



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ICB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA – PPGZOOLOGIA



**Interação entre *Crematogaster brasiliensis* Mayr, 1887 (Hymenoptera:
Formicidae) e *Pseudacteon* sp. (Diptera: Phoridae)**

Cecimara Tavares Paiva

Manaus, Amazonas
Maio/2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ICB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA - PPGZOO

**Interações entre *Crematogaster brasiliensis* Mayr, 1887 (Hymenoptera:
Formicidae), *Pseudacteon* sp. (Diptera: Phoridae)**

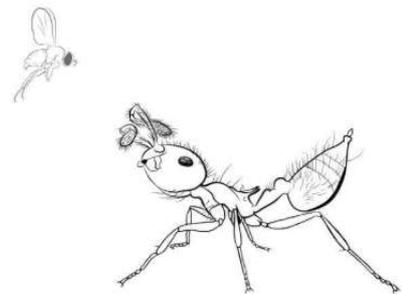
Discente: Cecimara Tavares Paiva

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Beggiato Baccaro

Coorientador: Prof. Dr. Thiago Junqueira Izzo

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zoologia pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia.

Manaus, Amazonas
Maio/2019



Dedico este trabalho a todas as pessoas que sofrem de
ansiedade e depressão, vocês não estão sozinhos!

Agradecimentos

Agradeço a minha família pela criação, meu pai Francisco Paiva (Chicó) e minha mãe Maria Dulcinete (Dulce) pelo amor, pelas correções e por ensinar que a educação é o melhor caminho. Ao meu amado companheiro Paulo Andrade pela compreensão nos momentos de desespero acadêmico (que não foram poucos). Ao Prof. Dr. Fabricio Beggiano Baccaro pela paciência e orientação e por ensinar que a humildade e a humanidade são os maiores atributos de um bom profissional. Ao Prof. Dr. Thiago Izzo pela confiança deste trabalho e valiosa contribuição.

A minha amiga Amine Eakafaz pelos conselhos e por ouvir atentamente como foi meu dia na UFAM. Aos meus amigos do laboratório de Biologia Animal e colegas de curso pelas contribuições (Jessica Yelle, Silvia Coelho, Leonardo Paz, Jadson Viana, Thays Tobias, Daniela Bôlla, Nicole, Érica, Márcia Fragata e Esmeraldina) em especial ao Afonso José, Pedro Bisneto e Cláudio Neto pelo auxílio em campo e as longas conversas motivacionais e sem graça (Pedro Bisneto). Aos amigos que fiz durante o curso Keite Bianca, Gabriel, Cláudia e Raiclicia. Ao programa de Pós-Graduação em Zoologia da Universidade Federal do Amazonas (que tem os melhores professores e o melhor secretário, Gil) ao seu Zé pelo café barato e rápido (sqn). Aos meus gatos por lembrar que tenho que estudar para ter dinheiro para comprar ração. E a CAPES, pela bolsa concedida e que me permitiu sair do interior e continuar meus estudos em Manaus (e comprar ração). Espero devolver todo o tempo e dinheiro investidos em mim através da minha contribuição social, o meu trabalho.

Resumo

A coexistência de espécies em escala local requer a presença de compensações interespecíficas. Traços que permitem que uma espécie seja competitivamente dominante também podem torná-la vulnerável ao ataque de consumidores especialistas. Neste estudo, pesquisamos um mecanismo de defesa observado em operárias de *Crematogaster brasiliensis*, ao se defenderem de forídeos do gênero *Pseudacteon*, essas formigas elevam o gáster a cabeça (local de oviposição), exibindo a postura de “U”. Aqui descrevemos essa interação através do uso de um etograma, avaliamos se o ataque do parasitoide influencia no comportamento de defesa do hospedeiro, através da frequência do comportamento na presença e ausência dos forídeos e quantificamos, através do uso de iscas, o efeito ecológico desse comportamento na população de *C. brasiliensis*. A presença desses forídeos parece influenciar não só no comportamento de defesa das operárias como era esperado, mas também no uso de recursos dessas formigas, uma vez que o número de iscas monopolizadas diminuiu na presença dos forídeos. Essa diminuição não é suficiente para alterar a abundância das *C. brasiliensis* nas iscas, que permanece alta na presença ou não dos parasitoides. No entanto, a presença do forídeo parece facilitar o acesso de outras espécies de formigas ao recurso alimentar, uma vez que a abundância de outras espécies de formigas é maior nas iscas com forídeos.

Palavras-chave: hospedeiro, parasitoide, *Crematogaster brasiliensis*, *Pseudacteon*, Phoridae.

Abstract

The coexistence of species on a local scale requires the presence of interspecific compensations. Traits that allow a species to be competitively dominant may also make it vulnerable to attack by specialist consumers. In this study, we investigated a defense mechanism observed in workers of *Crematogaster brasiliensis*, when defending of *Pseudacteon* phorids, these ants elevate the gaster the head (oviposition site), exhibiting the "U" posture. Here we describe this interaction through the use of an etogram, evaluate if the attack of the parasitoid influences the host defense behavior, through the frequency of behavior in the presence and absence of the phorids and quantify, through the use of baits, the ecological effect of this behavior in the population of *C. brasiliensis*. The presence of these forids seems to influence not only the workers defense behavior as expected, but also the use of resources of these ants, since the number of monopolized baits decreases in the presence of the phorids. This decrease is not sufficient to alter the abundance of *C. brasiliensis* in the baits, which remains high in the presence or not of the parasitoids. However, the presence of the forídeo seems to facilitate the access of other species of ants to the food resource, since the abundance of other species of ants is greater in the baits with phoridae.

Keywords: host, parasitoid, *Crematogaster brasiliensis*, *Pseudacteon*, Phoridae.

Lista de tabelas

Tabela 1. Etograma da interação entre os forídeos *Pseudacteon* sp. e a formiga *Crematogaster brasiliensis* em ambiente natural, comportamentos associados a aproximação ao hospedeiro e resposta do hospedeiro ao parasitoide (adaptado de Feener e Brown (1993); Tonhasca *et al.* 2001 e Bragança *et al.* 2009).

Tabela 2. Número de indivíduos de *Pseudacteon* sp1 e *Pseudacteon* sp2 (Diptera: Phoridae) coletados em áreas abertas e fechadas na Fazenda Experimental da UFAM, Amazonas, Brasil, 2018.

Lista de Figuras

Figura 1: Área de estudo, localização das trilhas e distribuição dos ninhos. Os pontos amarelos representam os ninhos com forídeos e os pontos brancos os ninhos sem forídeos. Em amarelo as trilhas em áreas fechadas e os restantes dos ninhos estão em área aberta. Fazenda Experimental da UFAM - FAEXP.

Figura 2. Operárias de *C. brasiliensis* exibindo a postura de “O” (elevando o gáster e a cabeça formando uma bola) após o ataque do forídeo. As setas amarelas mostram as formigas exibindo o comportamento e as setas brancas mostram outras operárias tocando na formiga atacada (A) e em seguida tocando umas nas outras e exibindo o comportamento de defesa levantando o gáster (B) (Fotos: Afonso José).

Figura 3. Posição do gáster das formigas *C. brasiliensis* na presença do forídeo *Pseudacteon* sp. (A) gáster em posição normal, (B) gáster levemente levantado, (C) movimento do gáster protegendo a cabeça, (D) gáster totalmente levantado.

Figura 4. Locais de interação entre os forídeos *Pseudacteon* sp. e *C. brasiliensis*, destaque para o comportamento de defesa das formigas. A) *Pseudacteon* sp1 atacando operárias em NEFs na superfície foliar da face abaxial da folha. B) *Pseudacteon* sp2 atacando operárias entre os NEFs localizados na axila foliar da planta. C) *Pseudacteon* sp2 atacando operárias em associação com cochonilhas (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoomorpha). D) *Pseudacteon* sp1 atacando operárias durante a construção de um ninho satélite (Fotos: Afonso José).

Figura 5. Relação da posição do gáster com a presença de forídeos *Pseudacteon* sp. As barras representam os três tipos de posição do gáster: levantado, levemente levantado e normal. As barras vermelhas mostram a posição do gáster na presença de forídeos e as barras azuis representam a posição do gáster sem a presença de forídeo.

Figura 6. Frequência de iscas monopolizadas por *C. brasiliensis* com e sem a presença do forídeo *Pseudacteon* sp. As barras vermelhas indicam os ninhos com forídeo e as barras cinzas os ninhos sem forídeo

Sumário

1. Introdução.....	10
2. Objetivos.....	13
2.1. Geral.....	13
2.2. Específicos.....	13
3. Material e Métodos.....	14
3.1. Área de estudo.....	14
3.2. Organismos de estudo.....	15
3.2.1. Formiga.....	15
3.2.2. Forídeo.....	15
3.3. Coleta dos dados.....	16
3.4. Descrição da interação forídeo-formiga.....	17
3.5. Presença dos forídeos e comportamento de defesa.....	19
3.6. Taxa de parasitoidismo.....	20
3.7. Presença dos forídeos e uso de recursos.....	21
4. Análises estatísticas.....	22
5. Resultados.....	22
6. Discussão.....	29
7. Referências.....	34
8. Apêndice.....	36

1. Introdução

A coexistência de espécies em escala local requer a presença de compensações interespecíficas, tais como o uso diferencial de tipos de recursos, a capacidade competitiva e diferenças na vulnerabilidade frente a inimigos naturais (Chase *et al.* 2002, Chase e Leibold 2003, Kneitel e Chase 2004). Traços que permitem que uma espécie seja competitivamente dominante também podem torná-la vulnerável ao ataque de consumidores especialistas (Feener, 2000), o que conseqüentemente reflete em uma demanda conflitante (relação negativa ou *trade-off*) entre dominar e o risco de ser morto na procura por recursos. Essa demanda conflitante é explicada através da Teoria do “balanço do terror” de Adler (1999), onde as espécies permanecem competitivamente equilibradas em resposta ao seu terror de serem consumidas.

LeBrun e Feener (2007) ao examinarem assembleias de formigas onívoras em que algumas espécies dominantes são atacadas por forídeos parasitoides especializados, observaram que essas espécies reduzem suas habilidades competitivas, a fim de evitar o encontro com o parasitoide. O parasitoidismo é exclusivo de insetos e combina atributos de predação e parasitismo (Schowalter 2006). E diferentemente dos parasitas, o parasitoide sempre mata seu hospedeiro para poder completar seu ciclo de vida (Passera e Aron 2005). A simples presença do parasitoide pode desencadear mecanismos de defesa no hospedeiro como fuga ou postura defensiva, reduzindo a capacidade da espécie dominante de rapidamente coletar e defender recursos (Feener 1981; Feener e Brown 1992; Orret *al.* 1995; Morrison 2000; LeBrun e Feener 2002).

O sucesso do parasitoidismo está ligado a esta capacidade do parasitoide em superar um conjunto hierárquico de barreiras, a fim de ovipositar em um hospedeiro e deixar descendentes (Vinson 1976; Godfray, 1994). Em geral, os mecanismos comportamentais dos hospedeiros contra parasitoides são a primeira linha de defesa a serem superadas (Kenneth 2005). Para parasitoides como os forídeos (Diptera: Phoridae) com hospedeiros adultos móveis, as defesas comportamentais são um elemento crítico, e que efetivamente determina a especificidade dos hospedeiros destas moscas (Feener e Brown, 1997).

Fêmeas da mosca forídeo geralmente depositam seus ovos no interior do corpo das formigas através de um ovipositor quitinoso. O local de oviposição varia de acordo com a espécie de forídeo, podendo ser no gáster, tórax ou cabeça das formigas (Morrison *et al.* 1997; Elizalde e Folgarait 2012). Ao eclodir, a larva se alimenta dos tecidos de seu hospedeiro, provocando sua morte antes de completar a fase larval (Porter *et al.* 1995b). O

processo de decapitação começa quando as operárias parasitadas se deformam e são incapazes de andar, a larva do terceiro instar parece liberar uma enzima ou hormônio que faz com que as membranas intermuniculares do seu hospedeiro se degenerem (Porter *et al.* 1995b). Esse processo pode afrouxar a cabeça das formigas, e as vezes as pernas e gáster também são afetados. A larva passa a consumir todo o conteúdo da cabeça da operária, em um processo de 6-12 h que geralmente resulta na decapitação de seu hospedeiro vivo. Nas colônias de laboratório, a maioria dos trabalhadores decapitados e moribundos é rapidamente levada para fora das câmaras de ninho para a pilha de lixo.

O destino das pupas de *Pseudacteon* no campo não é conhecido, mas com base em observações de laboratório, as pupárias provavelmente são depositadas junto a operárias mortas em pilhas de lixo na superfície do solo, onde eventualmente podem completar seu ciclo de vida (Howard e Tschinkel 1976). O desenvolvimento da pupa requer de 2-6 semanas, dependendo da temperatura, e o período total de desenvolvimento do ovo até adulto varia de 5-12 semanas (Morrison *et al.* 1997). Moscas recém-emergidas estão prontas para acasalar e depositar novos ovos, as moscas adultas podem viver 3 a 7 dias no laboratório se forem relativamente inativas (Pesquero *et al.* 1995, Gilbert 1996, Porter *et al.* 1997). No entanto, a vida útil das moscas que atacam as formigas em campo é provavelmente muito mais curta (Porter *et al.* 1997).

Feener (2000) ao estudar o sistema fórideo-formiga, discute duas características especialmente importantes para entender como a presença de um parasitoide pode afetar as interações entre espécies de formigas. A primeira tem a ver com a especificidade do hospedeiro, onde a presença de uma espécie de parasitoide pode afetar apenas uma ou no máximo algumas espécies de formigas dentro de uma comunidade (Disney 1994, Porter *et al.* 1995b; Feener e Brown, 1997; Gilbert e Morrison, 1997 e Brown 1999). E a segunda discute a resposta comportamental das formigas hospedeiras à radiação bem-sucedida desses parasitoides, no qual desenvolveram comportamentos especializados para se defenderem do ataque das fêmeas ovipositoras.

Esses mecanismos de defesa incluem modificações no comportamento das operárias tanto em nível individual como em nível de colônia, como alteração do ritmo de atividade, preferência de trilhas menos abertas, postura corporal defensiva, escape ou mesmo contra-ataque (Feener e Brown 1993; Bragança 2011; Wuellner *et al.* 2002; Folgarat 2002). O comportamento de “pegar carona” é um exemplo frequentemente registrado durante o forrageamento de formigas cortadeiras do gênero *Atta*, onde operárias de casta mínima são observadas sobre fragmentos de folhas que outras operárias

forrageiras transportam até a colônia (Vieira-Neto *et al.* 2006). Vários autores sugerem que esse comportamento tem a função de proteger as forrageadoras do ataque de forídeos parasitoides (Eibl-Eibesfeldt e Eibesfeldt 1967; Feener e Moss 1990; Linksvayer *et al.* 2002), o que foi testado por Bragança *et al.* (1998) ao qual registraram um aumento relativo de canoelras na presença de forídeos parasitoides.

Embora todos esses comportamentos de defesa tenham a capacidade de reduzir a vulnerabilidade dos trabalhadores suscetíveis ao ataque de parasitoides, inevitavelmente também cobram um custo indireto para a colônia, expresso através do abandono de recursos (Feener, 1988; Orr *et al.* 1995; Orr e Seike, 1998), diminuição na taxa de forrageamento (Feener e Brown 1992, Porter *et al.* 1995c), ou redução da capacidade de defender recursos (Feener 1981). É através desses custos ecológicos indiretos intensificados pelo comportamento de defesa anti-parasitóide que os forídeos podem afetar a competição e o uso de recursos entre as espécies de formigas (Feener 2000).

Um mecanismo de defesa individual bastante peculiar foi observado por Izzo (observação pessoal descrito em Pace 2008), ao estudar formigas *Crematogaster brasiliensis* Mayer, 1987, na América do Sul. Ele observou que para se defenderem de forídeos do gênero *Pseudacteon*, as formigas elevavam o gáster e a cabeça, praticamente tocando um no outro (ficando em forma de “U”), retornando a postura normal e fugindo em seguida. Esse comportamento de defesa atribuído a *C. brasiliensis* ainda não foi explorado na literatura, porém um comportamento semelhante já foi descrito para *Solenopsis* (Myrmicinae) (Porter 1998).

O gênero *Crematogaster* é o quarto maior gênero de formigas (Bolton, 1995), são muito abundantes, especialmente nas comunidades de formigas arbóreas tropicais, onde são consideradas como formigas dominantes (Room, 1971; Cole, 1983; Leponce *et al.* 1999; Dejean *et al.* 1999a, 2000; Dejean e Gibernau, 2000). Segundo Disney (1994) os registros disponíveis de hospedeiros sugerem que a maioria dos forídeos parasitoides estão associados a espécies de formigas competitivamente dominantes, e que essas espécies tendem a ser mais vulneráveis a presença dos parasitoides. Diante disso, uma investigação mais profunda sobre os estímulos comportamentais desses organismos na interação forídeo-formiga possibilitaria prever a ocorrência de certos eventos comportamentais e o correto entendimento dessa relação dentro das comunidades como um todo (Gazal *et al.* 2009; Mathis e Tsutsui 2016).

Apesar de ser uma interação facilmente observada, ainda resta dúvida (i) quanto à influência do mecanismo de defesa anti-forídeo da *C. brasiliensis* para o ataque dos forídeos, e (ii) o custo dessa interação para as colônias desta espécie de formiga.

2. Objetivos

2.1. Geral

Determinar se o ataque do parasitoide influencia no comportamento de defesa do hospedeiro, e quantificar o efeito ecológico dessa alteração comportamento na competição por recursos entre a formiga dominante *C. brasiliensis* e outras espécies subordinadas que usam o mesmo habitat.

2.2. Específicos

Descrever a interação dos forídeos *Pseudacteon* sp1 e *Pseudacteon* sp2 com a formiga *C. brasiliensis*.

Determinar se a presença dos forídeos *Pseudacteon* sp1 e *Pseudacteon* sp2 podem influenciar no comportamento de defesa de *C. brasiliensis*.

Verificar as taxas de parasitoidismo nas colônias de *C. brasiliensis*.

Avaliar se a presença dos forídeos *Pseudacteon* sp1 e sp2 afeta o uso de recursos por *C. brasiliensis*.

3. Material e Métodos

3.1. Área de estudo

O estudo foi realizado na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas - FAEXP (02°37'17.1''e 02°39'41.4''S, 60°03'29.1'' e 60°07'57.5''W) localizada no Km 38 da rodovia BR-174 (Rojas-Ahumada 2010). A Fazenda possui 3.000 ha (Cruz 2001) sendo classificada como floresta de terra firme (Pires e Prance 1985; Ribeiro *et al.* 1999) contendo matas primárias e secundárias em diferentes níveis de antropização (Ribeiro *et al.*, 1994; Silva-Forsberg 1999). O domínio climático da região é caracterizado como tropical úmido (denominação Af, de acordo com a classificação de Köppen) (Peel *et al.* 2007).

A área amostrada está dividida ao longo de cinco trilhas e nas bordas da floresta e das capoeiras onde estão distribuídos os ninhos. As áreas possuem características distintas classificadas de acordo com a sua cobertura vegetal em: área aberta (com mais luminosidade) e área fechada, (com menos luminosidade) (Figura 1).

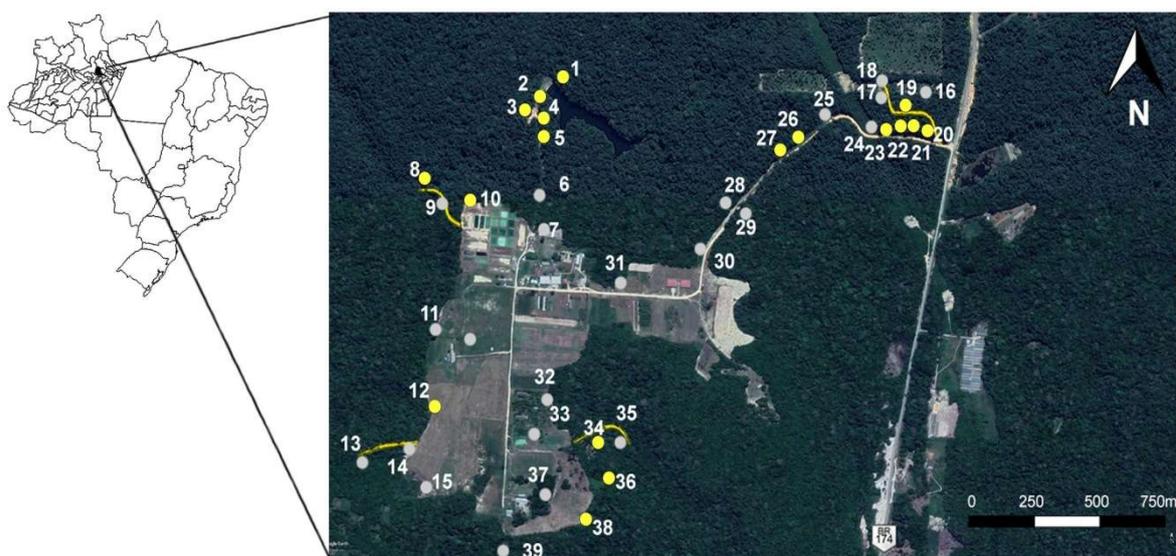


Figura 1: Área de estudo, localização das trilhas e distribuição dos ninhos. Os pontos amarelos representam os ninhos com forídeos e os pontos brancos os ninhos sem forídeos. O destaque em amarelo representa as trilhas em áreas fechadas e o restante dos ninhos

estão em área aberta (borda de floresta e capoeira). Fazenda Experimental da UFAM - FAEXP.

3.2. Organismos de estudo

3.2.1. Formiga

Crematogaster brasiliensis Mayer, 1878 ocorre principalmente em florestas úmidas de vegetação primária ou secundária. Suas operárias podem ser encontradas forrageando a qualquer hora do dia ou da noite. São preferencialmente arborícolas, mas seus ninhos podem ser encontrados no solo, serapilheira, madeira em decomposição, caules ocos, árvores vivas e, epífitas. Também são encontradas em plantas mirmecófitas, mas sua nidificação nessas plantas parece ser oportunista (Longino 2003).

Os ninhos podem ser polidômicos, com vários ninhos satélites conectados (Carvalho e Vasconcelos 2002). A maioria das colônias são poliginicas (mais de uma rainha). Porém, também existem relatos de moniginia (Longino 2003). A espécie é onívora generalista, visitando nectários extraflorais e se alimentam de soluções açucaradas excretadas por hemípteros, iscas de proteínas ou carboidratos (Longino *et al.* 2002; Longino 2003).

As operárias deste gênero são facilmente reconhecidas por algumas características morfológicas únicas, incluindo uma extrema mobilidade do gáster oriunda da articulação apomórfica do pós-pecíolo na face dorsal do primeiro segmento do gáster e o formato do pecíolo, dorsalmente achatado e sem nóculo ou espinho, o que possibilita a essas formigas a habilidade de flexionar o gáster na vertical (Buren, 1959; Longino, 2003).

3.2.2. Forídeo

O gênero *Pseudacteon* Coquillett é um grupo de moscas que ataca e parasita várias espécies de formigas, causando a decapitação das operárias hospedeiras durante o desenvolvimento de suas larvas (Disney 1994). A maioria das espécies do gênero *Pseudacteon* são parasitoides de formigas (Disney 1994). As fêmeas de várias espécies desse gênero podem ser identificadas pela anatomia do seu ovipositor externo (Porter e Pesquero, 2001). São considerados parasitoides altamente especializados por possuírem

ovipositor elaborado, e pelo menos, 11 espécies empupam na cápsula cefálica de operárias de formigas (Porter, 1998). Cada espécie de *Pseudacteon* possui um ovipositor distinto (Porter, 1998). Estas espécies de forídeos são relativamente pequenas (0,9-1,5 mm de diâmetro de tórax) e muitas são notadas apenas quando os ninhos de formigas ou as trilhas principais (com várias operárias) são perturbados (Williams, 1980; Orret *al.* 1995, 1997).

3.3. Coleta dos dados

A pesquisa foi realizada entre junho e novembro de 2018. Para a observação das interações em campo primeiramente foram feitas as localizações dos ninhos de *C. brasiliensis* na área de estudo. A procura pelas colônias foi feita de forma direta através de busca ativa, respeitando uma distância mínima de aproximadamente 50 metros entre um ninho e outro. Em cada colônia, exemplares de *C. brasiliensis* foram coletados e adicionados em eppendorf com álcool 70% para posterior confirmação da identidade. Após a localização, os ninhos foram georeferenciados (GPSmap 62sc) e marcados individualmente. Essa diferenciação foi feita para identificar a presença de forídeos ao redor das colônias.

Para determinar se haviam forídeos próximos aos ninhos algumas perturbações foram feitas no local de observação de forma progressiva: parte de um ninho satélite foi removido deixando as formigas expostas; algumas operárias foram “perturbadas”; e outras foram mortas, induzindo a liberação de spray ácido (e potencial alarme químico). Forídeos *Pseudacteon* são atraídos a longas distâncias pelos feromônios de alarme liberados pelos hospedeiros, logo leves perturbações já devem induzir seu recrutamento

As coletas dos dados comportamentais ocorreram entre 08:00 e 18:00 horas (de acordo com as condições climáticas do dia e do início das atividades das formigas). As observações tiveram início a partir da visualização do primeiro parasitoide e foram feitas por no mínimo dois observadores em cada ninho. As coletas foram realizadas através do método *ad libitum* que consiste no registro contínuo e sequencial do comportamento (Altmann, 1974; Lehner, 1996; Freitas e Nishida 2011). O tempo de observação variou entre um ninho e outro, com média de 35 minutos de duração e cada ninho foi observado no mínimo duas vezes e em diferentes horários no período diurno. Cada dia de coleta teve uma média de 06 horas de duração totalizando 360 horas de observação em campo.

Os dados foram registrados de forma manual utilizando o caderno de campo e através de filmagens e registros fotográficos. No entanto, as observações a olho nu foram mais eficientes para a descrição dos dados comportamentais do que os registros digitais,

pois no campo as gravações dos vídeos na velocidade e distância que os pequenos forídeos se moviam não eram possíveis de serem analisadas em detalhes.

As formigas coletadas foram identificadas seguindo a chave para gêneros de formigas do Brasil de Baccaro *et al.* (2015), e para espécie de acordo com Longino (2003). Os forídeos foram identificados até gênero e enviados para o especialista do Laboratório de Sistemática e Biogeografia de Diptera da Universidade de São Paulo - USP (Dr. Thalles Platiny Lavinsky Pereira). As formigas estão depositadas na Coleção Zoológica Paulo Bürheimen na Universidade Federal do Amazonas e os forídeos estão depositados na Coleção Zoológica da Universidade de São Paulo.

3.4. Descrição da interação forídeo-formiga

Para a descrição da interação entre os forídeos *Pseudacteon* sp1 e sp2. com a formiga *C. brasiliensis* (primeiro objetivo específico), foi elaborado um etograma adaptado de Feener e Brown (1993); Tonhasca *et al.* (2001) e Bragança *et al.* (2009), com os repertórios comportamentais observados em campo.

Os atos comportamentais foram registrados até que nenhum comportamento novo fosse avistado e foram divididos em: (A) comportamento dos forídeos relacionado ao hospedeiro (sequência de aproximação até o ataque) e (B) comportamento das formigas em resposta ao parasitoide (tipo de defesa individual, ou em nível de colônia), e respostas “pré e pós-ataque” (Elizalde e Folgarait 2012).

De acordo com essas informações foram definidos quatro comportamentos dos forídeos relacionados ao hospedeiro: (1) voar, (2) seguir, (3) pousar e (4) atacar (Tabela 1). O comportamento atacar não foi referido como oviposição, pois não confirmamos a presença de ovos. Cada ato comportamental foi registrado de forma manual com o auxílio de um cronômetro e de forma digital através de gravações de vídeos, o que permitiu quantificar a duração de cada comportamento.

Para estimar a taxa de ataque foram contabilizados os números de ataques que os forídeos realizaram durante o tempo de observação. Os parasitoides foram capturados com um aspirador entomológico manual e mantidos em eppendorfs individuais com álcool 70% devidamente etiquetados para identificação posterior e para a devida associação dos forídeos aos comportamentos registrados.

Para a categoria relacionada ao comportamento de resposta aos parasitoides quatro ações foram observadas: (1) não reagir, (2) fugir, (3) atacar e (4) realizar postura de defesa, através da adoção da postura corporal em forma de “U”, como relatado por Izzo

(observação pessoal descrito em Pace 2008) e da postura em “O” descrito na Tabela 1. Estes atos foram geralmente adotados pelas formigas durante a presença do forídeo, sendo classificados como “respostas pré-ataque”. Porém, em alguns casos as formigas adotavam essas posturas quando eram tocadas pelo forídeo sendo, portanto, classificadas como “respostas pós-ataque” (Figura 2).

Respostas em nível de colônia (quando outras formigas mostravam reações embora não estivessem sendo perseguidas por um forídeo) incluíram elevar o gáster em direção ao forídeo, e proteger a cabeça com o gáster (Postura de “U”). A frequência (quantidade de vezes que a formiga apresentou cada ato comportamental durante o tempo de observação) foi contabilizada em cada ninho antes e depois dos ataques.

Tabela 1. Etograma da interação entre os forídeos *Pseudacteon* sp. e a formiga *Crematogaster brasiliensis* em ambiente natural, comportamentos associados a aproximação ao hospedeiro e resposta do hospedeiro ao parasitoide (adaptado de Feener e Brown (1993); Tonhasca *et al.* 2001 e Bragança *et al.* 2009).

Categoria	Descrição
Aproximação ao hospedeiro	
1 - Voar	Movimentar - se voando próximo de uma formiga, ou de um local para o outro, próximo às formigas.
2 - Seguir	Voar acompanhando uma formiga.
3 - Pousar	Ficar parado sobre algum substrato próximo às formigas ou na entrada dos ninhos satélites.
4 - Atacar	Tocar uma formiga por pelo menos um segundo.
Resposta ao parasitoide	
1 - Não reagir	Permanecer imóvel e não exibir nenhuma resposta antes e depois do ataque.
2 - Fugir	Afastar-se do parasitoide de forma rápida.
3 - Atacar	Posicionar o gáster em direção ao parasitoide.
Continuação...	
4 - Realizar postura de defesa (Postura em forma de “U”)	Elevar o gáster à cabeça quase tocando um no outro assumindo a postura corporal em forma de “U”.

(Postura em forma de “O”)

Elevar o gáster à cabeça tocando um no outro assumindo a postura de “O” formando uma pequena bola.

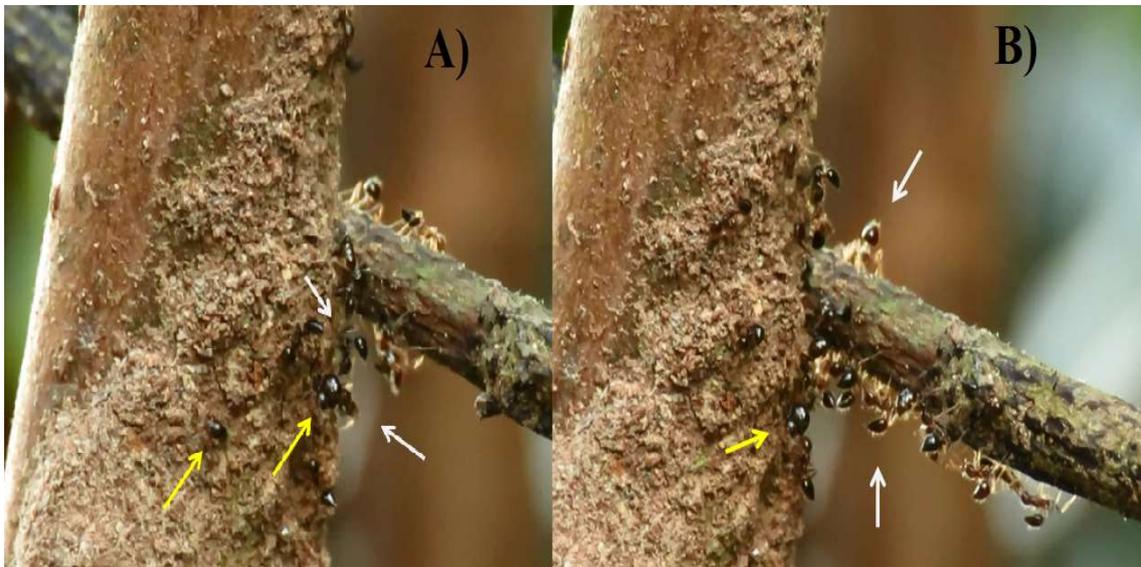


Figura 2. Operárias de *C. brasiliensis* exibindo a postura de “O” (elevando o gáster e a cabeça formando uma bola) após o ataque do forídeo. As setas amarelas mostram as formigas exibindo o comportamento e as setas brancas mostram outras operárias tocando na formiga atacada (A) e em seguida tocando umas nas outras e exibindo o comportamento de defesa elevando o gáster à cabeça (B) (Fotos: Afonso José).

3.5. Presença dos forídeos e comportamento de defesa

Para determinar se a presença dos forídeos *Pseudacteon* sp1 e sp2 podem influenciar no comportamento de defesa da formiga *C. brasiliensis* (segundo objetivo específico) foi contabilizada a frequência com que a formiga realiza o comportamento de defesa (posição do gáster levantado) na presença e ausência do forídeo. Através das observações preliminares foram identificadas algumas variações da posição do gáster durante a interação com o forídeo: (A) posição do gáster normal, (B) gáster levemente levantado e (D) gáster totalmente levantado (Figura 3).

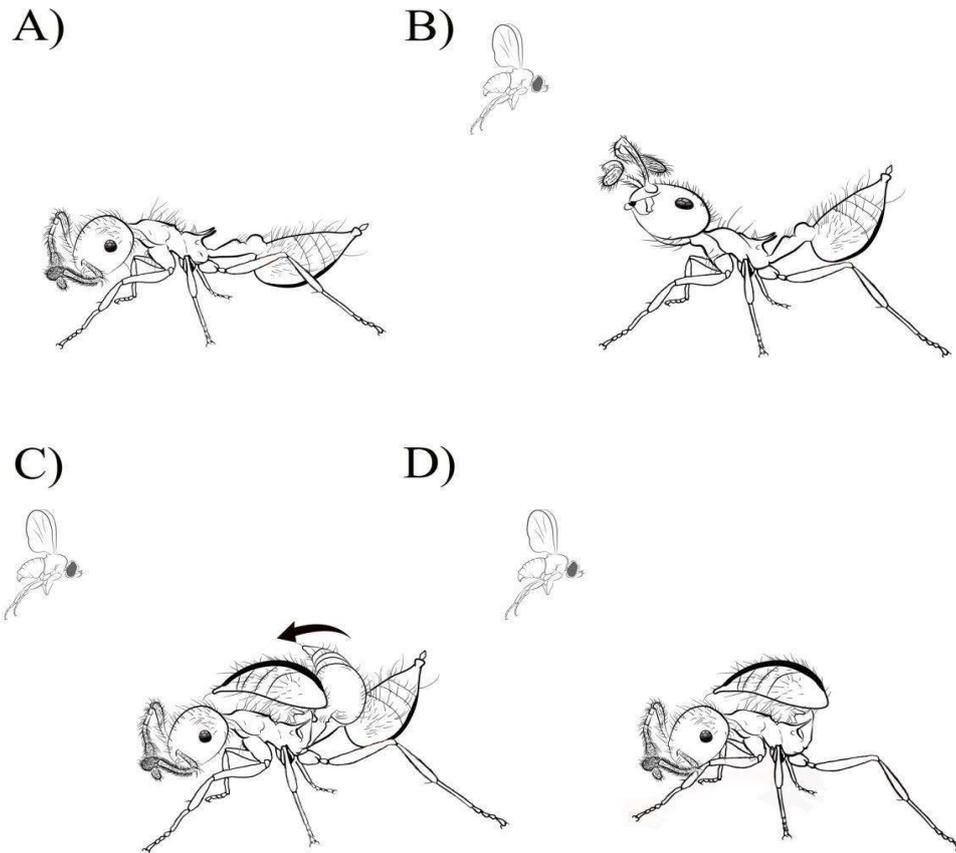


Figura 3. Posição do gáster das operárias de *C. brasiliensis* na presença do forídeo *Pseudacteon* sp1 e sp2. (A) gáster em posição normal, (B) gáster levemente levantado, (C) movimento do gáster protegendo a cabeça, (D) gáster totalmente levantado.

3.6. Taxa de parasitoidismo

Para verificar a taxa de parasitoidismo nas colônias de *C. brasiliensis* (terceiro objetivo específico), após as observações em cada ninho as formigas atacadas foram coletadas com o auxílio de pinças entomológicas (quando era possível a sua identificação individual) e através de um guarda-chuva entomológico improvisado (quando não era possível a sua identificação individual). Para cada formiga atacada e coletada, outra formiga foi coletada ao acaso (sem a confirmação visual do ataque). Foram coletadas ao todo 1980 operárias. As formigas capturadas foram mantidas em potes plásticos transparentes de 500 ml devidamente identificados e com as tampas perfuradas para ventilação. Os forídeos foram coletados com um aspirador entomológico manual e adicionados em eppendorf com álcool 70% e etiquetados para posterior identificação da espécie.

As operárias coletadas em cada ninho foram transportadas para o laboratório de biologia animal da Universidade Federal do Amazonas onde foram mantidas entre 15-25 dias dentro de potes plásticos transparentes de 500 ml. Os potes tiveram as tampas perfuradas para ventilação e continham algodão embebido em água para manter a umidade.

As formigas foram alimentadas com solução de mel a 10% e os potes foram vistoriados diariamente. As operárias que morreram antes de completar os 15 dias foram separadas e mantidas em tubos de ensaio individuais até completar o tempo máximo de espera estabelecido em 30 dias, para dissecação. Essa metodologia foi adaptada de Tonhasca *et al.* (2001) e Bragança *et al.* (2002). No entanto, algumas amostras foram contaminadas por fungos (possivelmente vindo das folhas e pedaços de galhos que foram transportados junto com as formigas para o laboratório), o que impossibilitou a verificação de ovos e larvas nessas operárias. As formigas restantes foram dissecadas e verificadas, porém não foram encontrados vestígios de ovos ou larvas apesar de algumas operárias apresentarem perfurações pela cabeça (local de oviposição dos forídeos).

3.7. Presença dos forídeos e uso de recursos

Para avaliar se a presença dos forídeos nas colônias afeta o uso de recursos das *C. brasiliensis* (quarto e último objetivo específico) foram utilizadas iscas compostas por sardinha em lata (600 g) e farinha de mandioca (500 g), sendo ofertadas aproximadamente 5 g de isca, em cada ninho com e sem a presença de forídeos. As iscas foram colocadas sobre pedaços de papelão com dimensões de 10 por 7 cm (facilitando a visualização das formigas nas iscas).

Após aproximadamente 50-60 minutos as iscas foram verificadas e a abundância (nº de indivíduos por espécie) presentes em cada isca foi contabilizada de acordo com a escala de abundância de Andersen (1997): onde 1 = 1 formiga; 2 = 2-5 formigas; 3 = 6-10 formigas; 4 = 11-20 formigas; 5 = 21-50 formigas e 6 >50 formigas. Para cada isca um indivíduo ou mais de cada espécie de formiga que estava sobre o cartão, foram coletados e conservados em álcool 70% para posterior identificação em laboratório. Esses espécimes foram identificados em nível de gênero seguindo a chave para gêneros de formigas do Brasil de Baccaro *et al.* (2015). As formigas foram depositadas na Coleção Zoológica Paulo Bührnheim da UFAM.

4. Análises estatísticas

Uma tabela de contingência contendo a frequência de displays das três categorias de posição do gáster (normal, levemente levantado e totalmente levantado) com e sem a presença de forídeos foi construída usando as observações de todos os ninhos. A relação entre a posição do gáster e a presença do forídeo foi comparada pelo teste qui-quadrado (χ^2). Também usamos qui-quadrado (χ^2) para comparar a frequência de iscas monopolizadas por *C. brasiliensis* com e sem a presença dos forídeos *Pseudacteon* sp. Uma isca foi considerada monopolizada quando a abundância de *C. brasiliensis* foi igual ou maior que 20 operárias (i.e. valor 5 e 6 na escala de abundância) e sem a presença de formigas de outras espécies.

Usamos modelos generalizados para investigar a abundância de *C. brasiliensis* e das outras formigas somadas nas iscas com e sem a presença de *Pseudacteon* sp. A abundância de *C. brasiliensis* e a abundância das outras espécies de formigas foram as variáveis dependentes, e a presença/ausência de forídeo e a localização da isca (borda ou interior da floresta) foram as variáveis preditoras nos modelos. Por se tratar de dados de contagem, utilizamos distribuição de Poisson nos resíduos. Todas as análises foram realizadas no programa R Core Team (v. 3.1.2) (2019).

5. Resultados

Distribuição dos ninhos e presença de forídeos

Foram localizados 40 ninhos de *Crematogaster brasiliensis* na Fazenda Experimental da UFAM, (18) com a presença de forídeos e (22) sem a presença de forídeos. Os ninhos estavam distribuídos nas bordas da floresta (20) e plantações em áreas abertas (9), e em trilhas de floresta pouco perturbada (11) (Figura 1). Nos ninhos onde foram observadas as interações, foram coletados ao todo 52 forídeos associados a *C. brasiliensis*. Os forídeos foram identificados em morfotipos: *Pseudacteon* sp1 (45 indivíduos) e *Pseudacteon* sp2 (7 indivíduos) (Figura 4). Da primeira espécie, 11 indivíduos foram capturados próximos a borda de floresta, 24 próximo a borda de capoeira e 10 no interior das trilhas de floresta menos perturbada. Da espécie *Pseudacteon* sp2, 3 indivíduos foram capturados próximos à borda de floresta, 2 próximos à borda de capoeira e 2 no interior das trilhas de floresta menos perturbada (Tabela 2).

Ao total 27 forídeos da espécie *Pseudacteon* sp1 foram observados atacando as operárias em Nectários extraflorais, atacavam enquanto as formigas estavam forrageando próximo aos ninhos satélites e apenas 2 foram coletados enquanto atacavam as operárias em troncos caídos próximo aos ninhos. Da espécie *Pseudacteon* sp2, 3 indivíduos foram observados atacando as operárias em Nectários extraflorais e 4 em ninhos satélites (Figura 5). O horário de maior atividade dos forídeos foi entre 11:00 e 14:00 horas coincidindo com o horário de maior atividade das formigas (observação pessoal) em campo.

Tabela 2. Número de indivíduos de *Pseudacteon* sp1 e *Pseudacteon* sp2 (Diptera: Phoridae) coletados em áreas abertas e fechadas na Fazenda Experimental da UFAM, Amazonas, Brasil, 2018.

Espécie	Local de coleta		
	Área aberta		Área menos perturbada
	Borda de Floresta	Borda Capoeira	Interior das Trilhas
<i>Pseudacteon</i> sp1	11	24	10
<i>Pseudacteon</i> sp2	3	2	2
Total	14	26	12

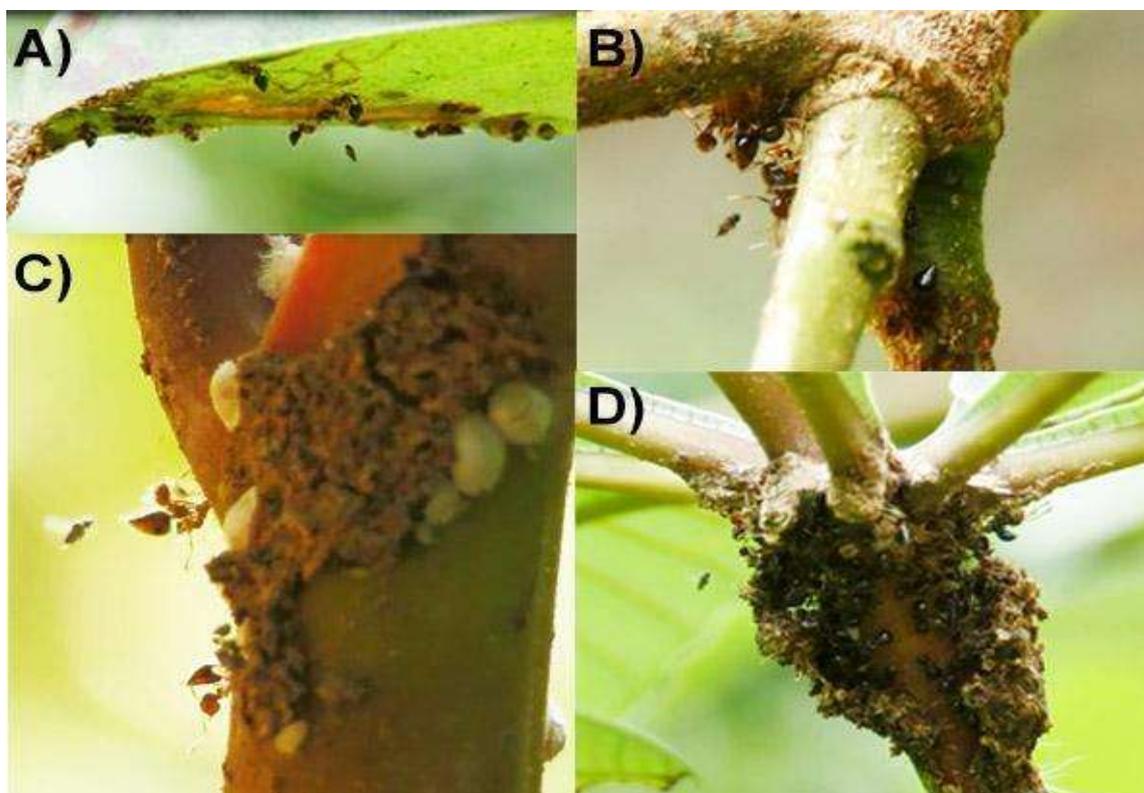


Figura 4. Locais de interação entre os forídeos *Pseudacteon* sp. e *C. brasiliensis*, destaque para o comportamento de defesa das formigas. A) *Pseudacteon* sp1 atacando operárias em

NEFs na superfície foliar da face abaxial da folha. B) *Pseudacteon* sp2 atacando operárias entre os NEFs localizados na axila foliar da planta. C) *Pseudacteon* sp2 atacando operárias em associação com cochonilhas (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoomorpha). D) *Pseudacteon* sp1 atacando operárias durante a construção de um ninho satélite (Fotos: Afonso José).

Comportamentos relacionados ao hospedeiro

Os forídeos apresentaram os mesmos comportamentos relacionados à aproximação ao hospedeiro (voar, seguir, pousar e atacar) *Pseudacteon* sp1 passou 64,7% do tempo de observação voando (12h34min, média de 16min45s), 30,3% do tempo seguindo o hospedeiro (5h54min, média de 07min52s), 4,2% pousado em algum substrato (48min40s, média de 01min05s) e 0,8% do tempo foi gasto atacando o hospedeiro (08 minutos e 58 segundos, média de 12 segundos). Tempo total de observação do *Pseudacteon* sp1: 19h25min38s, média de 25min54s, com um total de 264 ataques e média de 5,8 ataques por tempo médio de observação (N= 45). O forídeo *Pseudacteon* sp2 passou 55,1% do tempo voando (01h40min, média de 14min17s), 41,3% do tempo seguindo o hospedeiro (01h15min, média de 10min43s), 2,3% pousado em algum substrato (04min10s, média de 36 segundos) e 1,3% do tempo atacando o hospedeiro (02min24s, média de 21 segundos). Tempo total de observação do *Pseudacteon* sp2: 03h01min15s, média de 25min56s, com um total de 72 ataques e média de 10,2 ataques por tempo de observação (N= 7).

Tabela 3: Porcentagem de tempo gasto pelos forídeos *Pseudacteon* sp1 e sp2 em cada comportamento relacionado ao hospedeiro. Entre parênteses os tempos em forma de porcentagem, seguido do tempo médio e do tempo total de duração de cada comportamento. Tempo total de observação 22h26min53s, N=52.

Espécie	Comportamento forídeo					N
	Voar	Seguir	Pousar	Atacar	Total	
<i>Pseudacteon</i> sp1	(64,7%)	(30,3%)	(4,2%)	(0,8%)	(100%)	45
	00:16:45	00:07:52	00:01:05	00:00:12	00:25:54	(5,8)
	12:34:00	05:54:00	00:48:40	00:08:58	19:25:38	264
<i>Pseudacteon</i> sp2	(55,1%)	(41,3%)	(2,3%)	(1,3%)	(100%)	07
	00:14:17	00:10:43	00:00:36	00:00:21	00:25:56	(10,2)
	01:40:00	01:15:00	00:04:10	00:02:24	03:01:15	72

Comportamentos de resposta aos parasitoides

As operárias de *C. brasiliensis* exibiram os mesmos comportamentos de resposta aos parasitoides *Pseudacteon* sp1 e sp2. Na presença do *Pseudacteon* sp1 a postura de “U” foi registrada em 89% (n=40) das amostragens antes do primeiro ataque do forídeo e 96% (n=43) das operárias exibiram esse comportamento após o primeiro ataque do forídeo. A postura em “O” foi realizada em 13% (n=06) das observações antes do ataque e em 49% (n=22) depois do ataque. O comportamento atacar ocorreu em 11% (n=05) das respostas pré e em 7% (n=03) das respostas pós-ataque. Em 18% (n=08) das observações as operárias fugiram antes do ataque e 29% (n=13) depois. E 7% (n=03) não reagiram antes e 2% (n=01) não reagiram depois do ataque.

Na presença do *Pseudacteon* sp2 a postura de “U” foi registrada em 71% (n=05) das amostras pré-ataque e em 86% (n=06) nas amostras pós-ataque. A postura de “O” foi exibida em 29% (n=02) das amostras pré-ataque e em 57% (n=04) das amostras pós-ataque. O comportamento atacar ocorreu em 29% (n=02) das respostas pré e em 43% (n=03) das respostas pós-ataque. Em 29% (n=02) das observações as operárias fugiram antes do ataque e 43% (n=03) depois. E 14% (n=01) não reagiram antes e nem depois do ataque.

Em nível de colônia as respostas exibidas foram: elevar o gáster em direção ao forídeo, para o *Pseudacteon* sp1 27% (n=12) exibiram esse comportamento antes e 44% (n=20) depois do ataque e para o *Pseudacteon* sp2 29% (n=02) exibiram esse comportamento antes e 43% (n=03) depois do ataque. O comportamento proteger a cabeça com o gáster foi realizado em 58% (n=26) das colônias antes do ataque do *Pseudacteon* sp1 e 76% (n=34) depois. Na presença do *Pseudacteon* sp2 29% (n=02) das operárias exibiram o comportamento antes do ataque e 71% (n=05) depois. Esses comportamentos eram exibidos quando as operárias que estavam próximas às formigas atacadas tocavam seu corpo com as mandíbulas e antenas por uma média de 10 segundos e logo em seguida tocaram umas às outras elevando o gáster a cabeça (Figura 4).

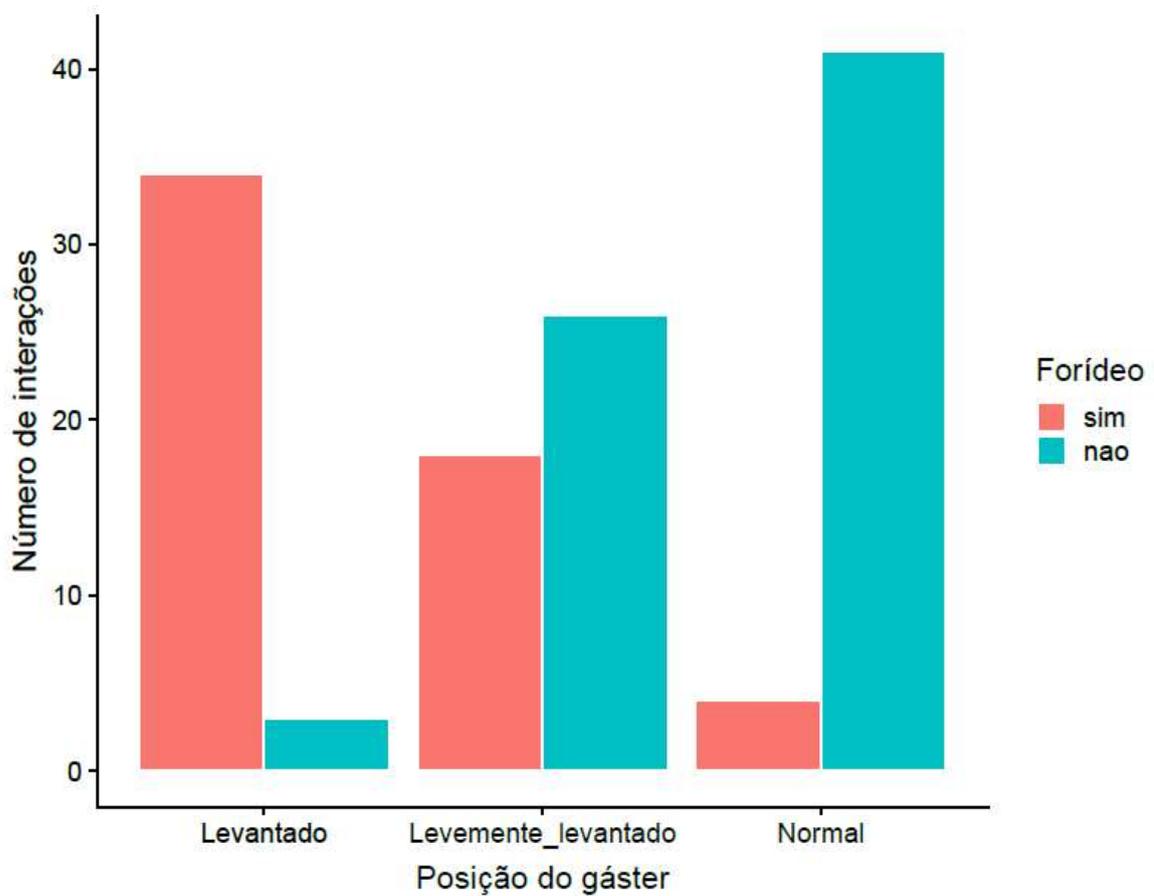
Tabela 4: Frequência dos atos comportamentais realizados pelas operárias de *C. brasiliensis* antes e depois do ataque dos forídeos *Pseudacteon* sp1 e *Pseudacteon* sp2 em ambiente natural, N=52.

Espécie	Resposta das Formigas (pré-ataque)				N
	Fuga	Ataque	Post “U”	Post “O”	
<i>Pseudacteon</i> sp1	08 (18%)	05 (11%)	42 (93%)	06 (13%)	45

<i>Pseudacteon</i> sp2	01 (14%)	01 (14%)	06 (86%)	02 (29%)	07
Espécie	Resposta das Formigas (pós-ataque)				N
	Fuga	Ataque	Post “U”	Post “O”	
<i>Pseudacteon</i> sp1	13 (29%)	01 (14%)	45 (100%)	22 (49%)	45
<i>Pseudacteon</i> sp2	03 (43%)	02 (29%)	07 (100%)	04 (57%)	07

5.3. A presença do forídeo influencia no comportamento de defesa da formiga?

Em nossas interações observadas em campo as operárias mantiveram a posição do gáster levantado com maior frequência na presença do forídeo (34) do que na ausência (3).



Quando os forídeos não estão presentes as formigas permanecem com a posição do gáster normal na maior parte das observações (Figura 6; $\chi^2 = 56.998$, $p < 0.001$). No entanto, não houve diferença para a posição levemente levantado quando as formigas estavam na presença (18) ou ausência (26) do forídeo ($\chi^2 = 1.4545$, $p = 0.227$).

A presença dos forídeos nas colônias afeta o uso de recursos das formigas?

O número de iscas monopolizadas por *C. brasiliensis* é maior nos ninhos sem forídeo do que nos ninhos com forídeo (Figura 7; $\chi^2 = 5.0225$, $p < 0.037$).

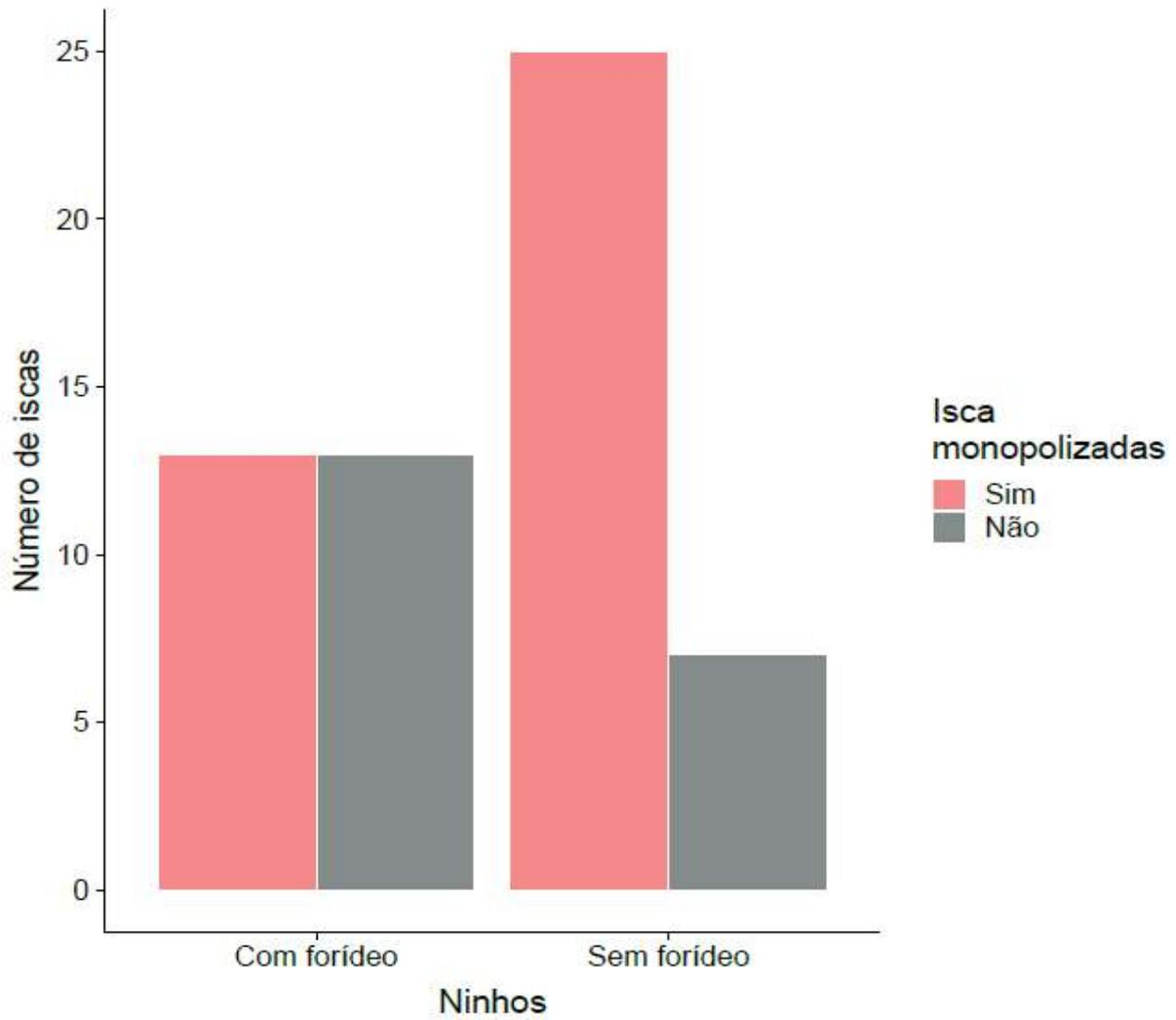


Figura 7. Frequência de iscas monopolizadas por *C. brasiliensis* com e sem a presença do forídeo *Pseudacteon* sp. As barras vermelhas indicam os ninhos com forídeo e as barras cinzas os ninhos sem forídeo.

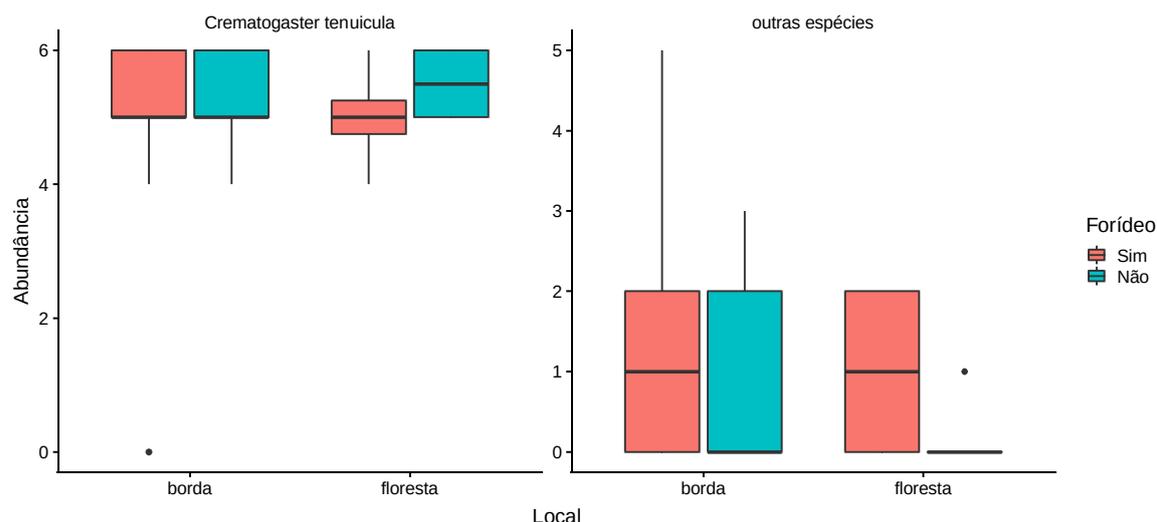


Figura 8. Abundância média de *C. brasiliensis* e outras espécies nas iscas com e sem a presença de forídeos *Pseudacteon* sp. As barras vermelhas representam a abundância média das espécies na presença do forídeo e as barras azuis a abundância média das espécies sem a presença dos forídeos.

Contrariamente à nossa hipótese, a abundância média de *C. brasiliensis* foi similar entre iscas com e sem forídeo ($b = 0.11$; $p = 0.395$) e entre borda e interior da floresta ($b = 0.09$; $p = 0.54$). No entanto a abundância das outras espécies foi maior em iscas sem forídeo ($b = 0.78$; $p = 0.014$), mas não variou entre borda e interior da floresta ($b = -0.29$; $p = 0.422$).

6. Discussão

Os comportamentos avaliados neste estudo indicam o uso de posturas corporais como as principais respostas de defesa das *C. brasiliensis* aos ataques dos parasitoides *Pseudacteon* sp1 e sp2, tanto em nível individual como em nível de colônia. A presença desses forídeos parece influenciar não só no comportamento de defesa das operárias como era esperado, mas também na competitividade e no uso de recursos dessas formigas, uma vez que o número de iscas monopolizadas diminuiu na presença dos forídeos. Essa diminuição aparentemente não é suficiente para alterar a abundância das *C. brasiliensis* nas iscas, que permanece alta independente da presença ou não dos parasitoides. No entanto, a presença do forídeo parece facilitar o acesso de outras espécies de formigas ao recurso alimentar, uma vez que a abundância de outras espécies de formigas é maior nas iscas com forídeos.

O uso de posturas corporais como mecanismo de defesa em formigas tem sido relatado em variados estudos com forídeos (Borgmeier 1922; Feener 1987, Feener e Brown

1992 Pesquero *et al.* 1993; Wellner *et al.* 2002; Elizalde e Folgarait 2012). Em nossas observações em campo constatamos que a maioria das operárias de *C. brasiliensis* ao detectarem a presença dos parasitoides, assumem rapidamente a postura de “U” (Izzo descrito em Pace, 2008), antes e depois do ataque. Essa postura é semelhante ao que foi relatado por Wellner *et al.* (2002) para *Solenopsis* durante interação com *Pseudacteon*, sendo a principal diferença que a *C. brasiliensis* exibe uma postura bem mais fechada devido a sua maior flexibilidade com o gáster (Buren, 1959; Longino, 2003), tornando esse comportamento bastante característico e facilmente identificado em campo.

As posturas assumidas antes do ataque, como a postura de “U” são denominadas defensivas e podem ser realizadas enquanto as formigas se movimentam, e aparentemente dificultam o ataque dos forídeos (Feener e Brown, 1992), podendo ser considerado um comportamento eficaz, do ponto de vista biológico. Porém, posturas mais específicas como a de “O” por exemplo, foram exibidas principalmente após o ataque, o que diminui o efeito “defensivo” desse comportamento (Wellner *et al.* 2002), tornando-o uma resposta extrema ao ataque dos forídeos. Além disso, essa postura obriga as operárias a ficarem completamente imóveis o que pode causar um impacto ainda maior no forrageamento dessa espécie (Feener 1981; Porter 1998). Normalmente, as formigas que estavam próximas da formiga atacada, também apresentavam comportamentos semelhantes e possivelmente detectaram o forídeo voando próximo a elas. A resposta em nível de colônia ocorreu quando operárias (cerca de 5 a 15) se aproximavam de uma formiga atacada e que exibia alguma postura defensiva, e a tocavam com as mandíbulas e antenas, comportamento semelhante aos descritos por Feener e Moss (1990) e Tonhasca *et al.* (2001).

Razões imediatas explicando por que essas formigas assumem posturas após o ataque ainda não são claras (Wellner *et al.* 2002). E embora não tenha sido possível testar no presente estudo, outros trabalhos associam essas posturas a utilização do feromônio de alarme, liberado durante o ataque dos forídeos (Marlier *et al.* 2004). Ao tocar o corpo das formigas, o ovipositor pode causar lesões no exoesqueleto, induzindo o feromônio de alarme ou depositando um odor “desconhecido” para as outras operárias (Wellner *et al.* 2002). Isso pode explicar a aglomeração de operárias em volta das formigas atacadas e o comportamento de alerta através da elevação do gáster logo após o toque nas operárias feridas (Porter 1995a).

Elevar o gáster é um comportamento típico realizado pela maioria das espécies de *Crematogaster* quando são perturbadas (Buren, 1958; Longino 2003), e esse

comportamento foi visivelmente intensificado durante a presença dos forídeos (observação pessoal em campo) sendo realizados antes e durante a exibição completa das posturas corporais. Essas observações são consistentes com nossos resultados, onde as operárias de *C. brasiliensis* mantiveram a posição do gáster totalmente levantado (postura de “U”) com maior frequência na presença dos parasitoides do que na ausência deles. Além disso, quando os forídeos não estão presentes as operárias permaneceram com a posição do gáster normal (na horizontal) durante a maior parte das observações, reforçando ainda mais essa relação.

O comportamento de levantar o gáster pode estar associado a liberação de substâncias químicas tanto para comunicação entre as operárias do mesmo ninho (Dejean *et al.* 2010) como para defesa química contra inimigos (Marlier *et al.* 2004; Dejean *et al.* 2010). Embora as *C. brasiliensis* tenham usado uma secreção abdominal como parte de defesa contra os forídeos, as flexões do gáster sem emissão de veneno foram mais frequentes, diminuindo a sua função química na interação. Porém, a função biológica desse comportamento não é clara até o momento (Marlier *et al.* 2004), mas podemos interpretá-la neste estudo como um passo na sequência comportamental de defesa das *C. brasiliensis* que leva ao uso das posturas corporais utilizadas para a proteção contra os parasitoides. Pudemos observar em campo que as operárias podem mudar a sequência de posições corporais e do gáster durante a interação.

A associação de posturas defensivas com a presença e ausência de forídeos também foi testada por Elizalde e Folgarait (2012) ao descrever as respostas comportamentais das formigas cortadeiras *Atta* e *Acromyrmex* durante a interação com os forídeos do gênero *Apocephalus*, *Eibesfeldiphora* e *Myrmosicarius* em campo. Segundo os autores a presença dos forídeos podem aumentar em 5,2 vezes mais as chances das operárias realizarem posturas defensivas em comparação a sua ausência. A frequência dos atos comportamentais realizados pelas *C. brasiliensis* durante a interação com os forídeos *Pseudacteon* refletem as estratégias de defesa dessas formigas e ajudam a elucidar a especificidade desse comportamento em relação aos forídeos, como está sendo constatado neste estudo.

A sequência de aproximação e ataque ao hospedeiro de *Pseudacteon* sp1 e sp2 observados nesta pesquisa foram semelhantes aos descritos para outras espécies do gênero (Wasmann 1918; Borgmeier 1922, Smith 1928, Williams 1980 e Porter *et al.* 1995). No entanto, este é um dos poucos estudos a contabilizar o tempo gasto em cada ato comportamental desses parasitoides, relacionados ao hospedeiro. Saber como esses

organismos distribuem seu tempo ajuda a compreender as estratégias utilizadas durante a interação (Gazal *et al.* 2009; Bailez, 2016).

Ambas as espécies usaram a maior parte do tempo de interação sobrevoando e seguindo hospedeiros para ovipositar, esse comportamento é caracterizado como busca ativa e é classificado como tática para aumentar a eficácia do encontro e do ataque ao hospedeiro (Elizalde e Folgarait 2012; Bailez, 2016), o que requer desses parasitoides um maior investimento energético. O tempo gasto pousado foi maior para *Pseudacteon* sp1, que foi observado várias vezes parado próximo as operárias, porém sem atacar. Além disso, parte desses forídeos sumiram durante alguns minutos (saíram do campo de visão do observador) voltando logo em seguida para atacar outros grupos de formigas no mesmo local de interação. Esse comportamento pode estar relacionado a reserva de energia (descanso), após vários minutos atacando, ou pode estar sendo usado para outras atividades. Porém, pouco se sabe sobre o que as moscas adultas fazem ou onde gastam seu tempo quando não estão atacando as formigas (Porter *et al.* 1998). As fêmeas podem parar e beber água ou absorver substâncias açucaradas se entrarem em contato com eles (Jervis *et al.* 1993; Steppuhn e Wäckers 2004; Porter *et al.* 1997).

Embora as taxas de parasitoidismo sejam baixas (Orr *et al.* 1995; Porter *et al.* 1995; Morrison, 1999), os comportamentos observados em campo e os testes realizados indicam um forte efeito indireto dos forídeos *Pseudacteon* sobre as colônias de *C. brasiliensis* aqui avaliadas. O comportamento extremamente estereotipado apresentado pelas *C. brasiliensis* só podem ter evoluído se as moscas *Pseudacteon* estiverem exercendo impactos ao nível de população sobre a sobrevivência das colônias dessa espécie (Porter *et al.* 1995c). Estudos comportamentais em campo oferecem informações básicas acerca dessas interações, contribuindo para um melhor entendimento desse sistema, incluindo seus possíveis efeitos em nível de populacional (Gazal *et al.* 2009).

Mesmo não sendo contabilizado, nossas observações em campo indicam que o comportamento de forrageio em nível de colônia de *C. brasiliensis* é afetado na presença dos forídeos *Pseudacteon*, pois a simples presença desses parasitoides desencadeia nas formigas rápidas reações comportamentais, assim como relatado para outras espécies hospedeiras (Orr, 1992, Feener e Brown 1993; Bragança *et al.* 1998 e Tonhasca e Bragança 2000). Essa mudança de comportamento pode comprometer o uso de recurso pelo hospedeiro ao reduzir sua eficiência de forrageamento (Feener e Brown, 1992; Orr *et al.* 1995; Porter *et al.* 1995; Orr e Seike, 1998; Morrison, 1999). Dessa forma, o impacto que os forídeos exercem no comportamento das *C. brasiliensis* pode ser

desproporcionalmente maior do que efeito direto (morte do hospedeiro) resultante do parasitoidismo (Feener 1988; Morrison 1999; Feener 2000).

Essas afirmativas são coerentes com os resultados verificados em nosso experimento com as iscas onde observamos que o número de iscas monopolizadas por *C. brasiliensis* diminuiu com a presença dos forídeos *Pseudacteon*, porém, não o suficiente para alterar a abundância dessas formigas nas iscas que contrariamente à nossa hipótese foi similar entre iscas com e sem forídeo e entre borda e interior de floresta. Entretanto a abundância das outras espécies foi maior em iscas sem forídeo, mas não variou entre borda e interior da floresta. Isso pode ser explicado pela baixa abundância dos forídeos, quando comparados a outros estudos com formigas (Morrison *et al.* 1998), o que pode diminuir o efeito sobre abundância das operárias. Ou pelas características altamente dominantes dessas formigas, como a grande capacidade de defesa de seus territórios e colônias extremamente populosas (Leston, 1973; Richard e Dejean 2001; Dejean *et al.* 2007), garantindo seu estabelecimento nas áreas de forrageio.

A distribuição e a densidade dos ninhos de formigas hospedeiras também podem exercer influência sobre a dinâmica populacional de forídeos parasitoides através da disponibilidade de hospedeiros no ambiente (Morrison *et al.* 1999a, 2000; Morrison e Porter 2005). A maior parte dos forídeos *Pseudacteon* deste estudo foram coletados em áreas abertas, próximo a borda de florestas e plantações, locais com maior densidade de ninhos e formigas na área. Este resultado difere do encontrado por Almeida *et al.* (2008) onde verificaram que a abundância de forídeos parasitoides dos gêneros *Myrmosicarius* Borgmeier e *Neodohrniphora* é maior no interior de uma floresta atlântica do que na borda. Características como porcentagem de cobertura vegetal (Calcaterra *et al.* 2005) altas temperaturas e luminosidade (Kapos, 1989; Laurance, 2001) podem estar promovendo a abundância de forídeos na borda observadas neste estudo.

Outra característica que suporta essa diferença pode estar associada a fatores microambientais que favorecem a distribuição de *C. brasiliensis* nas bordas como o aumento da quantidade e qualidade de recursos através da proliferação de plantas pioneiras que servem como fonte de alimento e local de nidificação para essa formiga (Oliveira *et al.* 2004). Além disso, a magnitude deste efeito depende também da abundância de outras espécies na assembleia que consigam dominar recursos não recolhidos pelas *C. brasiliensis* na presença dos forídeo (Morrison *et al.* 1998).

As características que tornam essa espécie competitivamente dominante, também podem torná-la uma presa facilmente detectável (LeBrun e Feener 2007). Essas formigas

normalmente utilizam feromônios para coletar e defender recursos alimentares o que pode fornecer pistas olfativas confiáveis que podem ser utilizadas pelos parasitoides para a localização desses hospedeiros (Feener, Jacobs e Schmidt, 1996). Portanto, é possível que as *C. brasiliensis* experimentem um *trade-off* entre dominância e vulnerabilidade assim como previa a teoria do “balanço do terror”, porém esse efeito não chega a interferir na sua abundância nos recursos alimentares. No entanto, aparentemente interfere na abundância das outras espécies de formigas nos recursos, quando não há a presença de parasitoides. Desta forma, os forídeos *Pseudacteon* sp1 e sp2 podem interferir na dominância competitiva das espécies de formigas nessa comunidade local, servindo como um mecanismo compensatório facilitando a coexistência dessas espécies através da liberação de recursos para as espécies competitivamente subordinadas.

Em suma este trabalho contribui não só para o campo da ecologia comportamental, através da sua descrição detalhada dos comportamentos, como também pode contribuir indiretamente para uma melhor identificação das espécies, utilizando características de campo facilmente reconhecidas por não taxonomistas. Além disso, esse trabalho demonstra como um parasitoide pode alterar de forma indireta todo o processo de distribuição da biodiversidade por modificar processos de dominância em múltiplas escalas.

7. Referências

- Almeida, F.S, Queiroz, J. M. Efeito da estrutura de habitat sobre a abundância de parasitoides *Pseudacteon* Coquillett (Diptera, Phoridae) em ninhos de *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera, Formicidae). Revista Brasileira de Entomologia, v. 53, p. 461-465, 2009.
- Almeida, W. R, Wirth. R, Leal, I. R. Edge-mediated reduction of phorid parasitism on leaf-cutting ants in a Brazilian Atlantic forest. Entomologia Experimentalis et Applicata, v. 129, n. 3, p. 251-257, 2008.
- Bailez, O. E. (2016) Estratégias e táticas na interação forídeo-formiga. Oecologia Australis, 3: 1-10
- Bragança, M. A. L.; A. Tonhasca Jr. & T. M. C Della Lucia. 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
- Borgmeier, T. 1922 (1921). Zur Lebensweise von *Pseudacteon borgmeieri* Schmitz (in litt.) (Diptera: Phoridae). Zs. Deut. Ver. Wiss. Kunst Sao Paulo 1: 239-248.

- Buren, W. F., 1959. A review of the species of *Crematogaster*, sensu stricto, in North America (Hymenoptera: Formicidae). Part I. Journal of the New York Entomological Society, 66: 119-134.
- Calcaterra L.A, Porter S.D & Briano J.A (2005) Distribution and abundance of fire ant decapitating flies (Diptera: Phoridae: *Pseudacteon*) in three regions of southern South America. Annals of the Entomological Society of America 98: 85–95.
- Dejean, A., Corbara, B., Orivel, J., & Leponce, M. 2007. Rainforest canopy ants: the implications of territoriality and predatory behavior. *Funct Ecosyst Commun*, 1, 105-120.
- Feener, D.H., Jr & B.V. Brown. 1992. Reduced foraging of *Solenopsis geminata* (Hymenoptera: Formicidae) in the presence of parasitic *Pseudacteon* spp. (Diptera: Phoridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 85: 80-84.
- Feener, D. H. Jr. & B. V. Brown. 1993. Oviposition behavior of an antparasitizing fly, *Neodohniphora curvinervis* (Diptera: Phoridae), and defense behavior by its leaf-cutting ant host *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior* 6: 675– 688.
- Folgarait PJ, Patrock RJW & Gilbert LE (2007a) The influence of ambient conditions and space on the phenological patterns of a *Solenopsis* phorid guild in an arid environment. *Biological Control* 42: 262–273.
- Folgarait PJ, Patrock RJW & Gilbert LE (2007b) Associations of fire ant phorids and microhabitats. *Environmental Entomology* 36: 731–742
- Gazal, V., Bailez, O., & Viana-Bailez, A. M. 2009. Mechanism of host recognition in *Neodohniphora elongata* (Brown) (Diptera: Phoridae). *Animal Behaviour*, 78(05), 1177–1182. DOI: 10.1016/j.anbehav.2009.07.036
- Kapos V (1989) Effects of isolation on the water status of forest patches in the Brazilian Amazon. *Journal of Tropical Ecology* 5: 173–185.
- Jervis, M. A.; N. A. Kidd; M. G. Fitton; T. Huddleston & H. A. Dawah. 1993. Flower-visiting by hymenopteran parasitoids. *Journal of Natural History* 27: 67-105.
- Laurance WF (2001) Fragmentation and plant communities: synthesis and implications for landscape management. *Lessons from Amazonia: the Ecology and Conservation of a Fragmented Forest* (ed. by R.O Bierregaard, Jr, C Gascon, T.E Lovejoy & R.C.G Mesquita), pp. 158–168. Yale University Press, New Haven, CT, USA.
- Lebrun, E.G. & Feener, D.H. (2007). When trade-offs interact: Balance of terror enforces dominance discovery trade-off in a local ant assemblage. *J. Anim. Ecol.*, 76:58-64. doi: 10.1111/j.1365-2656.2006.01173. x.

- Leston, D. The ant mosaic, tropical tree crops and the limiting of pests and diseases. Pest Articles and News Summaries, v.19, p.311-341, 1973.
- Longino, J. T., 2003. The *Crematogaster* (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae) of Costa Rica. Zootaxa, 151: 1-150.
- Marlier, J.F., Quinet e J.C. Biseau. 2004. Defensive behaviour and biological activities of the abdominal secretion in the ant *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera: Myrmicinae). Behav. Process. 67: 427-440.
- Morrison, L.W., Kawazoe, E.A., Guerra, R., Gilbert, L.E. (1999a) Phenology and dispersal in *Pseudacteon* flies (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae) Ann. Entomol. Soc. Am.92:198-207.
- Morrison, L.W., Porter, S.D., Gilbert, L.E. (1999b) Sex ratio variation as a function of host size in *Pseudacteon* flies (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae) Biol. J. Linn. Soc.66:257-267.
- Morrison LW, Kawazoe EA, Guerra R & Gilbert LE (2000) Ecological interactions of *Pseudacteon* parasitoids and *Solenopsis* ants hosts: environmental correlates of activity and effects on competitive hierarchies. Ecological Entomology 25: 433–444.
- Morrison, L. W. & S. D. Porter. (2005). Phenology and parasitism rates in introduced populations of *Pseudacteon tricuspis*, a parasitoid of *Solenopsis invicta*. Biological Control 50: 127–141.
- Oliveira M.A, Grillo A.S & Tabarelli M (2004) Forest edge in the Brazilian Atlantic forest: drastic changes in tree species assemblages. Oryx 38: 1–6.
- Orr, M. R.; S. H. Seike; W. W. Benson & L. E. Gilbert. (1995). Flies suppress fire ants. Nature 373: 292–293.
- Steppuhn A, Wäckers FL 2004. HPLC sugar analysis reveals the nutritional state and the feeding history of parasitoids. Functional Ecology 18: 812-819.
- Tonhasca, A. Jr. & M. A. L. Bragança. 2000. Effect of leaf toughness on the susceptibility of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* to attacks of a phorid parasitoid. Insectes Sociaux 47: 220–222.
- Wuellner, C.T.; Dall’Aglio-Holvercem, C.G.; Benson, W.W.; Gilbert, L.E (2002) Phorid fly (Diptera: Phoridae) oviposition behavior and fire ant (Hymenoptera: Formicidae) reaction to attack differ according to phorid species. Annals of the Entomological Society of America, v. 95, p. 257–266.
- Wuellner C.T & Saundres J.B (2003) Circadian and circannual patterns of activity and territory shifts: comparing a native ant (*Solenopsis geminata*, Hymenoptera: Formicidae) with its exotic, invasive congener (*S. invicta*) and its parasitoids

(*Pseudacteon* spp., Diptera: Phoridae) at a Central Texas site. Annals of the Entomological Society of America 96: 54–60.

8. Apêndice

Descrição detalhada do comportamento de aproximação ao hospedeiro dos forídeos *Pseudacteon* sp1 e sp2 e resposta comportamental de *Crematogaster brasiliensis* ao ataque dos parasitoides.

(Observações descritas a partir da interação com *C. brasiliensis* realizadas na Fazenda Experimental da UFAM – FAEXP, Manaus/Amazonas), os forídeos *Pseudacteon* sp1 e sp2 apresentam comportamentos muito semelhantes de aproximação ao hospedeiro, ambos se aproximam das formigas pela frente ou pelos lados voando a alguns milímetros do seu corpo, muitas tentativas de aproximação foram feitas até que ocorresse o primeiro ataque (toque no corpo da formiga) em muitos casos os forídeos seguem as formigas individualmente e logo em seguida a atacam. Em grande parte das observações, grupos de operárias permaneciam imóveis durante seu processo de alimentação e nestes casos os forídeos passavam a maior parte do tempo sobrevoando esses grupos de operárias.

Pseudacteon sp1 foi observado várias vezes pousado (com a cabeça voltada para as operárias) próximo a entrada de ninhos satélites e sob as folhas em que as formigas

estavam se alimentando ou forrageando e ocasionalmente voavam e pousavam entre um lugar e outro. No entanto, não observamos nenhum *Pseudacteon* sp1 pousado próximo o suficiente de algum grupo de operárias, e em algumas situações os forídeos fugiam (voavam rapidamente em sentido contrário ao da formiga) quando alguma operária isolada tentava se aproximar. Apesar desse comportamento um forídeo foi capturado próximo a entrada do ninho satélite e levando para dentro da colônia. Ao atacar, o forídeo pousa rapidamente no corpo da formiga tentando tocar (ovipositar) na parte posterior de sua cabeça, o lugar exato da oviposição não pôde ser determinado devido a rapidez em que as interações ocorreram.

***Pseudacteon* sp2** – O comportamento dessa espécie foi observado em poucas ocasiões, devido a sua baixa abundância. Em grande parte do tempo de observação esses forídeos foram vistos seguindo as operárias por trás, por cima e pelos lados de forma rápida e agressiva, o tempo gasto entre seguir e atacar foi bem menor em comparação ao *Pseudacteon* sp1. Além de seguir as operárias, esses forídeos foram capazes de “selecionar” uma formiga no ar de onde voavam diretamente em seu corpo, em alguns casos as operárias chegaram a ser derrubadas da planta onde estavam forrageando. Essa espécie foi observada atacando as operárias tanto em nectários extraflorais como em ninhos satélites.

Descrição detalhada dos comportamentos de resposta de *C. brasiliensis* aos parasitoides *Pseudacteon* sp1 e sp2.

Aparentemente *C. brasiliensis* é capaz de detectar a presença dos forídeos *Pseudacteon* enquanto eles voam, antes mesmo de serem atacadas. A maioria das operárias ao detectarem a presença dos forídeos exibiram a postura de “U” ou levantaram o gáster levemente e após o primeiro ataque adotaram a postura de “U”, e parte dessas operárias ficaram imóveis e exibiam a postura de “O” enrolando-se em uma pequena bola. Apesar de terem seguido o mesmo padrão de comportamento para as duas espécies de *Pseudacteon*, as operárias foram mais intensas em seus comportamentos quando estavam na presença do *Pseudacteon* sp2, onde ficavam visivelmente atordoadas, e corriam sem direção.

Ao serem atacadas enquanto forrageavam ou construíam ninhos satélites muitas operárias tentaram atacar os forídeos direcionando o gáster em sua direção, na maioria das vezes liberando secreção abdominal ou tentando capturá-los com as suas mandíbulas, após a primeira tentativa de oviposição. E outra parte das formigas fugiam durante a chegada

dos forídeos. Apenas algumas operárias não demonstraram nenhuma reação antes ou depois do ataque dos forídeos.

As operárias de *C. brasiliensis* fugiam com mais frequência quando estavam forrageando ou durante a reparação dos ninhos satélites, as formigas que eram seguidas ou atacadas quando estavam se alimentando de néctar geralmente permaneciam imóveis na posição de “U” durante as tentativas de oviposição.

Algumas formigas quando foram atacadas davam alguns passos e flexionavam o gáster para frente e para trás rapidamente, e em alguns casos liberavam secreção abdominal. Na maior parte das observações as operárias atacadas ficaram imóveis e enrolavam-se na postura de “O”, e em seguida de 5 a 15 operárias aproximaram-se da formiga atacada e a tocavam com suas antenas, o tempo desse comportamento variava e poderia durar vários minutos. Em volta da formiga atacada muitas operárias adotaram a postura de “U” logo após tocá-las, e parte dessas formigas exibiram o comportamento de ataque, levantando o gáster levemente liberando secreção abdominal. E a maioria das formigas atacadas voltaram a caminhar depois da tentativa de oviposição.