the results, drawing attention in the text to important details shown in tables and figures.

Discussion. This should point out the significance of the results in relation to the reasons for doing the work, and place them in the context of other work.

Acknowledgements. In addition to acknowledging collaborators and research assistants, include relevant permit numbers (including institutional animal use permits), acknowledgment of funding sources, and give recognition to nature reserves or other organizations that made this work possible. Do not acknowledge Editors by name.

Data Accessibility. It is mandatory to archive the raw data underlying the analyses (see [here](#)) and to include a data accessibility section. In order to enable readers to locate archived data from papers, we require that authors list the database and the respective accession numbers or DOIs for all data from the manuscript that has been made publicly available. See below or **Data Archiving, 2014** for more details on the layout. Where data is not archived, authors need to still include a data accessibility section and in it explain why data wasn't archived (e.g. sensitive locality data).

Figures

The publishers would like to receive your artwork in electronic form. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Postscript Format (EPS), and bitmap files (e.g. half-tones) in Tagged Image File Format (TIFF). *Ideally, vector graphics that have been saved in a metafile (.WMF) or pict (.PCT) format should be embedded within the body of the text file.* Detailed information on the Wiley-Blackwell digital illustration standards is available at: authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp

Where possible, figures should fit on a single page in the submitted paper. In a final version they will generally be reduced in size by about 50% during production. Wherever possible, they should be sized to fit into a single column width (c. 70mm final size). To make best use of space, you may need to rearrange parts of figures (e.g. so that they appear side by side). Please ensure that symbols, labels, etc. are large enough to allow reduction to a final size of c. 8 point, i.e. capital letters will be about 2 mm tall. Lettering should use a sans serif font (e.g. Helvetica and Arial) with **capitals used for the initial letter of the first word only. Bold lettering should not be used.** Units of axes should appear in parentheses after the axis name. Please note that line figures should be at least 600 dpi and half-tones (photos) should be at least 300 dpi.

Colour figures/photographs are free online; however, it is the policy of the Journal for authors to pay the full cost for their print reproduction (currently £150 for the first figure, £50 for each subsequent figure). If authors opt to reproduce figures in colour online but black and white in print, they should write their legend to accommodate both versions of the figure. Authors requiring colour in the print version should indicate their requirements on the **Colour Work Agreement Form**. Please note that the ORIGINAL HARDCOPY form must be returned in all instances (a scanned version cannot be accepted). Therefore, at acceptance, please download the form and post it to: Customer Services (OPI), John Wiley & Sons Ltd, European Distribution Centre, New Era Estate, Oldlands Way, Bognor Regis, West Sussex, PO22 9NQ.

Figure Legends

Please include enough detail so that the figure can be understood without reference to the text. In the full-text online edition of the journal, figure legends may be truncated in abbreviated links to the full screen version. Therefore, the first 100 characters of any legend should inform the reader of

key aspects of the figure. Figures should be referred to in the text as Fig. 1, etc. (note Figs 1 and 2 with no period).

Tables

Each table should be on a separate page, numbered and accompanied by a title at the top. These should be referred to in the text as Table 1, etc. Please do not present the same data in both figure and table form.

Authors' contributions

All submissions with more than one author must include an Author Contributions statement. All persons listed as authors on a paper are expected to meet ALL of the following criteria for authorship:

- substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, or drafting the article or revising it critically for important intellectual content;
- final approval of the version to be published;
- agreement to be accountable for the aspects of the work that they conducted and ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of their work are appropriately investigated and resolved.

Acquisition of funding, provision of facilities, or supervising the research group of authors without additional contribution are not usually sufficient justifications for authorship.

The statement should include an explanation of the contribution of each author. We suggest the following format for the Author Contributions statement: AB and CD conceived the ideas and designed methodology; CD and EF collected the data; EF and GH analysed the data; AB and CD led the writing of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

Data accessibility

A list of databases with relevant accession numbers or DOIs for all data from the manuscript that has been made publicly available should be included in this section. For example:

Data accessibility

- Species descriptions: uploaded as online supporting information
- Phylogenetic data: TreeBASE Study accession no. Sxxxx
- R scripts: uploaded as online supporting information
- Sample locations, IMA2 input files and microsatellite data: DRYAD entry doi: xx.xxxx/dryad.xxxx

Supporting Information

Journal of Animal Ecology does not publish Appendices in the printed version. However, Supporting Information that is referred to in the text may be made available in the online version of the article. Guidelines for the preparation of Supporting Information are available [here](#).

For the printed version, any Appendices should be listed under 'Supporting Information', and added after the References, with the opening statement: 'The following Supporting Information is available for this article online' followed by brief captions for the Appendices/Figs/Tables to be included. These should be numbered Appendix S1, Fig. S1, Table S1, etc.

Any literature referred to in the Appendix or online Supporting Information should also be referenced in the Appendix or online Supporting Information so that it is a self-contained piece of work. This may mean duplicating references if any literature is cited in both the main text and the Supporting Information.

All Supporting Information should be submitted online as part of the main manuscript. Please name your online supporting files as 'online supporting information' and upload them with the main document. This allows the submission web site to combine all the relevant files together but keep them separate when it comes to publication stage.

References

References in the text to work by up to three authors should be in full, e.g. (Johnson, Myers & James 2006). If there are more than three authors, they should always be abbreviated thus: (Nilsen *et al.* 2009). When different groups of authors with the same first author and date occur, they should be cited thus: (Jonsen, Myers & James 2006a; Jonsen, James & Myers 2006b), then subsequently abbreviated to (Jonsen *et al.* 2006a, b). The references in the list should be in alphabetical order with the journal name in full. The format for papers, entire books, chapters in books, and PhD theses is as follows.

Underwood, N. (2009) Effect of genetic variance in plant quality on the population dynamics of a herbivorous insect. *Journal of Animal Ecology*, 78, 839–847.

Jonsen, I.D., Myers, R.A. & James, M.C. (2006) Robust hierarchical state–space models reveal diel variation in travel rates of migrating leatherback turtles. *Journal of Animal Ecology*, 75, 1046–1057.

Nilsen, E.B., Linnell, J.D.C., Odden, J. & Anderson, R. (2009) Climate, season, and social status modulate the functional response of an efficient stalking predator: the Eurasian lynx. *Journal of Animal Ecology*, 78, 741–751

Otto, S.P. & Day, T. (2007) *A Biologist's Guide to Mathematical Modeling in Ecology and Evolution*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.

Conway, G. (2007) A Doubly Green Revolution: ecology and food production. *Theoretical Ecology: Principles and Applications*, 3rd edn (eds R. May & A. McLean), pp. 158–171. Oxford University Press, Oxford.

Stevenson, I.R. (1994) *Male-biased mortality in Soay sheep*. PhD thesis, University of Cambridge, Cambridge.

References should only be cited as 'in press' if the paper has been accepted for publication. Other references should be cited as 'unpublished' and not included in the list. Work not yet accepted for publication may be cited in the text and attributed to its author as: author name (including initials), unpublished data. Where the authorship of an 'in press' article overlaps with the authorship of the submitted paper the 'in press' article should be uploaded with the manuscript as a 'supplementary file for review'.

We recommend the use of a tool such as **EndNote** or **Reference Manager** for reference management and formatting.

EndNote reference styles can be searched for here:
<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>

Reference Manager reference styles can be searched for here:
<http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

Citations from the World Wide Web

Citations from the world-wide-web are only allowed when alternative hard literature sources do not exist for the cited information. Authors are asked to ensure that:

- Fully authenticated addresses are included in the reference list, along with titles, years and authors of the sources being cited.
- The sites or information sources have sufficient longevity and ease of access for others to follow up the citation.
- The information is of a scientific quality at least equal to that of peer reviewed information available in learned scientific journals.

Units, symbols and abbreviations

Authors are requested to use the International System of Units (SI, *Système International d'Unités*) where possible for all measurements (see *Quantities, Units and Symbols*, 2nd edn (1975) The Royal Society, London). Note that mathematical expressions should contain symbols not abbreviations. If the paper contains many symbols, it is recommended that they should be defined as early in the text as possible, or within a subsection of the Materials and methods section.

Scientific

names

Give the Latin names of each species in full, together with the authority for its name, at first mention in the main text. If they appear in the Summary/Abstract, use the common and Latin name only in the first instance, then the Latin or common name thereafter. If there are many species, cite a Flora or checklist which may be consulted for authorities instead of listing them in the text. Do not give authorities for species cited from published references. Give priority to scientific names in the text (with colloquial names in parentheses, if desired).

Makers'

names

When a special piece of equipment has been used it should be described so that the reader can trace its specifications by writing to the manufacturer; thus: 'Data were collected using a solid-state data logger (CR21X, Campbell Scientific, Utah, USA)'.

Mathematical

material

Mathematical expressions should be carefully represented. Suffixes and operators such as d, log, ln and exp will be set in Roman type; matrices and vectors will be set in bold type; other algebraic

symbols will be set in italic. Make sure that there is no confusion between similar characters like 'l' (ell) and '1' (one). Also make sure that expressions are spaced as you would like them to appear, and if there are several equations they should be identified by eqn 1, etc.

Numbers *in* **tables**

Do not use an excessive number of digits when writing a decimal number to represent the mean of a set of measurements (the number of digits should reflect the precision of the measurement).

Numbers *in* **text**

Numbers from one to nine should be spelled out except when used with units; e.g. two eyes but 10 stomata and 5°C.

Pre-submission English-language editing

Authors for whom English is a second language may wish to consider having their manuscript professionally edited before submission to improve the English. Our publisher Wiley provides this service for a fee: http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Accepted papers

At the conditionally accepted stage all authors are asked to submit their final manuscript text in *word format* with figures and tables conforming to the specifications above and **must** include all required forms (nb Colour Artwork form for any colour figures).

After a paper has been accepted for publication it will be uploaded online within ~2 working days, BEFORE copyediting, typesetting and proofing. The paper will be assigned its DOI (digital object identifier) at this stage so that it can be read and cited as normal. Any final, minor corrections can still be made to the paper at the proofing stage.

Exclusive Licence Agreement

Authors of accepted manuscripts will be required to grant Wiley an exclusive licence to publish the article on behalf of the British Ecological Society. Signing an Exclusive Licence Agreement (ELA) is a condition of publication and papers will not be published until a signed form is received. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement.) Once a paper is accepted, the corresponding author will receive an email from Wiley prompting them to login to Author Services, where, via the Wiley Author Licencing Service (WALS), they will be able to complete the licence agreement on behalf of all co-authors. The terms and conditions of the ELA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs **here**. Do not complete this PDF until you are prompted to do so by Author Services. Please read the licence form carefully before signing: conditions are changed from time to time and may not be the same as the last time you completed one of these forms.

Funder arrangements A number of funders, including Research Councils UK (RCUK), the NIH and Wellcome Trust, require deposit of the accepted (post-peer-reviewed) version of articles that they fund, if these are not already published via an open access route. The BES journals are all compliant with these mandates and full details of the arrangements can be found **here**.

Author Services

All authors are required to register for Author Services. Author Services enables authors to track their article, after acceptance, through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Authors can nominate up to 10 colleagues to have complimentary access to the article once published on line. Visit our **Author Services** site for more details on online production tracking, tips on article preparation and submission, and more.

Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit our Author Services site for more details on online production tracking, tips on article preparation and submission, and more.

Proofs

The correspondence author will receive an e-mail alert when the proof, an Acrobat PDF (portable document format) file, can be downloaded from the e-proofing site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html

This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proofs. Proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Alterations in the text, other than printer errors, may be charged to the author.

Foreign contributors might consider nominating someone in the UK to correct their proofs for them; they should do this when submitting their revised manuscript. The editors reserve the right to correct the proofs themselves, using the accepted version of the manuscript, if the authors' corrections are overdue and the journal would otherwise be delayed.

Early View Publication

Journal of Animal Ecology is covered by the Early View service. After the proofing stage, the 'Accepted Article' version will be replaced online by the Early View version. These are final, complete, full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled print issue. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. To register to receive an e-mail alert when your Early View article is published, **click here** and log-in to Wiley Online Library.

Because Early View articles are in their final, complete form, no changes can be made after online publication. Articles are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked before allocation to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article. More information about DOIs can be found at <http://www.doi.org/faq.html>

OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. The charge for OnlineOpen publication is \$3,000 (discounted to \$2,250 for papers where the first or corresponding author is a current member of the **British Ecological Society**). For the full list of terms and conditions, **click here**.

Following acceptance, any authors wishing to make their paper OnlineOpen will be required to complete the **payment form** and will be given the option of signing a range of different Creative Commons licences, depending on author choice and funder mandate.

Prior to acceptance there is no requirement to inform the Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

Offprints

Free access to final PDF offprint of the published article will be provided to the corresponding author, and will be available via Wiley-Blackwell **Author Services** only. Please therefore register for free access to Author Services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the Service offers. If you require paper offprints these may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you complete all of the required fields: <http://offprint.cosprinters.com/blackwell>. If you have queries about paper offprints please email **C.O.S. Printers Ltd.**

Please note that the PDF file can only be distributed and used in accordance with the licencing agreement agreed with the publisher.

ANEXO II

Normas da revista Plos One

Syle format

File format	Manuscript files can be in the following formats: DOC, DOCX, RTF, or PDF. Microsoft Word documents should not be locked or protected. LaTeX manuscripts must be submitted as PDFs. Read the LaTeX guidelines.
Length	Manuscripts can be any length. There are no restrictions on word count, number of figures, or amount of supporting information. We encourage you to present and discuss your findings concisely.
Font	Use a standard font size and any standard font, except for Symbol font.
Headings	Limit manuscript sections and sub-sections to 3 heading levels. Make sure heading levels are clearly indicated in the manuscript text.
Layout	Manuscript text should be double-spaced. Do not format text in multiple columns.
Page and line numbers	Include page numbers and line numbers in the manuscript file.
Footnotes	Footnotes are not permitted. If your manuscript contains footnotes, move the information into the main text or the reference list, depending on the content.
Language	Manuscripts must be submitted in English. You may submit translations of the manuscript or abstract as supporting information. Read the supporting information guidelines.
Abbreviations	Define abbreviations upon first appearance in the text. Do not use non-standard abbreviations unless they appear at least three times in the text. Keep abbreviations to a minimum.
Reference style	PLOS uses "Vancouver" style, as outlined in the ICMJE sample references. See reference formatting examples and additional instructions below.
Equations	We recommend using MathType for display and inline equations, as it will provide the most reliable outcome. If this is not possible, Equation Editor is acceptable. Avoid using MathType or Equation Editor to insert single variables (e.g., " $a^2 + b^2 = c^2$ "), Greek or other symbols (e.g., β , Δ , or ' [prime]), or mathematical operators (e.g., $\times$, $\geq$, or $\pm$) in running text. Wherever possible, insert single symbols as normal text with the correct Unicode (hex) values. Do not use MathType or Equation Editor for only a portion of an equation. Rather, ensure that the entire equation is included. Avoid "hybrid" inline or display equations, in which part is text and part is MathType, or part is MathType and part is Equation Editor.
Nomenclature	Use correct and established nomenclature wherever possible. <i>Units of measurement</i> Use SI units. If you do not use these exclusively, provide the SI value in parentheses after each value. Read more about SI units. <i>Drugs</i> Provide the Recommended International Non-Proprietary Name (rINN). Write in italics (e.g., <i>Homo sapiens</i>). Write out in full the genus and species, both in the title of the manuscript and at the first mention of an organism in a paper. After first mention, the first letter of the genus name followed by the full species name may be used (e.g., <i>H. sapiens</i>). <i>Species names</i> Write in italics. Use the recommended name by consulting the appropriate genetic nomenclature database (e.g., HUGO for human genes). It is sometimes advisable to indicate the synonyms for the gene the first time it appears in the text. Gene prefixes such as those used for oncogenes or cellular localization should be shown in roman typeface (e.g., v-fes, c-MYC). <i>Genes, mutations, genotypes, alleles</i>

Prior to submission, authors who believe their manuscripts would benefit from professional editing are encouraged to use language-editing and copyediting services. Obtaining this service is the responsibility of the author, and should be done before initial submission. These services can be found on the web using search terms like “scientific editing service” or “manuscript editing service.”

Submissions are not copyedited before publication.

Submissions that do not meet the *PLOS ONE* publication criterion for language standards may be rejected.

Manuscript Organization

Manuscripts should be organized as follows. Instructions for each element appear below the list.

Beginning section *The following elements are required, in order:*

- Title page: List title, authors, and affiliations as first page of manuscript
- Abstract
- Introduction

Middle section *The following elements can be renamed as needed and presented in any order:*

- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Conclusions (optional)

Ending section *The following elements are required, in order:*

- Acknowledgments
- References
- Supporting information captions (if applicable)

Other elements

- Figure captions are inserted immediately after the first paragraph in which the figure is cited. Figure files are uploaded separately.
- Tables are inserted immediately after the first paragraph in which they are cited.
- Supporting information files are uploaded separately.

Please refer to our downloadable sample files to make sure that your submission meets our formatting requirements:

- Download sample title, author list, and affiliations page (PDF)
- Download sample manuscript body (PDF)

Viewing Figures and Supporting Information in the compiled submission PDF

The compiled submission PDF includes low-resolution preview images of the figures after the reference list. The function of these previews is to allow you to download the entire submission as quickly as possible. Click the link at the top of each preview page to download a high-resolution version of each figure. Links to download Supporting Information files are also available after the reference list.

Parts of a Submission

Title

Include a full title and a short title for the manuscript.

Title	Length	Guidelines	Examples
Full title	250 characters	Specific, descriptive, concise, and comprehensible to readers outside the field	Impact of cigarette smoke exposure on innate immunity: A <i>Caenorhabditis elegans</i> model Solar drinking water disinfection (SODIS) to reduce childhood diarrhoea in rural Bolivia: A cluster-randomized, controlled trial
Short title	100 characters	State the topic of the study	Cigarette smoke exposure and innate immunity SODIS and childhood diarrhoea

Titles should be written in sentence case (only the first word of the text, proper nouns, and genus names are capitalized). Avoid specialist abbreviations if possible. For clinical trials, systematic reviews, or meta-analyses, the subtitle should include the study design.

Author List

Authorship

requirements

All authors must meet the criteria for authorship as outlined in the authorship policy. Read the policy. Those who contributed to the work but do not meet the criteria for authorship can be mentioned in the Acknowledgments. Read more about Acknowledgments.

The corresponding author must provide an ORCID iD at the time of submission by entering it in the user profile in the submission system. Read more about ORCID.

Author names and affiliations

Enter author names on the title page of the manuscript and in the online submission system.

On the title page, write author names in the following order:

- First name (or initials, if used)
- Middle name (or initials, if used)
- Last name (surname, family name)

Each author on the list must have an affiliation. The affiliation includes department, university, or organizational affiliation and its location, including city, state/province (if applicable), and country.

If an author has multiple affiliations, enter all affiliations on the title page only. In the submission system, enter only the preferred or primary affiliation.

Author names will be published exactly as they appear in the manuscript file. Please double-check the information carefully to make sure it is correct.

Corresponding author

The submitting author is automatically designated as the corresponding author in the submission system. The corresponding author is the primary contact for the journal office and the only author able to view or change the manuscript while it is under editorial consideration.

The corresponding author role may be transferred to another coauthor. However, note that transferring the corresponding author role also transfers access to the manuscript. (To designate a new corresponding author while the manuscript is still under consideration, watch the video tutorial below.)

Only one corresponding author can be designated in the submission system, but this does not restrict the number of corresponding authors that may be listed on the article in the event of publication. Whoever is designated as a corresponding author on the title page of the manuscript file will be listed as such upon publication. Include an email address for each corresponding author listed on the title page of the manuscript.

How to select a new corresponding author in Editorial Manager

Consortia and group authorship

If a manuscript is submitted on behalf of a consortium or group, include the consortium or group name in the author list, and include the full list of members in the Acknowledgments or in a supporting information file. Read the group authorship policy.

Author Contributions

Enter all author contributions in the submission system during submission. The contributions of all authors must be described using the CRediT Taxonomy of author roles. Read the policy.

Contributions will be published with the final article, and they should accurately reflect contributions to the work. The submitting author is responsible for completing this information at submission, and it is expected that all authors will have reviewed, discussed, and agreed to their individual contributions ahead of this time.

PLOS ONE will contact all authors by email at submission to ensure that they are aware of the submission.

Cover letter

Upload a cover letter as a separate file in the online system. The length limit is 1 page.

The cover letter should include the following information:

- Summarize the study's contribution to the scientific literature
- Relate the study to previously published work
- Specify the type of article (for example, research article, systematic review, meta-analysis, clinical trial)
- Describe any prior interactions with PLOS regarding the submitted manuscript
- Suggest appropriate Academic Editors to handle your manuscript (see the full list of Academic Editors)
- List any opposed reviewers

IMPORTANT: Do not include requests to reduce or waive publication fees in the cover letter. This information will be entered separately in the online submission system.

Read about publication fee assistance.

Title page

The title, authors, and affiliations should all be included on a title page as the first page of the manuscript file.

Download sample title, author list, and affiliations page (PDF)

Abstract

The Abstract comes after the title page in the manuscript file. The abstract text is also entered in a separate field in the submission system.

The Abstract should:

- Describe the main objective(s) of the study
- Explain how the study was done, including any model organisms used, without methodological detail
- Summarize the most important results and their significance
- Not exceed 300 words

Abstracts should not include:

- Citations
- Abbreviations, if possible

Introduction

The introduction should:

- Provide background that puts the manuscript into context and allows readers outside the field to understand the purpose and significance of the study
- Define the problem addressed and why it is important
- Include a brief review of the key literature
- Note any relevant controversies or disagreements in the field
- Conclude with a brief statement of the overall aim of the work and a comment about whether that aim was achieved

Materials and Methods

The Materials and Methods section should provide enough detail to allow suitably skilled investigators to fully replicate your study. Specific information and/or protocols for new methods should be included in detail. If materials, methods, and protocols are well established, authors may cite articles where those protocols are described in detail, but the submission should include sufficient information to be understood independent of these references.

We encourage authors to submit detailed protocols for newer or less well-established methods as supporting information. Read the supporting information guidelines.

Human or animal subjects and/or tissue or field sampling

Methods sections describing research using human or animal subjects and/or tissue or field sampling must include required ethics statements. See the reporting guidelines for human research, clinical trials, animal research, and observational and field studies for more information.

Data

PLOS journals require authors to make all data underlying the findings described in their manuscript fully available without restriction, with rare exception.

Large data sets, including raw data, may be deposited in an appropriate public repository. See our list of recommended repositories.

For smaller data sets and certain data types, authors may provide their data within supporting information files accompanying the manuscript. Authors should take care to maximize the accessibility and reusability of the data by selecting a file format from which data can be efficiently extracted (for example, spreadsheets or flat files should be provided rather than PDFs when providing tabulated data).

For more information on how best to provide data, read our policy on data availability. PLOS does not accept references to “data not shown.”

Cell lines

Methods sections describing research using cell lines must state the origin of the cell lines used. See the reporting guidelines for cell line research for more information.

New taxon names

Methods sections of manuscripts adding new taxon names to the literature must follow the reporting guidelines below for a new zoological taxon, botanical taxon, or fungal taxon.

Results, Discussion, Conclusions

These sections may all be separate, or may be combined to create a mixed Results/Discussion section (commonly labeled “Results and Discussion”) or a mixed Discussion/Conclusions section (commonly labeled “Discussion”). These sections may be further divided into subsections, each with a concise subheading, as appropriate. These sections have no word limit, but the language should be clear and concise.

Together, these sections should describe the results of the experiments, the interpretation of these results, and the conclusions that can be drawn.

Authors should explain how the results relate to the hypothesis presented as the basis of the study and provide a succinct explanation of the implications of the findings, particularly in relation to previous related studies and potential future directions for research.

PLOS ONE editorial decisions do not rely on perceived significance or impact, so authors should avoid overstating their conclusions. See the *PLOS ONE* Criteria for Publication for more information.

Acknowledgments

Those who contributed to the work but do not meet our authorship criteria should be listed in the Acknowledgments with a description of the contribution.

Authors are responsible for ensuring that anyone named in the Acknowledgments agrees to be named.

Do not include funding sources in the Acknowledgments or anywhere else in the manuscript file. Funding information should only be entered in the financial disclosure section of the submission system.

References

Any and all available works can be cited in the reference list. Acceptable sources include:

- Published or accepted manuscripts
- Manuscripts on preprint servers, if the manuscript is submitted to a journal and also publicly available as a preprint

Do not cite the following sources in the reference list:

- Unavailable and unpublished work, including manuscripts that have been submitted but not yet accepted (e.g., “unpublished work,” “data not shown”). Instead, include those data as supplementary material or deposit the data in a publicly available database.
- Personal communications (these should be supported by a letter from the relevant authors but not included in the reference list)

References are listed at the end of the manuscript and numbered in the order that they appear in the text. In the text, cite the reference number in square brackets (e.g., “We used the techniques developed by our colleagues [19] to analyze the data”). PLOS uses the numbered citation (citation-sequence) method and first six authors, et al.

Do not include citations in abstracts or author summaries.

Make sure the parts of the manuscript are in the correct order *before* ordering the citations.

Formatting references

Because all references will be linked electronically as much as possible to the papers they cite, proper formatting of the references is crucial.

PLOS uses the reference style outlined by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), also referred to as the “Vancouver” style. Example formats are listed below. Additional examples are in the ICMJE sample references.

A reference management tool, EndNote, offers a current style file that can assist you with the formatting of your references. If you have problems with any reference management program, please contact the source company's technical support.

Journal name abbreviations should be those found in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) databases.

Source	Format
Published articles	Hou WR, Hou YL, Wu GF, Song Y, Su XL, Sun B, et al. cDNA, genomic sequence cloning and overexpression of ribosomal protein gene L9 (rpL9) of the giant panda (<i>Ailuropoda melanoleuca</i>). Genet Mol Res. 2011;10: 1576-1588.
	Devaraju P, Gulati R, Antony PT, Mithun CB, Negi VS. Susceptibility to SLE in South Indian Tamils may be influenced by genetic selection pressure on TLR2 and TLR9 genes. Mol Immunol. 2014 Nov 22. pii: S0161-5890(14)00313-7. doi: 10.1016/j.molimm.2014.11.005

Source	Format
	<i>Note: A DOI number for the full-text article is acceptable as an alternative to or in addition to traditional volume and page numbers.</i>
Accepted, unpublished articles	Same as published articles, but substitute "Forthcoming" for page numbers or DOI.
Web sites or online articles	Huynen MMTE, Martens P, Hilderlink HBM. The health impacts of globalisation: a conceptual framework. <i>Global Health</i> . 2005;1: 14. Available from: http://www.globalizationandhealth.com/content/1/1/14 .
Books	Bates B. <i>Bargaining for life: A social history of tuberculosis</i> . 1st ed. Philadelphia: University of Pennsylvania Press; 1992.
Book chapters	Hansen B. New York City epidemics and history for the public. In: Harden VA, Risse GB, editors. <i>AIDS and the historian</i> . Bethesda: National Institutes of Health; 1991. pp. 21-28.
Deposited articles (preprints, e-prints, or arXiv)	Krick T, Shub DA, Verstraete N, Ferreiro DU, Alonso LG, Shub M, et al. Amino acid metabolism conflicts with protein diversity; 1991. Preprint. Available from: arXiv:1403.3301v1 . Cited 17 March 2014.
Published media (print or online newspapers and magazine articles)	Fountain H. For Already Vulnerable Penguins, Study Finds Climate Change Is Another Danger. <i>The New York Times</i> . 29 Jan 2014. Available from: http://www.nytimes.com/2014/01/30/science/earth/climate-change-taking-toll-on-penguins-study-finds.html . Cited 17 March 2014.
New media (blogs, web sites, or other written works)	Allen L. Announcing PLOS Blogs. 2010 Sep 1 [cited 17 March 2014]. In: <i>PLOS Blogs</i> [Internet]. San Francisco: PLOS 2006 - . [about 2 screens]. Available from: http://blogs.plos.org/plos/2010/09/announcing-plos-blogs/ .
Masters' theses or doctoral dissertations	Wells A. <i>Exploring the development of the independent, electronic, scholarly journal</i> . M.Sc. Thesis, The University of Sheffield. 1999. Available from: http://cuminad.scix.net/cgi-bin/works/Show?2e09
Databases and repositories (Figshare, arXiv)	Roberts SB. QPX Genome Browser Feature Tracks; 2013 [cited 2013 Oct 5]. Database: figshare [Internet]. Available from: http://figshare.com/articles/QPX_Genome_Browser_Feature_Tracks/701214 .
Multimedia (videos, movies, or TV shows)	Hitchcock A, producer and director. <i>Rear Window</i> [Film]; 1954. Los Angeles: MGM.

Supporting Information

Authors can submit essential supporting files and multimedia files along with their manuscripts. All supporting information will be subject to peer review. All file types can be submitted, but files must be smaller than 10 MB in size.

Authors may use almost any description as the item name for a supporting information file as long as it contains an "S" and number. For example, "S1 Appendix" and "S2 Appendix," "S1 Table" and "S2 Table," and so forth.

Supporting information files are published exactly as provided, and are not copyedited.

Supporting information captions

List supporting information captions at the end of the manuscript file. Do not submit captions in a separate file.

The file number and name are required in a caption, and we highly recommend including a one-line title as well. You may also include a legend in your caption, but it is not required.

Example caption

S1 Text. Title is strongly recommended. Legend is optional.

In-text citations

We recommend that you cite supporting information in the manuscript text, but this is not a requirement. If you cite supporting information in the text, citations do not need to be in numerical order.

Read the supporting information guidelines for more details about submitting supporting information and multimedia files.

Figures and Tables

Figures

Do not include figures in the main manuscript file. Each figure must be prepared and submitted as an individual file.

Cite figures in ascending numeric order upon first appearance in the manuscript file.

Read the guidelines for figures.

Figure captions

Figure captions must be inserted in the text of the manuscript, immediately following the paragraph in which the figure is first cited (read order). Do not include captions as part of the figure files themselves or submit them in a separate document.

At a minimum, include the following in your figure captions:

- A figure label with Arabic numerals, and “Figure” abbreviated to “Fig” (e.g. Fig 1, Fig 2, Fig 3, etc). Match the label of your figure with the name of the file uploaded at submission (e.g. a figure citation of “Fig 1” must refer to a figure file named “Fig1.tif”).
- A concise, descriptive title

The caption may also include a legend as needed.

Read more about figure captions.

Tables

Cite tables in ascending numeric order upon first appearance in the manuscript file.

Place each table in your manuscript file directly after the paragraph in which it is first cited (read order). Do not submit your tables in separate files.

Tables require a label (e.g., “Table 1”) and brief descriptive title to be placed above the table. Place legends, footnotes, and other text below the table.

Read the guidelines for tables.