

HENDRIA CIRQUEIRA MARTINS

BIOECOLOGIA DE TRÊS ESPÉCIES DE FORÍDEOS PARASITÓIDES
DA SAÚVA *Atta bisphaerica*

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do
título de Magister Scientiae.

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

M386b
2015 Martins, Hendria Cirqueira, 1990-
Bioecologia de três forídeos parasitoides da saúva *Atta
bisphaerica* / Hendria Cirqueira Martins. – Viçosa, MG, 2015.
x, 67f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Terezinha Maria Castro Della Lucia.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Formiga-cortadeira - Parasitoide. 2. *Atta bisphaerica*.
3. *Phoridae*. 4. *Apocephalus attophilus*. 5. *Eibesfeldiphora
bragancai*. 6. *Myrmosicarius grandicornis*. 7. Relação
hospedeiro-parasito. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-graduação
em Entomologia. II. Título.


CDD 22. ed. 595.774

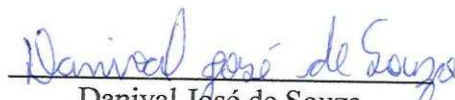
HENDRIA CIRQUEIRA MARTINS


BIOECOLOGIA DE TRÊS ESPÉCIES DE FORÍDEOS PARASITOIDES
DA SAÚVA *Atta bisphaerica*

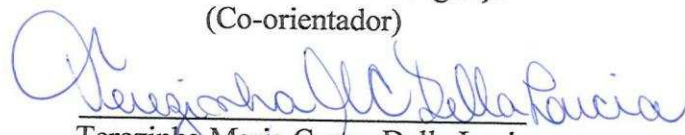
Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Entomologia, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de Março de 2015.


Marco Antonio de Oliveira


Danival José de Souza


Marcos Antonio Lima Bragança
(Co-orientador)


Terezinha Maria Castro Della Lucia
(Orientadora)

Às mulheres da minha vida, mãe e irmã por seu apoio inestimável durante toda a minha formação acadêmica, por sempre acreditarem nos meus sonhos e ideais, e lutarem pra que eles se tornassem realidade.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Entomologia, pelo conhecimento recebido ao longo desses dois anos de mestrado.

A Professora Dra. Terezinha Della Lucia que me recebeu de braços abertos em Viçosa, pela orientação durante esses três anos que resido em Viçosa, e também pelo carinho e amizade ao longo desse período.

Ao professor Dr. Marcos Antonio Lima Bragança, não só pela orientação neste trabalho, por todos “puxões de orelha” e conselhos ao longo desses seis anos de orientação e amizade. Muito obrigada!

Ao professor Msc. Rafael José, pela ajuda essencial nas análises estatísticas desse trabalho.

Ao professor Dr. Alberto Akama, por todos esses anos de amizade, sempre me dando força e me colocando pra cima nos meus piores momentos, valeu muito japa!

Aos colegas do Laboratório de Formigas Cortadeiras, Lailla, Joel, Karina e Bressane. Em especial a Bressane e Lailla, que contribuíram para a realização destes experimentos.

Ao funcionário do Insetário Manuel Ferreira, por ter me acompanhando em todas as coletas de campo, por sua dedicação e preocupação com meu trabalho e também a sua esposa dona Maria.

A todas as moradoras das Republicas DIVAS e Garruchas, que me acolheram ao longo desses três anos, e com certeza as amizades feitas aqui seguiram comigo por toda a vida. Em especial agradeço a diva Aline Francêz, que esteve comigo desde o principio

de tudo, por todas as noites sem dormir de estudo e de laboratório e a Garrucha Bruna Ferreira que tantas vezes me ajudou no laboratório mesmo sendo uma aspirante a Economista.

Aos meus amigos da Universidade Federal do Tocantins, Yuri Modesto, Lana Rubia, por apoio e contribuições na escrita deste trabalho.

A minha irmã querida Hemilly Cirqueira, que no fim deste percurso literalmente colocou a mão na massa pra me ajudar, por toda a ajuda e companhia.

A minha mãe Zenilde Cirqueira por sempre acreditar nos meus sonhos, e me apoiar, fazendo todo esforço possível e até mesmo o impossível, para que eu possa atingir meus objetivos. Você sempre foi e sempre será os alicerces do meu sucesso.

Aos amigos que vou levar pra vida, do Programa de pós-graduação em Entomologia, em especial Morgana Porto, Kiki (Crislayne Souza), Hernane Araújo e Marcos Mendes.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Enfim, a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a construção desta dissertação.

BIOGRAFIA

HENDRIA CIRQUEIRA MARTINS, filha de Zenilde Cirqueira Martins e Cleone Martins Cerqueira, nasceu em Porto Nacional, Estado do Tocantins, Brasil, no dia 16 de agosto de 1990.

Graduou-se em Ciências Biológicas, em fevereiro de 2012, obtendo o título de Bacharela, pela Universidade Federal do Tocantins (UFT), Porto Nacional, TO, Brasil.

Desenvolveu estágio junto ao laboratório de Entomologia da UFT, onde foi bolsista de iniciação científica entre os anos de 2009 e 2012, atuando sempre na área de ecologia e biologia de forídeos parasitoides de formigas-cortadeiras.

Em 2012 mudou-se para Viçosa, Minas Gerais, onde realizou estágio no Laboratório de Formigas cortadeiras da Universidade Federal de Viçosa, com auxílio do Projeto Bionorte.

Em abril 2013, ingressou no Programa de Pós-graduação em Entomologia da UFV defendendo a dissertação em 26 de março de 2015.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	7
CAPÍTULO 1.	17
PARASITISMO E SAZONALIDADE DE FORÍDEOS DA SAÚVA <i>Atta</i> <i>bisphaerica</i>	17
RESUMO.....	18
ABSTRACT	20
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	26
ÁREA DE ESTUDO.....	26
COLETA DAS OPERÁRIAS E OBTENÇÃO DOS PARASITOIDES.....	26
MEDIÇÃO DE OPERÁRIAS E MOSCAS	28
ANÁLISE DE DADOS.....	29
RESULTADOS	30
TAXAS DE PARASITISMO	30
SAZONALIDADE E TAMANHO DO HOSPEDEIRO	31
CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DOS FORÍDEOS	32
DISCUSSÃO.....	33
REFERÊNCIAS	37
CAPÍTULO 2.	48
TAMANHO DO HOSPEDEIRO COMO FATOR LIMITANTE PARA A PROLE DE FORÍDEOS PARASITOIDES DE <i>Atta bisphaerica</i> FOREL	48
RESUMO.....	49
ABSTRACT	51
INTRODUÇÃO.....	53
MATERIAL E MÉTODOS.....	55
OBTENÇÃO DOS PARASITOIDES.....	55
ANÁLISE DE DADOS.....	57
RESULTADOS	58
DISCUSSÃO.....	59
REFERÊNCIAS	60

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

TABELA 1- Sobrevivência em laboratório de operárias de *Atta bisphaerica* parasitadas no campo por três espécies de forídeos 45

TABELA 2 - Período pupal de três espécies de forídeos parasitoides de *Atta bisphaerica* 45

CAPÍTULO 2

TABELA 1- Sobrevivência em laboratório de operárias de *Atta bisphaerica* parasitadas no campo por três espécies de forídeos 65

TABELA 2- Teste qui-quadrado para a razão sexual de *Eibesfeldtphora bragancai* na classe de tamanho grande 65

TABELA 3- Teste qui-quadrado para a razão sexual de *Eibesfeldtphora bragancai* na classe de tamanho pequeno 65

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

FIGURA 1- Taxa de parasitismo total (%) por ninho e proporção do parasitismo (%) para três espécies de forídeos entre ninhos 46

FIGURA 2- Correlação de Spearman entre a taxa de parasitismo de *Atta bisphaerica* por forídeos e a temperatura mínima, no período de junho de 2012 a maio de 2013 47

FIGURA 3- Correlação da Spearman entre a proporção de parasitismo de *Atta bisphaerica* por *Eibesfeldtphora bragancai* e a umidade relativa do ar no período de junho de 2012 a maio de 2013..... 47

FIGURA 4- (a) Comparação da precipitação pluviométrica entre os períodos seco (junho a outubro de 2012) e chuvoso (novembro/2012 a maio/2013). (b) Comparação da taxa de parasitismo de *Atta bisphaerica* por três espécies de forídeos entre os períodos seco e chuvoso 48

FIGURA 5- Largura da cápsula cefálica de operárias de *Atta bisphaerica* parasitadas por três espécies de forídeos 48

CAPÍTULO 2

FIGURA 1- Comparação entre as operárias grandes e pequenas de *Atta bisphaerica* 66

FIGURA 2- Correlação entre o tamanho da cápsula cefálica de operárias de *Atta bisphaerica* e a largura do mesonoto das moscas de seu hospedeiro *Eibesfeldtphora bragancai* 66

FIGURA 3- Correlação entre o número de pupas de *Apocephalus attophilus* e a largura da cápsula cefálica de seu hospedeiro *Atta bisphaerica*.... 67

RESUMO

MARTINS, Hendria Cirqueira, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, março de 2015. **Bioecologia de três espécies de forídeos parasitoides da saúva** *Atta bisphaerica*. Orientadora: Terezinha Maria Castro Della Lucia.

As formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* constituem importantes pragas florestais, de pastagens e de áreas cultivadas no Brasil. Dentre estas a formiga cortadeira *Atta bisphaerica* Forel, 1908 destaca-se como importante praga de cana-de-açúcar e também de áreas de pastagem. Atualmente, o método mais utilizado para controle dessas formigas é a utilização de iscas granuladas. Porém, este parece não ser o método mais eficiente para o controle das mesmas, pois as iscas com polpa cítrica não têm se mostrado muito atrativa para *A. bisphaerica*, cortando principalmente gramíneas. Além disso, iscas granuladas podem causar danos a outras espécies benéficas, ao solo e até mesmo ao homem. Forídeos (Diptera: Phoridae) parasitoides vêm sendo estudados nas últimas duas décadas no Brasil para que possam ser utilizados como uma estratégia alternativa no manejo de formigas cortadeiras. No entanto, existe apenas um trabalho desenvolvido com forídeos de *A. bisphaerica*.

Nesse trabalho de Bragança e colaboradores, foram encontradas três espécies de forídeos utilizando *A. bisphaerica* como hospedeiro (*Apocephalus attophilus*, *Eibesfeldtphora bragancai* e *Myrmosicarius grandicornis*). Porém, observações em campo feitas recentemente indicaram que um maior número de espécies pertencentes a estes gêneros podem estar associadas a esta espécie. Também não existem informações sobre as taxas de parasitismo natural de *A. bisphaerica* por forídeos a distribuição sazonal destes, sendo estas informações importantes para se formular estratégias de manejo de formigas cortadeiras.

ABSTRACT

MARTINS, Hendria Cirqueira, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, March, 2015. **Bioecology of three species of parasitoids of leaf cutting ant *Atta bisphaerica***. Orientadora: Terezinha Maria Castro Della Lucia.

Leaf-cutting ants from *Atta* and *Acromyrmex* are important forest pests, pastures and cultivated areas in Brazil. Among these the leaf-cutting ant *Atta bisphaerica* Forel, 1908 stands out as an important pest of sugarcane and also to pasture areas. Currently, the most widely used method to control these ants is the use of granulated bait. However, this does not seem to be the most efficient method for controlling the same, because the lures with citrus pulp do not have been very attractive to *A. bisphaerica* mainly cutting grass. Furthermore, granular bait may harm other beneficial species, soil and even to humans. Phorid (Diptera: Phoridae) parasitoids have been studied over the past two decades in Brazil so they can be used as an alternative strategy in the management of cutting ants. However, there is only one work with phorid flies from *A. bisphaerica*. In this work Bragança and collaborators found three species of phorid use *A. bisphaerica* as host (*Apocephalus attophilus*, *Eibesfeldtphora bragancai* and *Myrmosicarius grandicornis*). However, recent observations made in the field indicated that a greater number of species belonging to these genera may be associated with this species. There is also no information on the parasitism rate by *A. bisphaerica* phorids the seasonal distribution of these, which are important information to formulate management strategies of cutting ants.

INTRODUÇÃO GERAL

As formigas-cortadeiras pertencentes à tribo Attini (Myrmicinae), dos gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns) estão entre os herbívoros mais importantes existentes na região Neotropical, removendo maior quantidade de fragmentos vegetais que qualquer outro grupo animal (Hölldobler & Wilson 1990). Tais formigas constituem um grupo monofilético (Schultz & Brady 2008), que se especializou no corte e fragmentação de vegetais, cuja seiva é utilizada na alimentação das operárias adultas no ato de corte e transporte, e como substrato para o cultivo de fungos simbioses que são utilizados como alimento para suas formas imaturas no interior dos ninhos (Littleddyke & Cherrett 1976, Quinlan & Cherret 1979). O cultivo de fungos é uma prática comum entre os membros da tribo Attini, porém as formigas-cortadeiras de folhas dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* utilizam vegetais frescos como substrato para o desenvolvimento do fungo (Boaretto & Forti 1997, Moreira et al. 2011), enquanto outros membros da tribo utilizam materiais em decomposição (Lopes 2007).

As saúvas possuem um papel importante no ecossistema, participando da ciclagem de nutrientes (Coutinho 1984), dispersão de sementes e fertilização do solo (Hölldobler & Wilson 1990). Assim, elas são capazes de modificar direta ou indiretamente a disponibilidade de recursos para espécies vegetais e também alterar a matéria biótica e abiótica, sendo consideradas por alguns autores como “engenheiras de ecossistemas” (Jones et al. 1996, Folgarait 1998, Guillade & Folgarait 2011). No entanto, algumas espécies de saúvas são consideradas importantes pragas florestais e de culturas agrícolas (Hölldobler & Wilson 1990,

Boaretto & Forti 1997, Zanetti et al. 2000). No Brasil, as espécies *Atta sexdens* (Linnaeus), *Atta laevigata* Smith, *Atta capiguara* Gonçalves e *Atta bisphaerica* Forel são consideradas de importância econômica, pois podem se tornar sérias pragas em ambientes alterados pelo homem, como campos agrícolas, pastagens e reflorestamentos (Cherret 1986, Fowler et al. 1989, Araújo 2003). *Atta bisphaerica* se destaca como praga de pastagens e principalmente de cana-de-açúcar (Mariconi 1970, Della Lucia 1999).

Métodos químicos como o uso de termonebulização e de iscas a base de sulfluramida e fipronil, métodos mecânicos pela escavação de ninhos ainda jovens e métodos culturais como a aração do solo, resistência de plantas são utilizados no manejo de formigas-cortadeiras (Della Lucia et al. 2014). O método mais utilizado é o uso de iscas a base de sulfluramida, que muitas vezes são altamente poluentes para o solo e inespecíficos, matando espécies não alvo, além da espécie alvo (Pimentel et al. 1991, Hebling et al. 2000). Outras formas de combate a populações de formigas-cortadeiras vêm sendo estudadas, entre elas a utilização de óleos vegetais com potencial inseticida (Bueno & Bueno 2011), bem como estudos visando à utilização de inimigos naturais (Oliveira et al. 2011).

A grande variedade de inimigos naturais, tais como: pássaros predadores que atacam as iças e os bitus durante a revoada, tatus, tamanduás, coleópteros, fungos entomopatogênicos e fungos parasitas das formigas-cortadeiras e do seu fungo simbionte, e também parasitoides, como algumas vespas da família Diapriidae e dípteros da família Phoridae são importantes no controle biológico

natural de formigas-cortadeiras (Oliveira et al. 2011). Tais agentes são responsáveis por 99,95% das mortes de rainhas de formigas-cortadeiras antes da fundação de seus ninhos (Almeida et al. 1983). Destes, os mais estudados são os fungos entomopatogênicos (Hughes et al. 2004, Leger 2008); fungos parasitas (Schultz & Brady 2008) e os forídeos parasitoides (Bragança 2011).

Membros da família Phoridae são provavelmente insetos com a maior diversidade de formas de vida em estágios imaturos (Disney 1994). Muitos são saprófagos, mas também existem espécies herbívoras, predadoras e parasitoides. Alguns destes parasitam especialmente formigas (Disney 1994, Feener & Brown 1997) e vêm sendo utilizados no controle biológico clássico das formigas *Solenopsis invicta* Buren e *Solenopsis richteri* Forel (Mészáros et al. 2014), que foram introduzidas acidentalmente no sul dos Estados Unidos, entre as décadas de 1910 e 1930 (Wilson 1951, Buren et al. 1974). Os inimigos naturais dessas espécies foram deixados na região de origem. Esse fato associado à grande capacidade de reprodução e ao comportamento de forrageio agressivo das *Solenopsis* as tornou pragas causadoras de grandes perdas na agricultura, vida selvagem e ao homem (Thompson & Jones 1996). Quatro espécies de forídeos do gênero *Pseudacteon* foram liberadas e estabelecidas para o controle biológico de *Solenopsis* sp. nos EUA (Porter et al. 2004, Vazquez et al. 2006, Gilbert et al. 2008).

Os estudos sobre a interação entre formigas-cortadeiras e forídeos parasitoides tiveram início no começo do século passado. Tais trabalhos tiveram como foco principalmente a descrição de espécies (Borgmeier 1928, 1931, Prado

1976). A partir da década de 1990 os estudos da biologia, ecologia e comportamento, visando à possibilidade de utilização dos forídeos como agentes no manejo de formigas-cortadeiras foram intensificados (Orr 1992, Feener & Moss 1990, Tonhasca 1996, Bragança et al. 1998). Atualmente, são conhecidos sete gêneros de forídeos parasitoides com pelo menos 70 espécies que são associados a pelo menos nove espécies do gênero *Atta* e dezenove espécies do gênero *Acromyrmex* (Bragança 2011, Brown et al. 2012, Disney & Bragança 2014, Uribe et al. 2014), sendo que a maioria dos forídeos pertencem aos gêneros *Apocephalus* Coquillet, 1901, *Myrmosicarius* Borgmeier, 1928 e *Eibesfeldtphora* Disney que recentemente foi elevado de subgênero ao nível de gênero (Disney et al. 2009).

Alguns dados sobre a ecologia comportamental de forídeos parasitoides de saúvas já foram elucidados para algumas espécies, como os locais de ataque às operárias no campo (entradas dos ninhos, ao longo das trilhas ou área de corte dos vegetais) e suas estratégias de ataque para oviposição no corpo dos hospedeiros (diferentes partes da cabeça ou abdome) (Erthal & Tonhasca 2000, Tonhasca et al. 2001, Bragança et al. 2003, Bragança et al. 2009). Além disso, também foram descobertos detalhes de sua biologia, sendo que suas larvas podem se alimentar do conteúdo da cápsula cefálica ou do tórax da operária, dependendo da espécie de forídeo (Erthal & Tonhasca 2000, Tonhasca et al. 2001, Bragança et al. 2002, Bragança & Medeiros 2006). O local de formação pupal também é variável, ocorrendo no interior da cápsula cefálica do hospedeiro (Tonhasca et al. 2001), entre as suas mandíbulas (Bragança et al. 2002), na

cavidade do protórax (Bragança & Medeiros 2006), ou ainda, como as larvas de *Apocephalus attophilus* Borgmeier, que abandonam o corpo do hospedeiro pela abertura bucal para empupar (Erthal & Tonhasca 2000).

Poucos trabalhos foram realizados com a finalidade de conhecer as taxas de parasitismo natural causados por forídeos em saúvas, sendo esta uma informação importante para subsidiar o controle biológico no manejo de formigas-cortadeiras. Taxas de parasitismo de 2,8% para a saúva *A. laevigata* foram relatadas na região Norte em área de Cerrado e de 4,0% na região Sudeste do Brasil (Bragança & Medeiros 2006, Erthal & Tonhasca 2000), enquanto na região Sudeste foi encontrada taxa de parasitismo de 2,2% para *A. sexdens* (Tonhasca 1996). Guillade & Folgarait (2011) relataram taxa de 3,8% de parasitismo para *Atta vollenweideri* Forel na Argentina.

A relação entre as taxas de parasitismo por forídeos e fatores climáticos (temperatura e umidade) também foram avaliadas. Segundo Bragança & Medeiros (2006), o parasitismo encontrado para *A. laevigata* em áreas de Cerrado foi maior durante o período mais seco do ano naquele local nos meses de julho e agosto. Em trabalho realizado em 2010 com parasitoides de *A. vollenweideri* na Argentina a correlação entre a riqueza e abundância de forídeos e fatores climáticos foi fraca, no entanto estes parâmetros tiveram uma correlação forte com a abundância de hospedeiros (Elizalde & Fogarait 2010). Trabalhos realizados com o mesmo hospedeiro demonstraram maior parasitismo durante os meses correspondentes ao inverno (Elizalde & Folgarait 2011, Guillade & Folgarait 2011).

A taxa de parasitismo também depende do tamanho das operárias presentes nas trilhas e áreas de forrageamento. Bragança et al. (2002) relataram que o tamanho de operárias de *A. laevigata* parasitadas por *Eibesfeldtphora tonhascai* (Brown) e *Eibesfeldtphara erthali* (Brown) foram significativamente maiores que outras operárias presentes nas trilhas de forrageamento. Tonhasca et al. (2001) afirmam que a coexistência de várias espécies de forídeos em uma mesma trilha de forrageamento ocorre porque as diferentes espécies de moscas escolhem tamanhos de operárias distintas para atacar. Neste estudo, o tamanho médio de operárias parasitadas por *Myrmosicarius grandicornis* Borgmeier foi significativamente menor que o tamanho de operárias parasitadas por *Eibesfeldtphora*. Espécies deste gênero geralmente escolhem as maiores operárias de *Atta* para ovipositar (Bragança et al. 2009), pois moscas grandes supostamente precisam de hospedeiros que lhes confirmem nutrientes suficientes para que as larvas consigam atingir seu desenvolvimento completo (Morrison et al. 1999).

Forídeos influenciam o forrageamento de formigas-cortadeiras de forma indireta, não causando mortalidade significativa, mas grande diminuição no transporte de fragmentos vegetais e no número de operárias presentes nas trilhas, fazendo com que as formigas abandonem suas cargas e retornem para o interior dos ninhos (Orr 1992, Bragança et al. 1998, Tonhasca et al. 2001). Portanto, obtenção de informações detalhadas a respeito da biologia e ecologia dessas moscas é um importante passo para a melhor avaliação dos forídeos como candidato a agente no manejo de saúvas.

REFERÊNCIAS

Almeida, A. D., Alves, J. E. M., Mendes filho, J. D. A., & Laranjeiro, A. J. (1983). A avifauna e o sub-bosque como fatores auxiliares no controle biológico das saúvas em florestas implantadas. *Silvicultura*, 28: 145-150.

Araújo, M. D. S., Della lucia, T. M. C., & Souza, D. D. (2003). Estratégias alternativas de controle de formigas-cortadeiras. *Bahia Agrícola*, 6: 685-691.

Boaretto, M. A. C., & Forti, L. C. (1997). Perspectivas no controle de formigas-cortadeiras. *Série técnica IPEF*, 11: 31-46.

Borgmeier, T. (1928). Nota previa sobre alguns phorideos que parasitam formigas cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*. *Boletim Biologico SP*, 14: 119-126.

Borgmeier, T. (1931). Sobre alguns forídeos que parasitam a saúva e outras formigas-cortadeiras (Diptera: Phoridae). *Archivos do Instituto Biologico*, 4: 209-228.

Bragança, M. A. L. (2011). Parasitoides de formigas-cortadeiras. *Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo*. Viçosa, Editora da UFV, 1: 321-343.

Bragança, M. A. L., Tonhasca, A., & Lucia, T. (1998). Reduction in the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* caused by the phorid *Neodohniphora* sp. *Entomologia experimentalis et applicata*, 89: 305-311.

Bragança, M. A., & Medeiros, Z. C. (2006). Ocorrência e características biológicas de forídeos parasitoides (Diptera: Phoridae) da saúva *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) em Porto Nacional, TO. *Neotropical Entomology*, 35: 408-411.

Bragança, M. A., Della Lucia, T., & Tonhasca Jr, A. (2003). First record of phorid parasitoids (Diptera: Phoridae) of the leaf-cutting ant *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 32: 169-171.

Bragança, M. A., Tonhasca Jr, A., & Moreira, D. (2002). Parasitism characteristics of two phorid fly species in relation to their host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 31: 241-244.

Bragança, M. A., Tonhasca, A. J., & Della Lucia, T. M. (2009). Características biológicas e comportamentais de *Neodohniphora elongata* Brown (Diptera, Phoridae), um parasitoide da saúva *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae). *Revista brasileira de Entomologia*, 53: 600-606.

Brown, B. V., Braganca, M. A., Gomes, D. S., Queiroz, J. M., & Teixeira, M. C. (2012). Parasitoid phorid flies (Diptera: Phoridae) from the threatened leafcutter ant *Atta robusta* Borgmeier (Hymenoptera: Formicidae). *Zootaxa*, 3385: 33-38

Bueno, O. C., Bueno, F. C. Plantas inseticidas: Perspectivas de uso no controle de formigas-cortadeiras (2011). Della Lucia, T. M. C. As formigas-cortadeiras, da Bioecologia ao manejo. Viçosa, Editora UFV, 102-125.

Cherrett, J. M., Atta-Krah, A. N., Ahmed, A. K. H., Potts, G. R., Cruz, I. P., Moscardi, F., & Pollard, G. V. (1986). The biology, pest status and control of leaf-cutting ants. *Agricultural Zoology Reviews* (No. RISPAL-MR No. 034). CIID.

Coutinho, L. M. (1984). Aspectos ecológicos da saúva no cerrado. A saúva, as queimadas e sua possível relação na ciclagem de nutrientes minerais. *Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo*, 8: 1-9.

Della Lucia T. M. C (1993) As Formigas-cortadeiras. Viçosa, Folha de Viçosa, 262 p.

Della Lucia, T. M. C. (1999). *Atta bisphaerica*: uma ilustre desconhecida. *Naturalia*, 24: 53-59.

Della Lucia, T., Gandra, L. C., & Guedes, R. N. (2014). Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest management science*, 70: 14-23.

Disney, R. H. L. (1994) *Scuttle Flies: the Phoridae*. Londres. Chapman & Hall Editora, 467 p.

Disney, R. H. L., & Bragança, M. A. (2014). New Records, Including a New Species, of Scuttle Flies (Diptera: Phoridae) Associated with Leaf Cutter Ants (Hymenoptera: Formicidae) in Brazil. *Sociobiology*, 61: 341-344.

Disney, R. H. L., Elizalde, L., & Folgarait, P. J. (2009). New species and new records of scuttle flies (Diptera: Phoridae) that parasitize leaf-cutter and army ants (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 54: 601-632.

Elizalde, L., & Folgarait, P. J. (2010). Host diversity and environmental variables as determinants of the species richness of the parasitoids of leaf-cutting ants. *Journal of biogeography*, 37: 2305-2316.

Elizalde, L., & Folgarait, P. J. (2011). Biological attributes of Argentinian phorid parasitoids (Insecta: Diptera: Phoridae) of leaf-cutting ants, *Acromyrmex* and *Atta*. *Journal of Natural History*, 45: 2701-2723.

Erthal, M., & Tonhasca, A. (2000). Biology and oviposition behavior of the phorid *Apocephalus attophilus* and the response of its host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 95: 71-75.

Feener Jr, D. H., & Brown, B. V. (1997). Diptera as parasitoids. *Annual review of entomology*, 42: 73-97.

Feener Jr, D. H., & Moss, K. A. (1990). Defense against parasites by hitchhikers in leaf-cutting ants: a quantitative assessment. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 26: 17-29.

Folgarait, P. J. (1998). Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review. *Biodiversity & Conservation*, 7: 1221-1244.

Fowler, H. G., Pagani, M. I., Da Silva, O. A., Forti, L. C., Da Silva, V. P., & De Vasconcelos, H. L. (1989). A pest is a pest is a pest? The dilemma of Neotropical leaf-cutting ants: keystone taxa of natural ecosystems. *Environmental Management*, 13: 671-675.

Gilbert, L. E., Barr, C. L., Calixto, A. A., Cook, J. L., Drees, B. M., Lebrun, E. G., & Puckett, R. T. (2008). Introducing phorid fly parasitoids of red imported fire ant workers from South America to Texas: outcomes vary by region and by *Pseudacteon* species released. *Southwestern Entomologist*, 33: 15-29.

Guillade, A. C., & Folgarait, P. J. (2011). Life-history traits and parasitism rates of four phorid species (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Atta vollenweideri* (Hymenoptera: Formicidae) in Argentina. *Journal of economic entomology*, 104: 32-40.

Hebling, M. J. A., Bueno, O. C., Pagnocca, F. C., Da Silva, O. A., & Maroti, P. S. (2000). Toxic effects of *Canavalia ensiformis* L. (Leguminosae) on laboratory colonies of *Atta sexdens* L. (Hym.: Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, 124: 33-35.

Hölldobler B., Wilson E. O (1990) *The ants*. Cambridge, Harvard University Press Editora, 733 p.

Hughes, W. O. H., Thomsen, L., Eilenberg, J., & Boomsma, J. J. (2004). Diversity of entomopathogenic fungi near leaf-cutting ant nests in a neotropical forest, with particular reference to *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Journal of invertebrate pathology*, 85: 46-53.

Jones, C. G., Lawton, J. H., & Shachak, M. (1996). Organisms as ecosystem engineers. In *Ecosystem Management* 130-147.

Leger, R. J. S. (2008). Studies on adaptations of *Metarhizium anisopliae* to life in the soil. *Journal of invertebrate pathology*, 98: 271-276.

Littleddyke, M., & Cherrett, J. M. (1976). Direct ingestion of plant sap from cut leaves by the leaf-cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae: Attini). *Bulletin of Entomological Research*, 66: 205-217.

Lopes, B. C (2007). Ecologia do forrageio por *Cyphomyrmex morschi* Emery (Hymenoptera: Formicidae) em vegetação de restinga no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 24: 52-56.

Mariconi, F. A. (1970). As saúvas. São Paulo: Agronômica Ceres, p.167.

Mészáros, A., Oi, D. H., Valles, S. M., Beuzelin, J. M., Reay-Jones, F. P., & Johnson, S. J. (2014). Distribution of *Pseudacteon* spp.(Diptera: Phoridae), biological control agents of *Solenopsis* spp.(Hymenoptera: Formicidae), in Louisiana and associated prevalence of *Kneallhazia solenopsae* (Microsporidia: Thelohaniidae). *Biological Control*, 77: 93-100.

Moreira D. D, Erthal M Jr, Samuels RI (2011) Alimentação e digestão em formigas-cortadeiras. *Formigas-Cortadeiras da Bioecologia ao Manejo*, 1: 204-225.

Morrison, L. W., Porter, S. D., & Gilbert, L. E. (1999). Sex ratio variation as a function of host size in *Pseudacteon* flies (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 66: 257-267.

Oliveira, M. A., Araújo, M. S., Marinho, C. G. S., Ribeiro, M. R., & Della Lucia, T. M. C. (2011). Manejo de formigas-cortadeiras. *Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo*, 1: 400-419.

Orr, M. R. (1992). Parasitic flies (Diptera: Phoridae) influence foraging rhythms and caste division of labor in the leaf-cutter ant, *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 30: 395-402.

Pimentel, D., McLaughlin, L., Zepp, A., Lakitan, B., Kraus, T., Kleinman, P., & Selig, G. (1991). Environmental and economic effects of reducing pesticide use. *BioScience*, 402-409.

Porter, S. D., de Sá, L. A. N., & Morrison, L. W. (2004). Establishment and dispersal of the fire ant decapitating fly *Pseudacteon tricuspis* in North Florida. *Biological Control*, 29: 179-188.

Prado, A. D. (1976). Records and descriptions of phorid flies, mainly of the Neotropical Region (Diptera; Phoridae). *Studia Entomologica*, 19: 561-609.

Quinlan, R. J., & Cherrett, J. M. (1979). The role of fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* (L.). *Ecological Entomology*, 4: 151-160.

Schultz, T. R., & Brady, S. G. (2008). Major evolutionary transitions in ant agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105: 5435-5440.

Thompson, L., & Jones, D. (1996). Expanding the Arkansas IFA farm survey over the south. In *Proceedings 1996 Imported Fire Ant Research Conference*, New Orleans, Louisiana 81-83.

Tonhasca Jr, A. (1996). Interactions between a parasitic fly, *Neodohrniphora declinata* (Diptera: Phoridae), and its host, the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Ecotropica*, 2: 157-164.

Tonhasca Jr, A., Bragança, M. A. L., & Erthal Jr, M. (2001). Parasitism and biology of *Myrmosicarius grandicornis* (Diptera: Phoridae) in relationship to its host, the leaf-cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae). *Insectes Sociaux*, 48: 154-158.

Uribe, S., Brown, B. V., Braganca, M. A., Queiroz, J. M., & Nogueira, C. A. (2014). New species of *Eibesfeldtphora* Disney (Diptera: Phoridae) and a new key to the genus. *Zootaxa*, 3814: 443-450.

Vazquez, R. J., Porter, S. D., & Briano, J. A. (2006). Field release and establishment of the decapitating fly *Pseudacteon curvatus* on red imported fire ants in Florida. *BioControl*, 51: 207-216.

Wilson, E. O. (1951). Variation and adaptation in the imported fire ant. *Evolution*, 68-79.

Zanetti, R., Vilela, E. F., Zanuncio, J. C., Leite, H. G., & Freitas, G. D. (2000). Influência da espécie cultivada e da vegetação nativa circundante na densidade de saueiros em eucaliptais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35: 1911-1918

Capítulo 1.

PARASITISMO E SAZONALIDADE DE FORÍDEOS DA SAÚVA *Atta bisphaerica*

RESUMO

Atta bisphaerica Forel (Formicidae: Attini) corta exclusivamente monocotiledôneas e tem sido uma importante praga de pastagens e plantações de cana-de-açúcar. Para fornecer subsídios de uma possível estratégia complementar ou alternativa ao controle químico desta saúva, este trabalho objetivou elucidar alguns aspectos de forídeos parasitoides associados a *A. bisphaerica*, verificando as taxas de parasitismo natural, a sazonalidade na ocorrência de diferentes espécies, a variação intercolonial e a influência do tamanho do hospedeiro no parasitismo. Foram feitas coletas quinzenais de operárias de quatro ninhos de *A. bisphaerica* na região de Viçosa, MG, durante 12 meses. As operárias foram transportadas para o Laboratório de Formigas-cortadeiras da Universidade Federal de Viçosa (UFV), e armazenadas em bandejas plásticas. As formigas foram alimentadas com solução de mel 10% e mantidas em sala de criação. Diariamente, as formigas mortas foram individualizadas em tubos de ensaio, e após três dias foram observadas sob estereomicroscópio para avaliar se estavam parasitadas por forídeos. Formigas parasitadas foram mantidas em uma câmara climatizada com ausência de luz até a emergência dos forídeos. Das 91.554 operárias de *A. bisphaerica* coletadas, 4,37% estavam parasitadas por três espécies de forídeos, *Apocephalus attophilus*, *Eibesfeldtphora bragancai* e *Myrmomicarius grandicornis*, com as proporções de 40,90%, 27,93% e 31,17%, respectivamente. Tais proporções diferiram estatisticamente e as três espécies escolheram tamanhos diferentes de hospedeiros para ovipositar com *A. attophilus*

escolhendo operárias maiores que *E. bragancai* e este maiores que *M. grandicornis*. A taxa de parasitismo total não diferiu entre os ninhos amostrados, no entanto, a proporção de parasitismo entre as espécies tem distribuições diferentes em cada ninho. *A. attophilus* apresentou maior parasitismo nos ninhos três e quatro, *E. bragancai* no ninho três e *M. grandicornis* nos ninhos um e dois. Existe uma correlação negativa entre a taxa de parasitismo total e a temperatura mínima, com o parasitismo diminuindo à medida que a temperatura mínima sobe. *E. bragancai* tem uma correlação positiva com a umidade relativa do ar ao longo dos meses de coleta; para as outras espécies não foram observadas correlações com fatores climáticos isoladamente. O parasitismo total também foi correlacionado positivamente com os meses mais secos do ano. Os resultados deste trabalho parecem explicar o parasitismo em escala local, uma vez que o parasitismo por forídeos pode ser influenciado por variação no habitat e microclima. A escolha de tamanhos diferentes de hospedeiros pelas três espécies de forídeos é uma informação importante, pois elas podem ser utilizadas em conjunto em futuros programas de manejo.

PALAVRAS-CHAVE: *Apocephalus attophilus*, *Eibesfeldtphora bragancai*, *Myrmosicarius grandicornis*, características biológicas, tamanho do hospedeiro

ABSTRACT

Atta bisphaerica Forel (Formicidae: Attini) cuts exclusively monocots and have been an important pest of pastures and sugar cane plantations. The control of this leaf-cutting ant is difficult due to the low attractiveness of these ants by baits containing citrus pulp and sulfluramid, the active component currently used to control these ants. This study had the purpose of searching for alternatives to the chemical control of this ants, and of elucidating some aspects of the biology of the phorid parasitoids associated with *A. bisphaerica*. It further determined their natural parasitism rates, the seasonality in the occurrence of different species, the intercolonial variation and the influence of host size on parasitism. Samples of workers were collected every fifteen days at four *A. bisphaerica* nests in the area of Viçosa, MG, for 12 months. The workers were transported to the Insectary –of the Federal University of Viçosa (UFV), and stored in plastic trays. The ants were fed honey solution at 10%. Every day, dead ants were individualized in test tubes and in three days they were observed under a stereomicroscope to assess whether they were parasitized by the phorid. Parasitized ants were kept in a climate chamber with no light until the emergence of the fly. Of the 91,554 workers of *A. bisphaerica* collected, 4.37% were parasitized by three species of phorids: *Apocephalus attophilus* Borgmeier (40.90%), *Eibesfeldtphora bragancai* Brown (27.93%) and *Myrmosicarius grandicornis* Borgmeier (31.17%). These proportions differed significantly and the three species chose different host sizes for oviposition, with *A. attophilus* choosing large workers

than *E. bragancai* and this species chose the largest individuals to parasitize. The total parasitism rate did not differ between the sampled nests, however, the proportion of parasitism between species has different distributions in each nest. There is a negative correlation between parasitism rate and temperature. *E. bragancai* has a positive correlation with relative humidity. The highest total parasitism was obtained in the driest month of the year. These results seem to explain the parasitism in a local scale, since the parasitism by phorid can be influenced by variation in habitat and microclimate. The three species of phorids chose different sizes of hosts: this is important information, because they can be used together in future management programs.

KEYWORDS: *Apocephalus* *atophilus*, *Eibesfeldtphora* *bragancai*, *Myrmosicarius* *grandicornis*, biological character, host size

INTRODUÇÃO

Moscas forídeas (Diptera: Phoridae) são parasitoides de muitas espécies de formigas, dentre elas as formigas-cortadeiras dos gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns) (Borgmeier 1928, Prado 1976, Disney 1994, Bragança et al. 2011). Estudos da interação entre essas moscas e saúvas foram intensificados nas últimas duas décadas (Orr 1992, Bragança et al. 1998, 2002, Guillade & Fogarait 2015), sendo que os forídeos dos hospedeiros *Atta laevigata* Smith e *Atta sexdens* (Linnaeus) foram os mais estudados (Erthal & Tonhasca 2000, Bragança & Medeiros 2006, Bragança et al. 2009). Estas saúvas são consideradas pragas importantes de áreas de reflorestamento e outros plantios no Brasil (Della Lucia et al. 2014).

Atta bisphaerica Forel (saúva mata-pasto) caracteriza-se por cortar apenas monocotiledôneas e destaca-se como importante praga de cana-de-açúcar e também de áreas de pastagem. A cana-de-açúcar é um dos três produtos agrícolas mais exportados pelo Brasil (Pereira et al. 2010) e a desfolha nessa cultura feita por apenas um ninho de *A. bisphaerica* é responsável pela perda de 3,6 toneladas anualmente, o que corresponde a cerca de 450 kg de açúcar ou 300 litros de álcool (Agrosciences 1998). Iscas tóxicas granuladas com o princípio ativo sulfluramida são atualmente o método mais utilizado no controle de formigas-cortadeiras (Della Lucia & Araújo 2000, Oliveira et al. 2011). Contudo, o controle de *A. bisphaerica* é dificultado devido à rejeição por suas operárias às iscas a base de sulfluramida, que têm como principal atrativo polpa cítrica (Della

Lucia 1999). Provavelmente, essa baixa atratividade se deve ao fato dessas formigas cortarem exclusivamente monocotiledôneas (Della Lucia 1999).

Informações importantes sobre as características biológicas, comportamento, taxas de parasitismo natural e sazonalidade dos forídeos associados a *A. sexdens* e *A. laevigata* estão disponíveis (Tonhasca 1996, Erthal & Tonhasca 2000, Bragança & Medeiros 2006, Bragança et al. 2009). Porém, há poucas informações do parasitismo de *A. bisphaerica* por forídeos (Bragança et al. 2003). A motivação do presente estudo foi fornecer mais dados básicos sobre forídeos associados à *A. bisphaerica*, fundamentando estudos futuros da utilização de forídeos no controle dessas pragas.

Detalhes da biologia de algumas espécies de forídeos são conhecidos, como por exemplo, local onde as larvas se alimentam (cápsula cefálica ou tórax do hospedeiro), local de formação pupal (interior da cápsula cefálica, entre as suas mandíbulas, cavidade do protórax ou fora do hospedeiro) (Erthal & Tonhasca 2000, Tonhasca et al. 2001, Bragança et al. 2002, Bragança & Medeiros 2006). Geralmente, estas características dependem da espécie de forídeo. Há apenas um estudo que foi realizado com a finalidade de conhecer os aspectos da associação entre *A. bisphaerica* e esses parasitoides. Neste trabalho três espécies de forídeos foram encontradas: *Apocephalus attophilus* Borgmeier, *Eibesfeldtphora bragancai* Brown e *Myrmosicarius grandicornis* Borgmeier (Bragança et al. 2003).

As taxas de parasitismo natural das saúvas por forídeos geralmente são baixas, não ultrapassando 5 ou 6% (Bragança & Medeiros 2006, Tonhasca 1996,

dados não publicados). Para a saúva *A. laevigata* foram relatadas taxas de 2,8% na região Norte e de 4,0% na região Sudeste do Brasil (Bragança & Medeiros 2006, Erthal & Tonhasca 2000). Para *A. sexdens* 2,2% (Tonhasca 1996) e 3,8% de parasitismo para *Atta vollenweideri* Forel na Argentina. (Guillade & Folgarait 2011). Essas taxas podem ser influenciadas por fatores climáticos como a temperatura, umidade e precipitação. Uma correlação positiva entre o parasitismo por forídeos e variações climáticas foram verificadas por Bragança & Medeiros et al. (2006), sendo que o parasitismo foi maior nas épocas mais quentes e secas do ano para o hospedeiro *A. laevigata*. Na Argentina, no entanto, maior riqueza e abundância de forídeos para o hospedeiro *A. vollenweideri* Forel foram correlacionadas com os meses mais frios do ano (Elizalde & Folgarait 2011, Guillade & Folgarait 2011). Também na Argentina, estudos realizados também com *A. vollenweideri*, demonstraram uma fraca relação entre fatores climáticos e o parasitismo por forídeos (Elizalde & Fogarait 2010). Outro fator que poderia indiretamente influenciar o parasitismo por forídeos é o tamanho das operárias que transitam nas trilhas de forrageamento, por exemplo, a média das cápsulas cefálicas das operárias atacadas por *Eibesfeldtphora* sp. apresentarem tamanho significativamente maior do que as atacadas por *M. grandicornis* (Tonhasca et al. 2001).

No presente trabalho foram elucidados detalhes da biologia dos forídeos parasitoides associados a *A. bisphaerica*, tais como: local onde ocorre o desenvolvimento larval e formação da pupa, período pupal e taxa de emergência dos forídeos. Foi verificado o efeito da variação climática sobre o parasitismo por

forídeos e avaliado também se havia diferença no tamanho das operárias parasitadas pelas diferentes espécies de forídeos.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

Este estudo foi realizado nos arredores do Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV), município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, entre os meses de junho de 2012 e maio de 2013. Foram utilizados quatro ninhos adultos de *A. bisphaerica* localizados em áreas de pastagem. Esses ninhos eram caracterizados por montes de terra espalhados sem formação de funil e trilhas estreitas e muitas vezes escondidas pela vegetação. Dois ninhos, nomeados como ninho N1 (20°47'01.4''S; 42°50'42.3''W) e N2 (20°46'56.7''S; 42°50'42.1''W), estavam localizados em uma propriedade externa ao Campus e os outros dois ninhos, N3 (20°45'11.4''S; 42°51'28.2''W) e N4 (20°44'58.5''S; 42°51'27.3''W) se encontravam na área do Campus.

Coleta das operárias e obtenção dos parasitoides

Foram realizadas coletas de operárias em diversos olheiros dos quatro ninhos em intervalos de aproximadamente 15 dias, entre 07:30h e 11:00h. Em cada olheiro, uma vareta de madeira era introduzida repetidas vezes. As operárias presas às varetas foram cuidadosamente retiradas da mesma com as mãos e armazenadas em potes plásticos, com talco inerte e atóxico nas bordas, para evitar a fuga. No Laboratório de Formigas-cortadeiras do Insetário da UFV, as formigas coletadas em cada colônia foram acondicionadas em bandeja plástica (26 cm de comprimento por 17 cm de largura e altura de 7 cm). Para evitar a fuga das formigas, foi colocado talco nas bordas internas das bandejas, cujas tampas

foram perfuradas para circulação de ar no interior das mesmas. As bandejas com as formigas foram mantidas em uma sala do Insetário com temperatura e umidade controladas ($23 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 5\%$ UR). Elas foram alimentadas com solução de mel a 10% embebida em chumaços de algodão, trocados a cada três dias.

Diariamente, até o sétimo dia após a coleta, as bandejas foram vistoriadas para remoção de operárias mortas, as quais foram transferidas individualmente para tubos de vidro (12 x 75 mm) tampados com algodão. Isto foi feito porque nos primeiros sete dias podem aparecer operárias parasitadas pelo forídeo *A. attophilus* (Bragança et al. 2003), que tem as características de desenvolvimento de uma a várias larvas no interior do corpo do hospedeiro e de abandonarem o mesmo para empupar (Bragança & Medeiros 2006). As formigas mortas foram individualizadas para obter a informação de quais pupas foram provenientes de quais hospedeiros. Do oitavo ao 15º dia após a coleta, as operárias mortas diariamente foram acondicionadas juntas em placas de Petri, pois no parasitismo de *Atta* por outras espécies de forídeos normalmente se desenvolve apenas uma larva, que empupa no interior do corpo do hospedeiro (Tonhasca et al. 2001, Bragança & Medeiros 2006, Bragança et al. 2009). As formigas mortas colocadas nos tubos de ensaio e nas placas de Petri foram mantidas em uma estufa climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $85 \pm 5\%$ UR), com ausência de luz, e vistoriadas diariamente para registro da ocorrência de indivíduos parasitados. Dois dias após morrerem, as formigas que não apresentaram indícios de parasitismo foram observadas e, se necessário, dissecadas sob estereomicroscópio para a verificação

da existência de larvas de forídeos mortas no interior dos corpos das mesmas. As formigas que permaneceram vivas no décimo quinto dia foram descartadas. De acordo com estudos anteriores esse período é suficiente para que as formigas morram pelo parasitismo por forídeos (Tonhasca 1996, Erthal & Tonhasca 2000, Tonhasca et al. 2001). O somatório dos indivíduos mortos a cada dia com aqueles que estavam vivos quinze dias após a coleta determinou o número total de formigas coletadas por ninho. Assim, obteve-se a média de 953 operárias coletadas por ninho em cada coleta.

As formigas parasitadas foram mantidas na câmara climatizada até a emergência dos forídeos. Estes permaneceram na câmara por mais três dias para garantir o endurecimento da cutícula quitinosa, quando então foram sacrificados e armazenados em microtubos com álcool 70%. As formigas parasitadas, com e sem emergência dos parasitoides, foram armazenadas individualmente em envelopes de papel.

Medição de operárias e moscas

Foi obtida a maior largura da cápsula cefálica como medida das formigas (Wilson 1980) de uma amostra aleatória dos hospedeiros das espécies de forídeos encontradas. A medida do mesonoto foi utilizada como indicador do tamanho dos forídeos (Morrison et al. 1997). As medidas foram obtidas com uma ocular milimetrada acoplada a um estereomicroscópio.

Análise de dados

A sobrevivência das operárias parasitadas foi calculada considerando o período em dias entre a data de coleta e a data de morte das formigas. O período pupal das espécies de forídeos correspondeu ao número de dias entre o surgimento da pupa do parasitoide e a emergência da mosca. A taxa de emergência de cada espécie de forídeo foi obtida pelo cálculo da percentagem de moscas que emergiram em relação ao número de formigas parasitadas. A razão obtida do total de machos/fêmeas para cada uma das espécies foi calculada para a obtenção da razão sexual.

A taxa de parasitismo total de *A. bisphaerica* foi considerada a percentagem do número de operárias parasitadas por forídeos em relação ao número total de operárias coletadas. A proporção de parasitismo foi submetida a um teste de Qui-quadrado para se saber o quanto cada espécie contribuiu para o parasitismo total. Foi feita a análise de variância (ANOVA) para avaliar a diferença na taxa de parasitismo entre os quatro ninhos. A ANOVA também foi utilizada para comparar o tamanho da cápsula cefálica de hospedeiros das espécies encontradas, para verificar se existe diferença no tamanho do hospedeiro e das moscas emergidas em cada espécie encontrada. O teste de Tukey a 5% foi aplicado quando ocorreu diferença pelo teste F. A correlação de Spearman foi utilizada para verificar a relação entre a taxa de parasitismo e fatores climáticos (umidade, temperatura e precipitação) ao longo dos 12 meses de coleta. ANOVA também foi realizada para comparar a precipitação entre o primeiro e segundo semestre de coleta, assim como para comparar o parasitismo entre esses dois

períodos. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do Software Minitab 17. Uma amostra dos forídeos obtidos foi identificada pelos taxonomistas Brian V. Brown do Natural History Museum of Los Angeles County (USA) e R. Henry L. Disney, Museum of Zoology, University of Cambridge (England).

RESULTADOS

Taxas de parasitismo

Foram coletadas 91.554 operárias de *A. bisphaerica* durante o período de estudo. Destas 4.106 (4,37%) (incluindo 50 indivíduos com larvas mortas encontradas em seu interior que não puderam ser identificadas) estavam parasitadas por três espécies de forídeos: *A. attophilus* (1,83%), *E. bragancai* (1,23%) e *M. grandicornis* (1,34%). O teste do qui-quadrado indicou que a proporção de operárias parasitadas por *A. attophilus* (40,90%) foi estatisticamente maior que a encontrada para *M. grandicornis* (31,17%), que por sua vez foi maior que a encontrada para *E. bragancai* (27,93%) ($\chi^2 = 108,94$; $P = 0,001$).

Não foi encontrada diferença na taxa de parasitismo total entre as quatro colônias amostradas ($F_{(3;33)} = 2,579$; $P = 0,0702$). No entanto, quando foi analisada a proporção de parasitismo entre os ninhos por cada espécie de forídeo, foi verificado que *A. attophilus* apresentou maior parasitismo nos ninhos três e quatro, *E. bragancai* no ninho três e *M. grandicornis* nos ninhos um e dois (Fig. 1).

Sazonalidade e tamanho do hospedeiro

Houve variação nas taxas de parasitismo durante o período de estudo, sendo a maior taxa verificada no mês de setembro (9,11%) e a menor em fevereiro (1,68%). A taxa de parasitismo pelo conjunto das três espécies exibiu uma correlação negativa significativa com a temperatura mínima, sendo que quanto maior a temperatura mínima menor foi essa taxa ($s = -0,6154$; $p = 0,0373$, $n = 12$) (Fig. 2). O parasitismo pelo forídeo *E. bragancai* apresentou uma correlação positiva com a umidade relativa do ar; o maior parasitismo por esta espécie foi observado quando a umidade se elevou ($s = 0,7063$; $p = 0,0127$, $n = 12$) (Fig. 3). A diferença encontrada na precipitação ($F_{(1;10)} = 16,29$; $p = 0,0024$) influencia a porcentagem do parasitismo total entre os períodos seco e chuvoso ($F_{(1;10)} = 7,84$; $p = 0,0188$). Ocorreu diferença significativa na precipitação média quando o período de coleta das operárias foi dividido em dois semestres onde foi identificado o período seco no primeiro semestre e chuvoso no segundo ($F_{(1;10)} = 16,29$; $p = 0,0024$); esta diferença influencia a porcentagem do parasitismo total entre os períodos seco e chuvoso ($F_{(1;10)} = 7,84$; $p = 0,0188$). Essa diferença deve-se ao efeito da precipitação sobre a porcentagem de *A. attophilus* ($F_{(1;10)} = 7,14$; $p = 0,0234$), não observado em *E. bragancai* ($F_{(1;10)} = 2,70$; $p = 0,1311$) e *M. grandicornis* ($F_{(1;10)} = 3,03$; $p = 0,1126$) (Fig. 4).

Também foi observada diferença significativa no tamanho entre as operárias hospedeiras das três espécies de forídeo; *E. bragancai* se desenvolvendo nas maiores operárias, seguida por *A. attophilus* e *M.*

grandicornis, atacando as menores operárias ($F_{(2;883)} = 372,72$; $p < 0,0001$) (Fig. 5)

Características biológicas dos forídeos

Operárias parasitadas por *A. attophilus*, *E. bragancai* e *M. grandicornis* tiveram períodos de tempo de vida distintos, desde a coleta das formigas até que a pupa do parasitoide se formasse, variando desde 1 dia ao máximo de 12 dias (Tabela 1). Nas três espécies de forídeos encontradas, as larvas dos parasitoides se desenvolveram na cabeça do hospedeiro, diferindo apenas quanto ao local de formação das pupas. Nos hospedeiros de *A. attophilus* de uma a 10 larvas ($2,50 \pm 1,12$ larvas por operária) se desenvolveram na cabeça do hospedeiro e as pupas se formaram fora do corpo. Em operárias parasitadas por *M. grandicornis* apenas uma pupa se formou no interior da cápsula cefálica do hospedeiro, posicionada do lado direito da cabeça; as formigas parasitadas geralmente apresentavam a cabeça separada do corpo e suas mandíbulas e antenas faltando. Em *E. bragancai* também uma única pupa se desenvolveu por hospedeiro, entre suas mandíbulas e com cerca de $2/3$ do pupário para dentro corpo da formiga. Este parasitoide apresentou o maior período pupal, enquanto *A. attophilus* apresentou o menor (Tabela 2). Para cada uma das três espécies de moscas, a razão sexual foi de aproximadamente um macho para cada fêmea.

DISCUSSÃO

As espécies encontradas parasitando *A. bisphaerica*: *E. bragancai*, *M. grandicornis* e *A. attophilus* foram as mesmas encontradas por Bragança et al. (2003). Era esperada a ocorrência de mais espécies de forídeos associados a este hospedeiro, visto que no presente trabalho foi realizada uma análise mais detalhada que no anterior, onde forídeos foram capturados sobrevoando trilhas de forrageamento de *A. bisphaerica*.

A taxa de parasitismo de *A. bisphaerica* abaixo de 5% se mantém de acordo com as encontradas em outros estudos realizados no Brasil para outras espécies de saúvas. As taxas para *A. laevigata* variaram de 2,8% a 5,2 % (Erthal & Tonhasca 2000, Bragança & Medeiros 2006, dados não publicados). Para *Atta sexdens*, estudos revelaram que as taxas de parasitismo por forídeos foram de 2,2% (Tonhasca 1996) e 1,1% (dados não publicados). Em estudo realizado na Argentina com *A. vollenweideri* foram descritas taxas de parasitismo para quatro espécies de forídeos que variaram de 0,1% a 3,8% (Guillade & Folgarait 2011). No entanto, essas taxas de parasitismo baixas, aparentemente, não diminuem o potencial de forídeos parasitoide no controle de formigas-cortadeiras. Como já foi comprovado, os forídeos causam impactos indiretos no forrageamento de formigas-cortadeiras, diminuindo o transporte de material vegetal fresco para o interior de seus ninhos (Bragança et al. 1998, Tonhasca et al. 2001, Guillade & Folgarait 2015).

A variação intercolonial talvez possa ser explicada pela distância estabelecida entre os ninhos, diferenças na vegetação nos locais de coletas que

podem influenciar no parasitismo por forídeos. Modificações no microclima, estrutura do habitat e disponibilidade de recurso alimentar influenciam as taxas de parasitismo por forídeos e também por parasitoides himenópteros (De La Mora & Philpott 2010, Pardee & Philpott 2011, Vasquez & Ordonez et al. 2012). Para forídeos da formiga cortadeira *Atta robusta* Borgmeier, por exemplo, não foi encontrada diferença no parasitismo por forídeos entre áreas naturais e urbanizadas, e a variação entre os ninhos foi muito pequena (Gomes et al. 2013). A sazonalidade no parasitismo por forídeos que utilizam diferentes espécies de cortadeira parece variar muito de acordo com a local de realização do estudo. As diferenças encontradas em trabalhos realizados no que se diz respeito à sazonalidade do parasitismo por forídeos, indica que o parasitismo pode ser melhor explicado em escala local variando de acordo com o habitat. (Bragança & Medeiros 2006, Elizalde & Folgarait 2010, Guillade & Folgarait 2011, Gomes et al. 2013). Outro fato que pode afetar a o parasitismo por forídeos é a abundância de hospedeiros, maior quantidade de operárias no ninho resulta em maior parasitismo por forídeos (Folgarait et al. 2005, Elizalde & Folgarait 2010). O maior parasitismo nos meses secos observados neste trabalho influenciado principalmente pelo parasitismo por *A. attophilus* é semelhante ao padrão encontrado por Bragança & Medeiros (2006), onde o maior parasitismo também foi encontrado nos meses mais secos do ano, confirmando a diminuição desse parasitoide em períodos mais chuvosos.

Diferenças na proporção de parasitismo dos parasitoides entre colônias poderiam ser explicadas pelo tamanho dos hospedeiros. Os resultados deste

trabalho demonstraram que existe uma diferença significativa nos tamanhos das operárias parasitadas por cada espécie de forídeo. Assim, os ninhos que tiveram maior parasitismo por *A. attophilus* e *E. bragancai*, possivelmente, seriam aqueles com operárias de maior tamanho médio do que aqueles onde o parasitismo por *M. grandicornis* foi maior. Segundo Bragança et al. (2002) forídeos do gênero *Eibesfeldtphora* procuram operárias maiores para ovipositar porque estas oferecem mais conteúdo para alimentação do estágio larval (Morrison et al. 1999). A prova disto é que *E. tonhascai* e *E. erthali* foram capazes de atacar operárias pequenas, mas o parasitismo só foi confirmado em operárias grandes de *A. laevigata* (Bragança et al. 2002). Também com *Eibesfeldtphora trilobata* Disney tanto os hospedeiros quanto as moscas emergidas são significativamente maiores que hospedeiros e moscas de *Myrmosicarius gonzalezae* Disney e *Myrmosicarius brandaoi* Disney no hospedeiro *A. vollenweideri* (Guillade & Folgarait 2011).

As características biológicas verificadas neste estudo para *A. attophilus* em relação ao local do desenvolvimento larval e local de formação da pupa foram semelhantes às aquelas observadas quando o mesmo forídeo utiliza *A. laevigata* como hospedeiro (Erthal & Tonhasca 2000, Bragança & Medeiros 2006). No presente estudo, o número de pupas de *A. attophilus* observadas por operária variou de 1 a 10, enquanto no hospedeiro *A. laevigata* variou de 4 a 7 (Bragança & Medeiros 2006).

Para *M. grandicornis* as características aqui encontradas foram semelhantes a estudo anterior utilizando como hospedeiro *A. sexdens* (Tonhasca

et al. 2001). Operárias hospedeiras deste parasitoide sempre apresentaram cabeça separada do corpo e antenas e mandíbulas faltantes, o que segundo Porter et al. (1997) ocorre devido a ação enzimática ou hormonal do parasitoide, facilitando a emergência das moscas. Informações semelhantes também foram registradas para outras espécies do gênero *Myrmosicarius* (Guillade & Folgarait 2011).

Características biológicas da mosca *E. bragancai* foram descritas previamente por Bragança et al. (2003), que somente havia sido registrada como parasitoide de *A. bisphaerica*. Este forídeo possui desenvolvimento larval e período pupal mais longos que os das outras espécies observadas neste estudo, assim como já foi descrito para outras espécies desse gênero que parasitam outras saúvas (Bragança et al. 2002, Guillade & Folgarait 2011).

A menor sobrevivência de operárias de *A. bisphaerica* parasitadas por *A. attophilus* e também o menor período pupal em relação aos outros parasitoides, semelhante ao que ocorre em outras operárias de saúvas hospedeiras desse parasitoide (Bragança & Medeiros 2006, dados não publicados), parece indicar que o desenvolvimento completo de *A. attophilus* é mais rápido do que o das outras espécies do mesmo hospedeiro. Período larval curto também foi observado para *Apocephalus setitarsus* Brown, parasitoide de *A. vollenweideri* cujas pupas também se formam fora do hospedeiro (Guillade & Folgarait 2011). Este fato, associado a maior taxa de parasitismo de *A. attophilus* e também a maior taxa de emergência de moscas, indica que esta espécie pode ter maior potencial para utilização no manejo de *A. bisphaerica*. No entanto, estudos que revelam o impacto no forrageio de formigas cortadeiras foram realizados somente para

forídeos do gênero *Eibesfeldtphora* e para a espécie *Myrmosicarius grandicornis*, demonstrando que estas são capazes de diminuir o forrageio por saúvas (Bragança et al. 1998, Tonhasca et al. 2001).

Este trabalho confirma as espécies de forídeos associadas a *A. bisphaerica* e esclarece suas características biológicas. Os resultados encontrados demonstram que existe uma forte correlação entre os fatores climáticos e o parasitismo por forídeos, com o parasitismo sendo maior no período seco. Os resultados também elucidam também a preferência das três espécies de forídeos por tamanhos diferentes de hospedeiros, associando este fato ao de que as três espécies encontradas aqui também utilizam locais diferentes nas trilhas de forrageamento para ovipositar nas operárias. As três espécies podem ser utilizadas em conjunto em programas de manejo para *A. bisphaerica*, ampliando assim ação dos forídeos.

REFERÊNCIAS

Agrosciences, D. (1998). Controle de formigas cortadeiras. sl Folheto.

Borgmeier, T. (1928). Nota previa sobre alguns forídeos que parasitam formigas-cortadeiras dos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*. *Boletim Biologico*, 14: 119-126.

Borgmeier, T. (1931). Sobre alguns forídeos que parasitam a saúva e outras formigas-cortadeiras (Diptera: Phoridae). *Archivos do Instituto Biologico*, 4: 209-228.

Bragança, M. A. L. (2011). Parasitoides de formigas-cortadeiras. Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo. Viçosa, Editora da UFV, 321-343.

Bragança, M. A. L., Della Lucia, T. M. C., & Tonhasca Jr, A. (2003). First record of phorid parasitoids (Diptera: Phoridae) of the leaf-cutting ant *Atta bisphaerica* Forel (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 32: 169-171.

Bragança, M. A., & Medeiros, Z. C. (2006). Ocorrência e características biológicas de forídeos parasitoides (Diptera: Phoridae) da saúva *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) em Porto Nacional, TO. *Neotropical Entomology*, 35: 408-411.

Bragança, M. A. L., Tonhasca Jr, A., & Della Lucia, T. M. C. (1998). Reduction in the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* caused by the phorid *Neodohrniphora* sp. *Entomologia experimentalis et applicata*, 89: 305-311.

Bragança, M. A. L., Tonhasca Jr, A. J. & Della Lucia, T. M. C. (2009). Características biológicas e comportamentais de *Neodohrniphora elongata* Brown (Diptera: Phoridae), um parasitoide da saúva *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 53, 600-606.

Bragança, M. A. L., Tonhasca Jr, A., & Moreira, D. (2002). Parasitism characteristics of two phorid fly species in relation to their host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 31: 241-244.

Della Lucia, T. M. C. (1999). *Atta bisphaerica*: uma ilustre desconhecida. *Naturalia*, 24: 53-59.

Della Lucia, T. M. C., & Araújo, M. S. (2000). Formigas cortadeiras: Atualidades no combate. *Manejo Integrado-Doenças, Pragas e Plantas Daninhas*. Viçosa, MG: Editora UFV, 245-273.

Della Lucia, T., Gandra, L. C., & Guedes, R. N. (2014). Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest Management Science*, 70: 14-23.

De La Mora, A., & Philpott, S. M. (2010). Wood-nesting ants and their parasites in forests and coffee agroecosystems. *Environmental Entomology*, 39:1473-1481.

Della Lucia, T., Gandra, L. C., & Guedes, R. N. (2014). Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest Management Science*, 70: 14-23.

Disney, R. H. L. (1994). *Scuttle flies: the Phoridae*. Chapman & Hall Ltd.

Elizalde, L., & Folgarait, P. J. (2010). Host diversity and environmental variables as determinants of the species richness of the parasitoids of leaf-cutting ants. *Journal of Biogeography*, 37: 2305-2316.

Elizalde, L., & Folgarait, P. J. (2011). Biological attributes of Argentinian phorid parasitoids (Insecta: Diptera: Phoridae) of leaf-cutting ants, *Acromyrmex* and *Atta*. *Journal of Natural History*, 45: 2701-2723.

Erthal, M., & Tonhasca, A. (2000). Biology and oviposition behavior of the phorid *Apocephalus attophilus* and the response of its host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 95: 71-75.

Folgarait, P. J., Bruzzone, O., Porter, S. D., Pesquero, M. A., & Gilbert, L. E. (2005). Biogeography and macroecology of phorid flies that attack fire ants in south-eastern Brazil and Argentina. *Journal of Biogeography*, 32: 353-367.

Gomes, D. S., Elizalde, L., & Queiroz, J. M. (2013). Parasitoids of the endangered leafcutter ant *Atta robusta* Borgmeier in urban and natural areas. *Revista Brasileira de Entomologia*, 57: 335-339.

Guillade, A. C., & Folgarait, P. J. (2015). Effect of phorid fly density on the foraging of *Atta vollenweideri* leafcutter ants in the field. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 154: 53-61.

Guillade, A. C., & Folgarait, P. J. (2011). Life-history traits and parasitism rates of four phorid species (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Atta vollenweideri* (Hymenoptera: Formicidae) in Argentina. *Journal of economic entomology*, 104: 32-40.

Morrison, L. W., Dall'Aglio-Holvorcem, C. G., & Gilbert, L. E. (1997). Oviposition behavior and development of *Pseudacteon* flies (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Environmental Entomology*, 26: 716-724.

Morrison, L. W., Porter, S. D., & Gilbert, L. E. (1999). Sex ratio variation as a function of host size in *Pseudacteon* flies (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 66: 257-267.

Oliveira, M. A., Araújo, M. S., Marinho, C. G. S., Ribeiro, M. M. R. R., & Della Lucia, T. M. C. (2011). Manejo de formigas-cortadeiras. *Formigas cortadeiras: da bioecologia ao manejo*, 1: 400-419.

Orr, M. R. (1992). Parasitic flies (Diptera: Phoridae) influence foraging rhythms and caste division of labor in the leaf-cutter ant, *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 30: 395-402.

Pardee, G. L., & Philpott, S. M. (2011). Cascading indirect effects in a coffee agroecosystem: effects of parasitic phorid flies on ants and the coffee berry borer in a high-shade and low-shade habitat. *Environmental Entomology*, 40:581-588.

Pereira, M. W. G., Teixeira, E. C., & Raszap-Skorbiansky, S. (2010). Impacts of the doha round on Brazilian, Chinese and Indian agribusiness. *China Economic Review*, 21: 256-271.

Porter, S. D., Williams, D. F., & Patterson, R. S. (1997). Rearing the decapitating fly *Pseudacteon tricuspis* (Diptera: Phoridae) in imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae) from the United States. *Journal of Economic Entomology*, 90: 135-138.

Prado, A. D. (1976). Records and descriptions of phorid flies, mainly of the Neotropical Region (Diptera; Phoridae). *Studia Entomologica*, 19: 561-609.

Tonhasca Jr, A. (1996). Interactions between a parasitic fly, *Neodohniphora declinata* (Diptera: Phoridae), and its host, the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Ecotropica*, 2: 157-164.

Tonhasca Jr, A., Bragança, M. A. L., & Erthal Jr, M. (2001). Parasitism and biology of *Myrmosicarius grandicornis* (Diptera, Phoridae) in relationship to its host, the leaf-cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, 48: 154-158.

Vásquez-Ordóñez, A. A., Armbrecht, I., & Pérez-Lachaud, G. (2012). Effect of habitat type on parasitism of *Ectatomma ruidum* by eucharitid wasps. *Psyche: A Journal of Entomology*, 2012.

Wilson, E. O. (1980). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 7: 157-165.

Tabela 1. Sobrevivência em laboratório de operárias de *Atta bisphaerica* parasitadas no campo por três espécies de forídeos.

Forídeo	Sobrevivência (dias)			
	n	Média ± d.p.	Mínima	Máxima
<i>Apocephalus attophilus</i>	1631	2,72±1,25	1	6
<i>Eibesfeldtphora bragancai</i>	1116	5,35±2,00	1	12
<i>Myrmosicarius grandicornis</i>	1238	4,14±1,64	1	9

Tabela 2. Período pupal de três espécies de forídeos parasitoides de *Atta bisphaerica*.

Forídeo	Período pupal (dias)			
	n	Média ± d.p.	Mínima	Máxima
<i>Apocephalus attophilus</i>	1258	15,24±1,04	12	19
<i>Eibesfeldtphora bragancai</i>	438	21,05±1,91	13	27
<i>Myrmosicarius grandicornis</i>	709	18,75±1,86	14	24

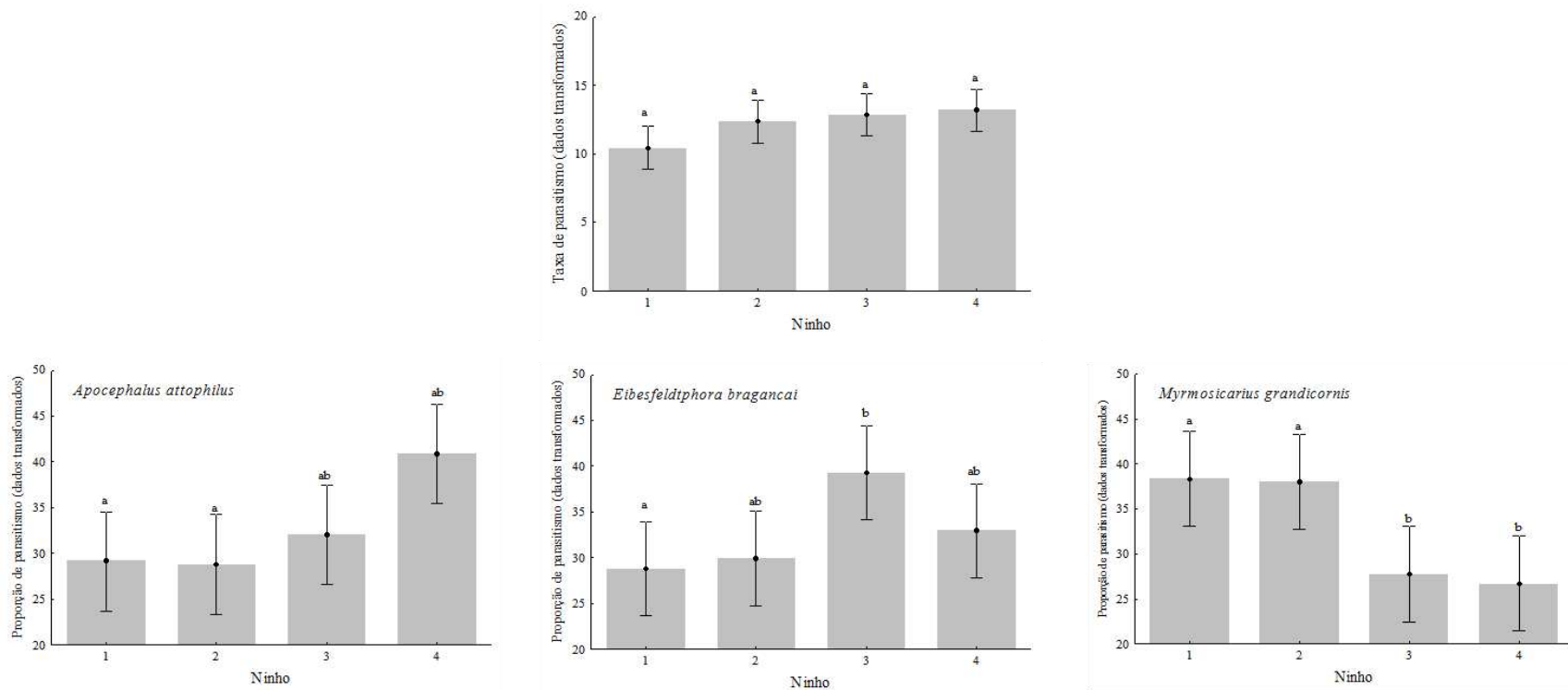


Figura 1. Taxa de parasitismo total (%) por ninho e proporção de parasitismo (%) para três espécies de forídeos entre os ninhos.

Barras indicam intervalo de confiança.

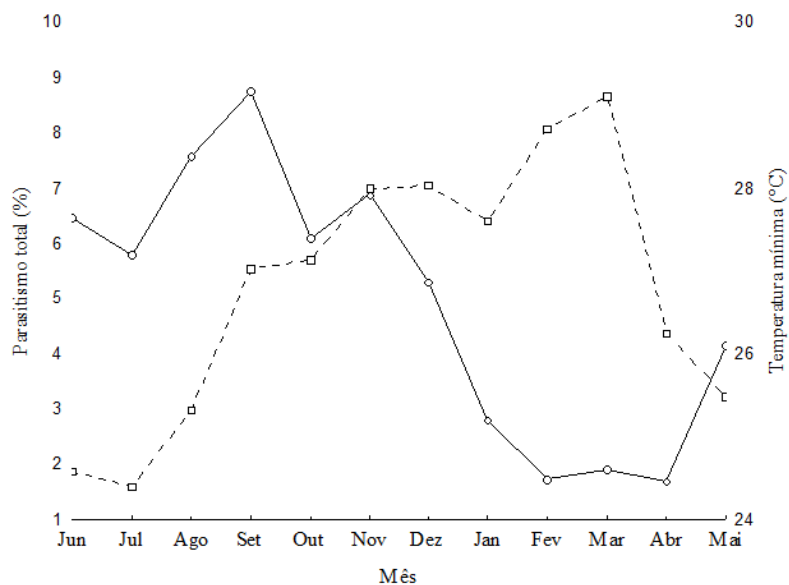


Figura 2. Correlação de Spearman entre a taxa de parasitismo de *Atta bisphaerica* por forídeos e a temperatura no período de junho de 2012 a maio de 2013.

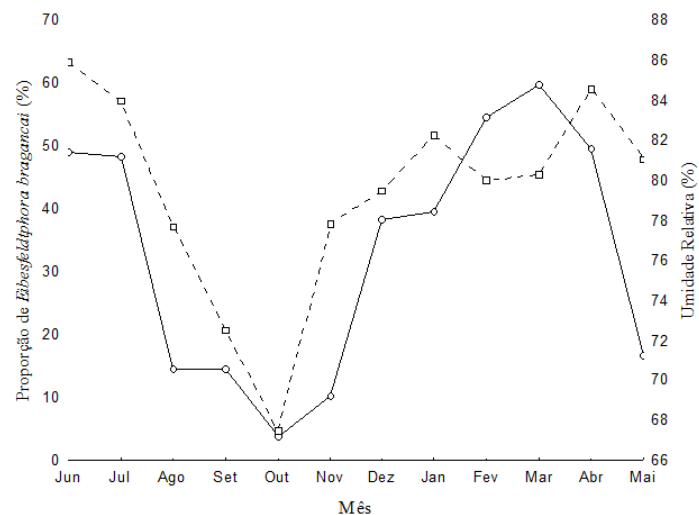


Figura 3. Correlação de Spearman entre a proporção de parasitismo de *Atta bisphaerica* por *Eibesfeldtphora bragancai* e a umidade relativa do ar no período de junho de 2012 a maio de 2013.

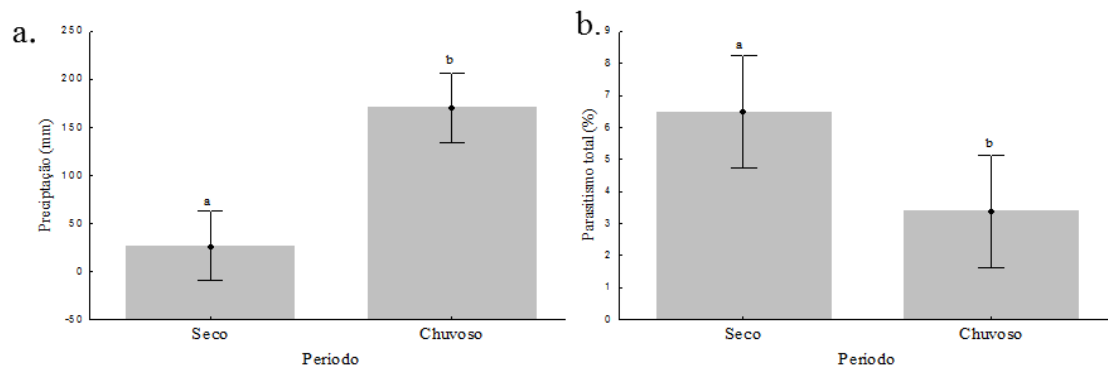


Figura 4. (a) Comparação da precipitação pluviométrica entre os períodos seco (junho a outubro de 2012) e chuvoso (novembro/2012 a maio/2013). (b) Comparação da taxa de parasitismo de *Atta bisphaerica* por três espécies de forídeos entre os períodos seco e chuvoso. Barras indicam intervalo de confiança.

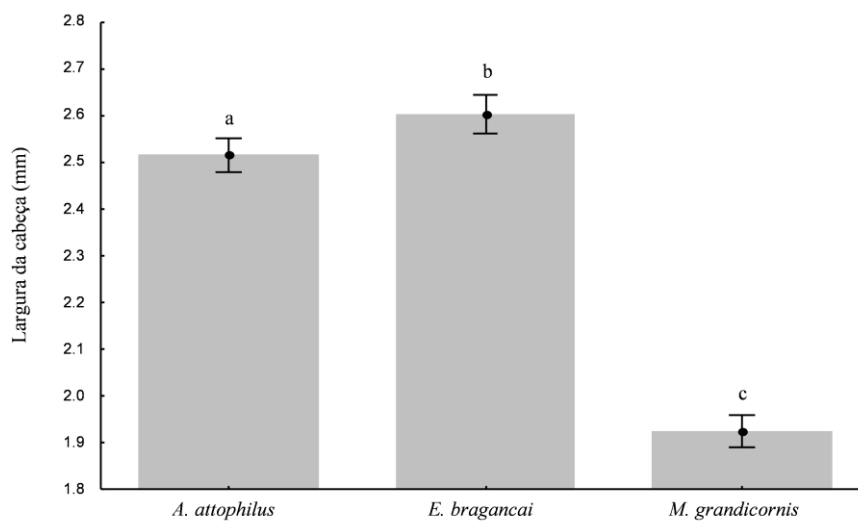


Figura 5. Largura da cápsula cefálica de operárias de *A. bisphaerica* parasitadas por três espécies de forídeos. Barras representam intervalo de confiança.

Capítulo 2.

TAMANHO DO HOSPEDEIRO COMO FATOR LIMITANTE PARA A PROLE DE FORÍDEOS PARASITÓIDES DE *Atta* *bisphaerica* Forel

RESUMO

Forídeos são insetos com grande diversidade de formas de vida em estágios imaturos. A maioria é saprófaga, mas também existem espécies herbívoras, predadoras e parasitoides, principalmente dos membros da ordem Hymenoptera, entre estes, as formigas-cortadeiras do gênero *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns). A associação forídeos/saúvas vem sendo a mais estudada, uma vez que elas são importantes pragas florestais e de áreas cultivadas em toda a região Neotropical e os forídeos são apontados como possíveis agentes de controle biológico. Forídeos parasitoides de saúvas tendem a escolher hospedeiros maiores para ovipositar; estes conferem maior chance de sobrevivência para a sua prole. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do tamanho do hospedeiro *Atta bisphaerica* sobre a prole dos parasitoides *Apocephalus attophilus* e *Eibesfeldtphora bragancai*. Para isso foram obtidas as medidas de cápsulas cefálicas de operárias parasitadas por *A. attophilus* e contadas as suas respectivas pupas e para *E. bragancai* foram obtidas a largura máxima da cabeça e do mesonoto, do hospedeiro e da mosca respectivamente. As medidas de cápsulas cefálicas de *E. bragancai* foram divididas em duas classes de tamanho (grande e pequena) para a avaliação do tamanho do hospedeiro no sexo do parasitoide. Foi observada uma correlação positiva entre o tamanho do hospedeiro e o número de pupas de *A. attophilus* e também entre o tamanho do hospedeiro e o tamanho das moscas de *E. bragancai*. A razão sexual obtida de moscas emergidas de hospedeiros grandes e pequenos de *E. bragancai* foi de uma fêmea para cada macho. No entanto, quando avaliada apenas a classe de

tamanho grande, a proporção sexual foi de duas fêmeas para cada macho, demonstrando uma tendência de fêmeas a emergirem de hospedeiros maiores. Os resultados deste trabalho demonstram que *A. attophilus* e *E. bragancai* têm uma correlação positiva com o tamanho do hospedeiro: operárias maiores de *A. bisphaerica* forneceram maior número de pupas para *A. attophilus* e maior número de fêmeas para *E. bragancai*. Essas informações são extremamente importantes para o possível uso dessas moscas em programas de manejo de formigas-cortadeiras.

PALAVRAS-CHAVE: *Apocephalus attophilus*, *Eibesfeldtphora bragancai*, formigas-cortadeiras, razão sexual.

ABSTRACT

Phorids are insects with great diversity of habits in immature stages. Most are saprophytic, but there are also herbivorous species, predators and parasitoids, the last ones mostly of members of the order Hymenoptera, specially leaf-cutting ants of the genera *Atta* and *Acromyrmex*. The association between phorids and ants has been more studied because these ants are important pests of forest and cultivated areas throughout the Neotropics and also because phorids have been suggested as possible biological control agents for these pests. Parasitoid phorids tend to choose larger ant hosts for oviposition; they provide greater chance of survival for their offspring. The objective of this study was to evaluate the influence of the size of the host *Atta bisphaerica* Forel on the parasitoid offsprings, either *Apocephalus attophilus* Borgmeier or *Eibesfeldtphora bragancai* Brown. Measures of head capsules widths of ants parasitized by *A. attophilus* workers were obtained as well as their respective pupae. For *E. bragancai* we obtained the maximum widths of the head and mesonotum, of the host. *E. bragancai* head capsules were divided into two size classes (large and small) to evaluate their influence on the size of the sex parasitoid host. Was observed positive correlation between host size and the number of pupae of *A. attophilus* and between host size and the size of *E. bragancai* flies. The obtained sex ratio of emerged flies of large and small hosts of *E. bragancai* was a female per male (1:1). However, when we evaluated just the large class, the sex ratio was two females per male, showing a tendency of emergence from the larger female host. The results of this study show that *A. attophilus* and *E. bragancai*

have a positive correlation with the host size: larger workers of *A. bisphaerica* provided more pupae to *A. attophilus* and more females to *E. bragancai*. This information is extremely important for the possible use of these flies in management of leaf-cutting ants programs.

Keywords: *Apocephalus attophilus*, *Eibesfeldtphora bragancai*, leaf-cutting ants, sex ratio, host size

INTRODUÇÃO

Atta bisphaerica Forel, conhecida popularmente como saúva mata-pasto, se destaca como importante praga de canaviais e de pastagens, causando grandes perdas econômicas em plantações de cana-de-açúcar (Mariconi 1970, Della Lucia 1999). O fato desta formiga cortar apenas monocotiledôneas dificulta o seu controle com iscas à base de sulfluramida, que tem como principal atrativo polpa cítrica (Della Lucia 1999). Forídeos parasitoides (Diptera: Phoridae) vêm sendo estudados com a intenção de serem utilizados no controle de outras espécies de saúvas, e poderiam ser uma alternativa também no controle de *A. bisphaerica* (Bragança & Medeiros 2006, Bragança et al 1998, Guillade & Folgarait 2015). Os três gêneros de forídeos parasitoides de saúvas com o maior número de espécies relacionadas a essas formigas, 22, 13 e 11, são, respectivamente, *Eibesfeldtphora*, *Apocephalus* e *Myrmosicarius* (Bragança 2011). Três espécies destes gêneros, *Apocephalus attophilus* Borgmeier, *Eibesfeldtphora bragancai* Brown e *Myrmosicarius grandicornis* Borgmeier utilizam *A. bisphaerica* como hospedeiro (Bragança et al. 2003).

Os forídeos parasitoides são capazes de discriminar seus hospedeiros em relação ao tamanho, escolhendo o que melhor satisfaz nutricionalmente sua prole, provavelmente aumentando a viabilidade de seus ovos (Tonhasca 1996, Bragança et al. 1998, Disney 1994). Segundo Orr (1992), forídeos que atacam *Atta* tendem a escolher hospedeiros maiores; e essa preferência aumenta a aptidão para moscas fêmeas (Morrison et al. 1999). Trabalhos realizados com moscas do gênero *Eibesfeldtphora* demonstraram que elas tendem a escolher

hospedeiros maiores; já forídeos pertencentes a *Myrmosicarius* parecem preferir moscas com tamanho médio menor, por se tratarem de moscas menores (Bragança et al. 2002, Bragança et al. 2009). Forídeos da espécie *A. attophilus* possuem várias larvas que saem do mesmo hospedeiro e empupam fora do corpo dele. Existe uma correlação entre a quantidade de pupas e o tamanho da cápsula cefálica do hospedeiro *Atta laevigata* (Erthal & Tonhasca, 2000). Nos forídeos parasitoides do gênero *Pseudacteon* foi encontrada correlação entre o tamanho do hospedeiro e o sexo da mosca que dele emergiu. A proporção de um macho para cada fêmea é rara, e hospedeiros maiores dão origem a fêmeas (Disney 1994). Para forídeos parasitoides de formigas-cortadeiras, parece que a relação de um macho para cada fêmea é comum, e existe uma correlação positiva entre o tamanho do hospedeiro e o tamanho da mosca emergida do mesmo (Tonhasca et al. 2001, Guillade & Folgarait 2011).

No presente trabalho foi verificado se o tamanho das moscas *E. bragancai* aumentou com o tamanho das operárias de *A. bisphaerica* das quais elas emergiram; e se a razão sexual deste forídeo depende do tamanho do hospedeiro. Verificou-se também se a quantidade de pupas de *A. attophilus* estava correlacionada com o tamanho do hospedeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos parasitoides

Os exemplares dos forídeos *A. attophilus* e *E. bragancai* foram obtidos de operárias parasitadas de *A. bisphaerica* coletadas em quatro ninhos localizados em áreas de pastagem próximas ao Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV). As formigas foram coletadas e levadas ao Laboratório de Formigas-cortadeiras do Insetário da UFV, sendo criadas até a emergência dos parasitoides, conforme a metodologia sugerida por Erthal & Tonhasca (2000) e Bragança & Medeiros (2006).

As formigas coletadas em cada colônia foram acondicionadas em bandeja plástica (26 cm de comprimento por 17 cm de largura e altura de 7 cm). Para evitar a fuga das formigas, foi colocado talco nas bordas internas das bandejas, cujas tampas foram perfuradas para circulação de ar no interior das mesmas. As bandejas com as formigas foram mantidas em uma sala do Insetário com temperatura e umidade controladas ($23 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 5\%$ UR). Elas foram alimentadas com solução de mel a 10% embebida em chumaços de algodão, trocados a cada três dias.

Diariamente, até o sétimo dia após a coleta, as bandejas foram vistoriadas para remoção de operárias mortas, as quais foram transferidas individualmente para tubos de vidro (12 x 75 mm) tampados com algodão. Isto foi feito porque nos primeiros sete dias podem aparecer operárias parasitadas pelo forídeo *A. attophilus* (Bragança et al. 2003), que tem as características de desenvolvimento de uma a várias larvas no interior do corpo do hospedeiro e de abandonarem o

mesmo para empupar (Bragança & Medeiros 2006). As formigas mortas foram individualizadas para obter a informação de quais pupas foram provenientes do respectivo hospedeiro. Do oitavo ao 15º dia após a coleta, as operárias mortas diariamente foram acondicionadas juntas em placas de Petri, pois no parasitismo de *Atta* por outras espécies de forídeos normalmente se desenvolve apenas uma larva, que empupa no interior do corpo do hospedeiro (Tonhasca et al. 2001, Bragança & Medeiros 2006, Bragança et al. 2009). As formigas mortas colocadas nos tubos de ensaio e nas placas de Petri foram mantidas em uma estufa climatizada ($25 \pm 1^\circ \text{C}$, $85 \pm 5\% \text{UR}$), com ausência de luz, e vistoriadas diariamente para registro da ocorrência de indivíduos parasitados. As formigas que permaneceram vivas no décimo quinto dia foram descartadas.

De um a dois dias após a emergência, as moscas foram armazenadas em microtubos com álcool 70% e os seus respectivos hospedeiros foram armazenados em envelopes de papel etiquetados. Foi obtida a medida da maior largura da cápsula cefálica das operárias de *A. bisphaerica*, conforme Wilson (1980) e a medida da maior largura do mesonoto dos exemplares de *E. bragancai*, conforme Morrison et al. (1997). Estas medidas foram obtidas com uma ocular milimetrada acoplada a um estereomicroscópio. As cápsulas cefálicas de operárias parasitadas por *E. bragancai* foram ordenadas da maior para a menor, e separadas em uma classe de tamanho grande ($6,33 \pm 0,74 \text{mm}$) e outra pequena ($4,73 \pm 0,44 \text{mm}$). Para *A. attophilus* foi feita a contagem da quantidade de pupas que saíram de cada hospedeiro.

Análise de dados

Foi realizada uma ANOVA para verificar se existe diferença significativa de tamanho entre as classes de tamanho grande e pequena de operarias parasitadas por *E. bragancai*. A correlação de Pearson foi feita para verificar a correlação entre o tamanho do hospedeiro e o tamanho das moscas. O teste Qui-quadrado foi realizado para verificar a independência do sexo das moscas em relação ao tamanho do hospedeiro. O total de pares de hospedeiros e parasitoides, e os pares da classe grande e a pequena foram submetidos a esse teste. A correlação de Pearson foi utilizada para verificar a correlação entre o tamanho da cápsula cefálica de hospedeiros de *A. attophilus* e a quantidade de pupas que emergiu deles.

RESULTADOS

O tamanho das operárias hospedeiras de *E. bragancai* classificados como grandes ($n = 71$) e pequenos ($n = 72$) foram estatisticamente diferentes ($F_{(1;141)} = 296,41$; $P < 0,001$) (Fig. 1). Foi observada correlação positiva entre a largura do mesonoto das moscas e a largura da cápsula cefálica das formigas, ou seja, o tamanho das moscas *E. bragancai* aumentou com o tamanho das operárias de *A. bisphaerica* das quais elas emergiram ($r = 0,714$; $p < 0,0001$; $n = 160$) (Fig. 2). Observou-se também essa correlação para machos ($r = 0,7021$; $p < 0,0001$; $n = 62$) e fêmeas ($r = 0,734$; $p < 0,0001$; $n = 81$) separadamente. Considerando todas as moscas emergidas, a razão sexual de *E. bragancai* não foi diferente de 1:1 (macho:fêmea) (Tabela 1), indicando que o sexo do forídeo é independente do tamanho do hospedeiro. O teste de χ^2 foi novamente aplicado somente nas operárias grandes e demonstrou que nesta classe de tamanho a razão sexual difere de 1:1. Um terceiro teste χ^2 foi aplicado e confirmou a proporção sexual de duas fêmeas para cada macho nas operárias grandes (Tabela 2). Nas operárias pequenas a razão sexual se manteve de um macho para cada fêmea (Tabela 3). Nas operárias parasitadas por *A. attophilus* observou-se uma correlação positiva entre o número de pupas e o tamanho do hospedeiro ($F_{(2;302)} = 16,252$; $P = 0,001$), com a quantidade de pupas aumentando conforme o hospedeiro.

DISCUSSÃO

A correlação positiva entre o tamanho de *E. bragancai* e o tamanho do hospedeiro do qual ele emergiu era esperada, relatada também para *M. grandicornis* no hospedeiro *Atta sexdens* (Tonhasca et al. 2001), também observada para muitos himenópteros parasitoides (King 1987). Assim como a correlação entre o tamanho do hospedeiro e o número de pupas de *A. attophilus* já observada para o hospedeiro *A. laevigata* (Erthal & Tonhasca 2000). A razão sexual de um macho para cada fêmea de *E. bragancai* é semelhante a encontrada em outras espécies de forídeos que parasitam formigas-cortadeiras. Em *Eibesfeldtphora trilobata* Disney, *Myrmosicarius brandaoi* Disney e *Myrmosicarius gonzalezae* Disney, o tamanho dos hospedeiros de *Atta vollenweideri* Forel dos quais emergiram machos e fêmeas também não diferiu (Guillade & Folgarait 2011). Fatores como micro-habitat, temperatura e período pupal podem influenciar na proporção de sexo de forídeos (Disney 1994, Guillade & Folgarait 2011).

No entanto, a proporção de 2:1 fêmeas para cada macho quando analisadas apenas as operárias classificadas como grande, encontrada no presente trabalho, indica que existe uma forte tendência de fêmeas serem originadas de hospedeiros maiores. A razão sexual também difere de 1:1 em forídeos do gênero *Pseudacteon* onde é observada uma forte correlação entre o tamanho do hospedeiro e o sexo da mosca, com fêmeas sendo originadas de hospedeiros maiores que machos (Disney 1994, Morrison et al. 1999). Formigas maiores conferem maior quantidade de recurso alimentar para o desenvolvimento das

larvas, originando moscas maiores com mais chances de sobreviver, terem mais ovos, maior tempo de vida útil e fazerem mais ataques contra operárias (Feener 1987, Morrison et al. 1999).

Os resultados deste trabalho demonstram que o tamanho do hospedeiro pode influenciar na prole de forídeos para as duas espécies estudadas. A tendência de moscas maiores de *E. bragancai* serem fêmeas facilita a escolha de hospedeiros para essa espécie na criação massal. Com essa informação pode-se manipular o número de fêmeas emergidas aumentando o tamanho do hospedeiro, assim como relação entre a quantidade de pupas de *A. attophilus* e o tamanho do hospedeiro; isso demonstra uma vantagem deste parasitoide em relação às outras espécies. *A. attophilus* possui uma maior gama de tamanho de hospedeiros para ovipositar, podendo atacar maior número de forrageadoras.

REFERÊNCIAS

Bragança, M. A. L., Tonhasca, A., & Lucia, T. (1998). Reduction in the foraging activity of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* caused by the phorid *Neodohniphora* sp. *Entomologia experimentalis et applicata*, 89: 305-311.

Bragança, M. A., Tonhasca Jr, A., & Moreira, D. (2002). Parasitism characteristics of two phorid fly species in relation to their host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology* 31: 241-244.

Bragança, M. A., Tonhasca, A. J., & Della Lucia, T. M. (2009). Características biológicas e comportamentais de *Neodohrniphora elongata* Brown (Diptera, Phoridae), um parasitoide da saúva *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae). *Revista brasileira de Entomologia*, 53: 600-606.

Bragança, M. A., & Medeiros, Z. C. (2006). Ocorrência e características biológicas de forídeos parasitoides (Diptera: Phoridae) da saúva *Atta laevigata* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) em Porto Nacional, TO. *Neotropical Entomology*, 35: 408-411.

Bragança, M. A. L. (2011). Parasitoides de formigas-cortadeiras. *Formigas-cortadeiras: da bioecologia ao manejo*. Viçosa, Editora da UFV, 321-343.

Della Lucia, T. M. C. (1999). *Atta bisphaerica*: uma ilustre desconhecida. *Naturalia*, 24: 53-59.

Disney, R. H. L. (1994) *Scuttle Flies: the Phoridae*. Londres. Chapman & Hall Editora, p.467.

Erthal, M., & Tonhasca, A. (2000). Biology and oviposition behavior of the phorid *Apocephalus attophilus* and the response of its host, the leaf-cutting ant *Atta laevigata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 95: 71-75.

Feener, D. H. (1987). Size-selective oviposition in *Pseudacteon crawfordi* (Diptera: Phoridae), a parasite of fire ants. *Annals of the Entomological Society of America*, 80:48-151.

Feener Jr, D. H., & Brown, B. V. (1997). Diptera as parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 42: 73-97.

Gilbert, L. E., Barr, C. L., Calixto, A. A., Cook, J. L., Drees, B. M., Lebrun, E. G., & Puckett, R. T. (2008). Introducing phorid fly parasitoids of red imported fire ant workers from South America to Texas: outcomes vary by region and by *Pseudacteon* species released. *Southwestern Entomologist*, 33: 15-29.

Guillade, A. C., & Folgarait, P. J. (2011). Life-history traits and parasitism rates of four phorid species (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Atta vollenweideri* (Hymenoptera: Formicidae) in Argentina. *Journal of economic entomology*, 104: 32-40.

Guillade, A. C., & Folgarait, P. J. (2015). Effect of phorid fly density on the foraging of *Atta vollenweideri* leafcutter ants in the field. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 154: 53-61.

King, B. H. (1987). Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *Quarterly review of Biology*, 367-396.

Mariconi, F. A. (1970). As saúvas. São Paulo: Agronômica Ceres, p.167.

Morrison, L. W., Dall'Aglio-Holvorcem, C. G., & Gilbert, L. E. (1997). Oviposition behavior and development of *Pseudacteon* flies (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Environmental Entomology*, 26: 716-724.

Morrison, L. W., Porter, S. D., & Gilbert, L. E. (1999). Sex ratio variation as a function of host size in *Pseudacteon* flies (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 66: 257-267.

Orr, M. R. (1992). Parasitic flies (Diptera: Phoridae) influence foraging rhythms and caste division of labor in the leaf-cutter ant, *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 30: 395-402.

Tonhasca Jr, A. (1996). Interactions between a parasitic fly, *Neodohrniphora declinata* (Diptera: Phoridae), and its host, the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Ecotropica*, 2: 157-164.

Tonhasca Jr, A., Bragança, M. A. L., & Erthal Jr, M. (2001). Parasitism and biology of *Myrmosicarius grandicornis* (Diptera, Phoridae) in relationship to its

host, the leaf-cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, 48: 154-158.

Wilson, E. O. (1980). Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 7: 157-165.

Tabela 1: Teste qui-quadrado da razão sexual 1:1 no total de moscas de *Eibesfeldtphora bragancai* nas classes de tamanho grande e pequena.

Classe tamanho	Sexo Forídeo	N	Esperado	χ^2	P	
Grande	F	46	40,22	0,83	0,051 ^{n.s}	
	F	35	40,78	0,82		
Pequena	M	25	30,78	1,09		
	M	37	31,22	1,07		
				3,81		

Tabela 2. Teste qui-quadrado para a razão sexual 1:1 e 2:1 de *Eibesfeldtphora bragancai* na classe de tamanho grande.

Classe tamanho	Sexo Forídeo	N	Esperado	χ^2	P
Grande	F	46	35,50	3,11	0,013*
	M	25	35,50	3,11	
				6,21	

F	46	47,33	0,04	
M	25	23,67	0,08	
			0,11	0,737 ^{n.s}

Tabela 3: Teste qui-quadrado para a razão sexual 1:1 de *Eibesfeldtphora* bragancai na classe de tamanho pequena.

Classe tamanho	Sexo Forídeo	N	Esperado	χ^2	p
Pequena	F	35	36,00	0,03	
	M	37	36,00	0,03	
				0,06	0,814 ^{n.s}

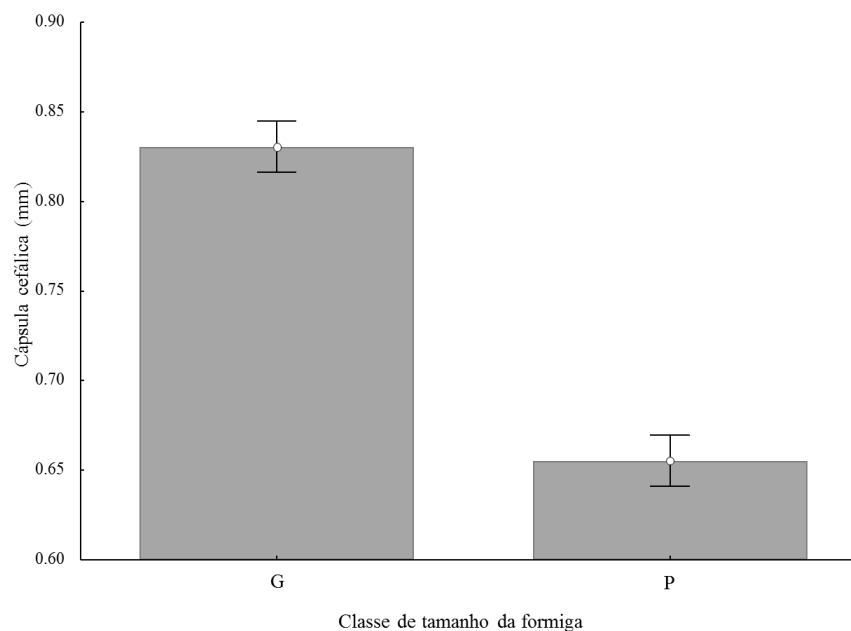


Figura 1. Comparação entre as operárias grandes e pequenas de *Atta bisphaerica*.

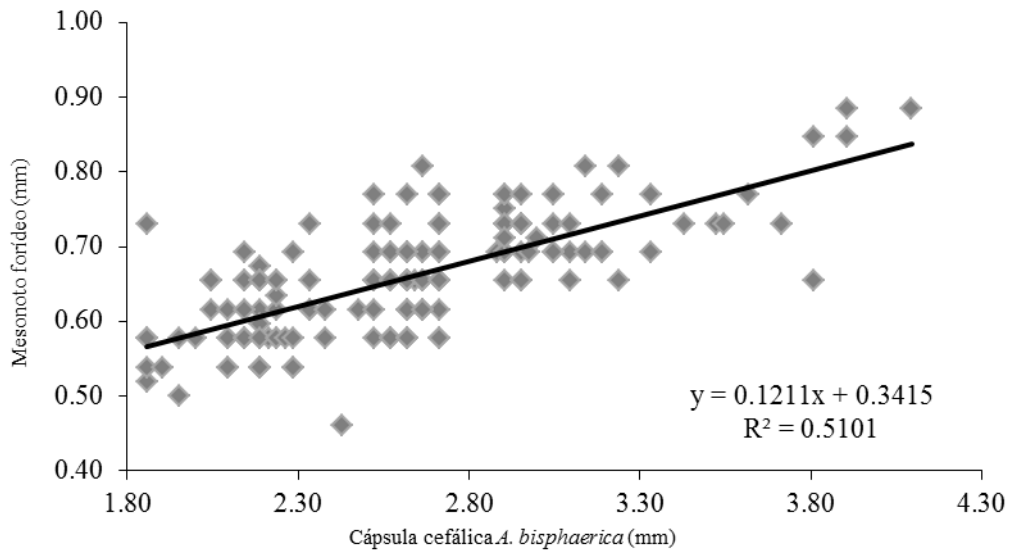


Figura 2. Correlação entre o tamanho da cápsula cefálica de operárias de *Atta bisphaerica* e o largura do mesonoto das moscas de seu hospedeiro *Eibesfeldtphora bragancai*.

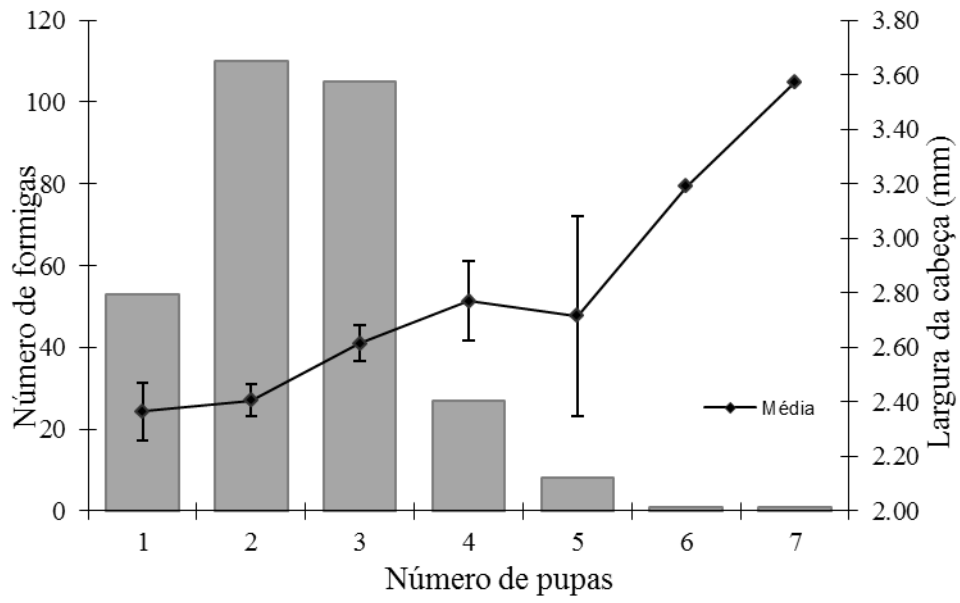


Figura 3. Correlação entre o número de pupas de *Apocephalus attophilus* e a largura da cápsula cefálica de seu hospedeiro *Atta bisphaerica*.