

Parasitismo por *Neodohrniphora* spp. Malloch (Diptera, Phoridae) em operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae)

Marcos Antonio Lima Bragança¹, Lucas Machado de Souza², Carlos André Nogueira¹
& Terezinha Maria Castro Della Lucia²

¹Curso de Ciências Biológicas, Campus de Porto Nacional, Universidade Federal do Tocantins, 77500-000 Porto Nacional-TO. marcosbr@uft.edu.br; ca.nogueira@yahoo.com.br

²Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa-MG. lucasmachadodesouza@gmail.com; tdlucia@ufv.br

ABSTRACT. Parasitism by *Neodohrniphora* spp. Malloch (Diptera, Phoridae) on workers of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae). Parasitoids of the genus *Neodohrniphora* Malloch, 1914 generally attack workers of *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 in low ratios. However these attacks alter the foraging rhythm and reduces the number and size of workers as well as increases the number of abandoned plant fragments along the trails. *A. sexdens rubropilosa* can have a diurnal or nocturnal foraging activity, but it is uncertain if *Neodohrniphora* spp. attacks workers of this host during the night. The objective of this work was to verify the occurrence of *Neodohrniphora* phorids attacks and the level of parasitism on workers of *A. sexdens rubropilosa* under three light levels in laboratory, including the darkness. The levels of illumination were: high-light (0.65 $\mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$); low-light (0.05 $\mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$) and darkness (0.0 $\mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$). Field collected parasitoid females (*Neodohrniphora tonhascai* Brown, 2001 and *Neodohrniphora elongata* Brown, 2001) released in laboratory have attacked and parasitized *A. sexdens rubropilosa* workers only under high-light level. This suggests that these two *Neodohrniphora* species are not active in the field during the night (darkness) and that visual stimulus could be an essential component to the location and recognition of the host.

KEYWORDS. leaf-cutting ant; parasitoid; phorid.

RESUMO. Parasitismo por *Neodohrniphora* spp. Malloch (Diptera, Phoridae) em operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae). Parasitóides do gênero *Neodohrniphora* Malloch, 1914 geralmente atacam operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 em baixa frequência, mas os ataques alteram o ritmo de forrageamento das colônias, reduzindo o número e tamanho das operárias e aumentando o abandono de fragmentos vegetais ao longo das trilhas. O forrageamento de *A. sexdens rubropilosa* pode ser diurno ou noturno, mas existem dúvidas se *Neodohrniphora* spp. atacam as operárias dessa formiga também durante a noite. Os objetivos deste estudo foram verificar a ocorrência de ataques e avaliar o grau de parasitismo de forídeos do gênero *Neodohrniphora* em operárias de *A. sexdens rubropilosa* sob três níveis de luminosidade em laboratório, incluindo a ausência de luz. Os níveis de luminosidade foram: alta (0,65 $\mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$); baixa (0,05 $\mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$) e ausência de luz (0,0 $\mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$). Fêmeas de *Neodohrniphora tonhascai* Brown, 2001 e *Neodohrniphora elongata* Brown, 2001 coletadas no campo e liberadas em laboratório somente efetuaram ataques e foram obtidas operárias parasitadas sob alta luminosidade, sugerindo que essas espécies não são ativas no campo durante o período noturno (ausência de luz). Os resultados sugerem também que o estímulo visual em *Neodohrniphora* spp. pode ser um componente essencial para a localização e reconhecimento do hospedeiro.

PALAVRAS-CHAVE. forídeo; parasitóide; saúva.

Algumas espécies de forídeos do gênero *Neodohrniphora* Malloch, 1914 ovopositam na cabeça das operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 durante o forrageamento (Tonhasca 1996, Bragança *et al.* 1998, Brown 2001). A frequência do parasitoidismo desta saúva por espécies de *Neodohrniphora* spp. é normalmente baixa (cerca de 2%) (Bragança *et al.* 1998). Todavia, os ataques destas moscas, em campo e laboratório, alteram o ritmo de forrageamento das operárias, reduzindo o número e tamanho dos indivíduos presentes nas trilhas e aumentando o abandono de fragmentos vegetais (Tonhasca 1996, Bragança *et al.* 1998).

Nesses estudos, os ataques dos forídeos foram observados sob luz artificial em laboratório e durante o período diurno em

campo, enquanto era possível para o observador enxergar parasitóides e hospedeiros com a luminosidade natural. Forídeos *Neodohrniphora* spp. não foram vistos no campo no período noturno com a utilização de luz artificial (M. Bragança, observação pessoal). Porém, não é possível afirmar que ataques noturnos não ocorram porque existe a possibilidade de que os forídeos não tenham sido visualizados, tanto pelo tamanho pequeno e a agilidade no vôo quanto pelo fluxo de formigas nas trilhas, que é maior durante a noite em relação ao dia (Tonhasca & Bragança 2000). Além disso, a luz artificial utilizada em campo pode ter afugentado os forídeos.

Observações em campo demonstraram que os forídeos

Pseudacteon litoralis Borgmeier, 1925 e *Pseudacteon tricuspis* Borgmeier, 1925 parasitóides de formigas *Solenopsis saevissima* (Smith, 1855), não são ativos durante a noite e que as diferenças na intensidade de luz do dia parece regular a atividade distinta destes parasitóides durante este período (Pesquero *et al.* 1996). Orr (1992) demonstrou por meio de experimentos em campo que o forídeo *Neodohniphora curvinervis* (Malloch, 1914), um parasitóide de *Atta cephalotes* (Linnaeus, 1758), é ativo somente durante o dia, mas persiste ao longo das trilhas de seu hospedeiro durante a noite sob iluminação artificial. Por outro lado, fêmeas de *Apocephalus attophilus* Borgmeier, 1928, que ovipositam na boca das operárias de *A. sexdens rubropilosa* no momento do corte dos vegetais (Erthal & Tonhasca 2000), frequentemente, atacam em campo também durante o período noturno (M. Bragança, observação pessoal).

Como o forrageamento de *A. sexdens rubropilosa* pode ocorrer durante o dia e à noite (Tonhasca & Bragança 2000), torna-se importante esclarecer se forídeos *Neodohniphora* spp. atacam as operárias desta saúva também durante o período noturno. Caso isto se confirme, os impactos destes parasitóides sobre o forrageamento de *A. sexdens rubropilosa* poderiam ser mais relevantes que aqueles já registrados sob alta luminosidade nos experimentos em campo e laboratório (Tonhasca 1996, Bragança *et al.* 1998). Assim, os objetivos deste estudo foram verificar a ocorrência de ataques e avaliar o grau de parasitismo de forídeos do gênero *Neodohniphora* em operárias de *A. sexdens rubropilosa* sob três níveis de luminosidade em laboratório, incluindo a ausência de luz.

Este estudo foi conduzido de janeiro a março de 2005, no Insetário do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (20°45' S, 42°51' W), Viçosa, MG. Temperatura e umidade no laboratório foram mantidas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $70 \pm 5\%$ UR, respectivamente. Foram utilizados três níveis de luminosidade: alta (AL = $0,65 \mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$); baixa (BL = $0,05 \mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$) e ausência de luz (AuL = $0,0 \mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$). O nível AL foi obtido com a utilização de uma lâmpada incandescente de 60W. Neste nível de luminosidade em laboratório, operárias de *A. sexdens rubropilosa* são parasitadas por *Neodohniphora* spp. (Bragança *et al.* 1998) e, portanto, serve para simular os padrões de atividade dos forídeos no campo. O nível BL foi conseguido pelo desligamento da lâmpada de 60W e com a porta do laboratório aberta, de forma que a iluminação fosse proveniente da sala ao lado, que era iluminada por uma lâmpada de 60W. Este nível foi utilizado por considerarmos que simula instantes das condições naturais de luminosidade que ocorrem durante o amanhecer e entardecer. No nível AuL, o laboratório permaneceu no escuro, completamente vedado, para simular as noites no campo. As medições de luminosidade foram registradas por meio de um fotômetro.

Foram realizados quatro bioensaios, sendo que cada um consistiu da liberação em uma cuba de observação (conforme Bragança *et al.* 1998) de uma fêmea de *Neodohniphora* e 30 operárias de *A. sexdens rubropilosa* de uma colônia de

laboratório de aproximadamente 3,5 anos de idade, que permaneceram juntas por 20 minutos sob um dos três níveis de luminosidade. Em seguida, o parasitóide e as formigas foram removidos da cuba e, sob outro nível de luminosidade, a mosca foi recolocada na cuba junto com outro grupo de 30 formigas por mais 20 minutos. Os quatro bioensaios foram: AL-BL, com seis repetições; AL-AuL, AuL-AL e BL-AL, cada um com quatro repetições. No total, foram utilizadas 1.080 formigas, coletadas aleatoriamente entre as operárias máximas de duas colônias de laboratório de idades e tamanhos semelhantes, e 18 de 24 fêmeas de *Neodohniphora* spp. coletadas no campus universitário. As operárias máximas de saúvas são atacadas preferencialmente pelas fêmeas de *Neodohniphora* spp. (Bragança *et al.* 1998, 2002). As moscas utilizadas nos bioensaios AL-BL e AL-AuL foram as que iniciaram ataques quase imediatamente após liberação na cuba. Como não era possível enxergar formigas e forídeos dentro da cuba nos bioensaios que iniciavam em AuL ou BL pela falta de iluminação, os forídeos eram testados primeiramente em AL por cerca de 30 segundos para verificar o seu potencial de ataque. Quando isto se confirmava, a mosca estava apta a continuar o experimento, eliminando-se, assim, a possibilidade da falta de ataque por inviabilidade do forídeo. Esta avaliação da capacidade de ataque de forídeos *Neodohniphora* spp. procede porque, frequentemente, moscas que iniciaram ataques até 30 segundos depois de liberados nesta cuba permaneceram atacando as formigas por mais de 20 minutos (Bragança *et al.* 1998, 2002). Foi registrado o número de ataques dos forídeos somente no nível AL, quando era possível enxergar formigas e moscas dentro da cuba.

Após serem removidas da cuba, as formigas foram distribuídas em grupos de cinco indivíduos em placas de Petri e colocadas em câmara climatizada (B.O.D.), com temperatura e umidade controladas a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ e $75 \pm 5\%$ UR, respectivamente. Elas foram alimentadas diariamente com solução de mel 10% até sua morte, quando os indivíduos parasitados, ou seja, com a presença de uma pupa do parasitóide entre as mandíbulas (Tonhasca 1996), eram identificados e individualizados em tubos de vidro. Estes eram mantidos na câmara até a emergência das moscas. Fêmeas de *Neodohniphora* que emergiram no laboratório e das coletadas no campo foram identificadas por Brian V. Brown (Natural History Museum of Los Angeles County - LACM) como pertencentes a duas espécies: *Neodohniphora tonhascai* Brown, 2001 e *Neodohniphora elongata* Brown, 2001. Exemplos das duas espécies foram depositados nas coleções entomológicas do LACM e do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Porto Nacional.

Foi registrado um total de 220 ataques sob o nível AL, sendo $12,2 \pm 6,3$ ataques por fêmea ($n = 18$), realizados tanto nos 20 minutos iniciais quanto nos 20 minutos finais (Tabela I). Somente formigas do nível AL apresentaram sinais de parasitismo, em média $9,6 \pm 0,8$ ($n = 55$) dias após o ataque. Noventa e três formigas estavam parasitadas (Tabela I), sendo

Tabela I. Número de ataques e de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* parasitadas por fêmeas de *Neodohrniphora tonhascai* e *Neodohrniphora elongata* liberadas para observação por 40 minutos, com alternância de luminosidade (alta, AL; baixa, BL; ausência de luz, AuL) entre os 20 minutos iniciais e finais.

Forídeo	20 minutos iniciais			20 minutos finais		
	Nível lumino- sidade	Nº. ata- ques	Nº. operárias parasitadas	Nível lumino- sidade	Nº. ata- ques	Nº. operárias parasitadas
<i>N. elongata</i>	AL	6	1	AuL	-	0
<i>N. tonhascai</i>	AL	8	2	AuL	-	0
<i>N. elongata</i>	AL	15	5	AuL	-	0
<i>N. tonhascai</i>	AL	18	11	AuL	-	0
<i>N. tonhascai</i>	AL	2	0	BL	-	0
<i>N. tonhascai</i>	AL	4	1	BL	-	0
<i>N. elongata</i>	AL	5	3	BL	-	0
<i>N. elongata</i>	AL	13	6	BL	-	0
<i>N. elongata</i>	AL	15	6	BL	-	0
<i>N. tonhascai</i>	AL	23	12	BL	-	0
<i>N. tonhascai</i>	AuL	-	0	AL	11	4
<i>N. elongata</i>	AuL	-	0	AL	8	3
<i>N. tonhascai</i>	AuL	-	0	AL	19	6
<i>N. elongata</i>	AuL	-	0	AL	6	2
<i>N. elongata</i>	BL	-	0	AL	22	10
<i>N. elongata</i>	BL	-	0	AL	13	5
<i>N. tonhascai</i>	BL	-	0	AL	15	8
<i>N. elongata</i>	BL	-	0	AL	17	8

Total de ataques: 220 (120 por *N. elongata* e 100 por *N. tonhascai*)
Total de operárias parasitadas: 93 (49 por *N. elongata* e 44 por *N. tonhascai*)

que emergiram 11 indivíduos de *N. tonhascai* e sete de *N. elongata* após $23,8 \pm 1,0$ dias do surgimento da pupa. Sifões respiratórios não foram observados em cerca de 60% das pupas malogradas, o que certamente foi a principal causa da morte dos parasitóides antes da emergência. Nas formigas dos níveis BL e AuL não foram observadas pupas do parasitóide entre as mandíbulas, o que permite concluir que as fêmeas das duas espécies de *Neodohrniphora* atacam somente no nível AL ($0,65 \mu\text{mol}/\text{m}^3/\text{s}$).

Diferentemente das fêmeas de *A. attophilus*, que podem realizar ataques noturnos às operárias de *A. sexdens rubropilosa* (M. Bragança, observação pessoal), e similarmente às fêmeas de *Pseudacteon* spp. e *N. curvinervis*, que não podem realizar ataques aos seus hospedeiros durante a noite (Orr 1992, Pesquero *et al.* 1996), as fêmeas das duas espécies do gênero *Neodohrniphora* (*N. tonhascai* e *N. elongata*) não efetuaram ataques às operárias de *A. sexdens rubropilosa* na ausência de luz ou quando a luminosidade é muito baixa. A ocorrência de ataques somente sob o nível AL sugere que esses parasitóides são ativos no campo somente durante o dia, excetuando-se instantes do amanhecer e do entardecer

no campo. Este resultado está de acordo com dados da literatura que mostram que forídeos do gênero *Neodohrniphora* são coletados, dependendo da região geográfica e estação do ano, entre 6:00 h e 18:00 h (Tonhasca 1996, Bragança *et al.* 1998, Silva *et al.* 2007), quando formigas e moscas podem ser vistas. Isto esclarece as dúvidas preliminares que existiam sobre o fato da ocorrência ou não do comportamento de ataque de fêmeas de *Neodohrniphora* spp. em condições naturais durante a noite. Apesar deste estudo não permitir determinar o nível de luminosidade mínimo requerido pelos parasitóides para efetuar os ataques, ele sugere que o estímulo visual em *Neodohrniphora* spp. é um componente essencial para as respostas comportamentais de localização e reconhecimento do hospedeiro.

Agradecimentos. A Brian V. Brown pela identificação dos forídeos. À Manoel Ferreira pela ajuda nos trabalhos de laboratório. A dois revisores anônimos pelas sugestões ao manuscrito. Ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- 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 *Neodohrniphora* sp. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **89**: 305–311.
- Bragança, M. A. L.; A. Tonhasca Jr. & D. D. O. Moreira. 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.
- Brown, B. V. 2001. Taxonomic revision of *Neodohrniphora*, subgenus *Eibesfeldtphora* (Diptera: Phoridae). **Insect Systematics & Evolution** **32**: 393–409.
- Erthal, M. Jr. & A. Tonhasca Jr. 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.
- 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.
- Pesquero, M. A.; S. Campiolo; H. G. Fowler & S. D. Porter. 1996. Diurnal patterns of ovipositional activity in two *Pseudacteon* fly parasitoids (Diptera: Phoridae) of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). **The Florida Entomologist** **79**: 455–457.
- Silva, V. S. G.; O. Bailez; A. M. Viana-Bailez & A. Tonhasca Jr. 2007. Effect of the size of workers of *Atta sexdens rubropilosa* on the attack behavior of *Neodohrniphora* spp. (Diptera: Phoridae). **Sociobiology** **50**: 35–44.
- 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, A. Jr. & M. A. L. Bragança. 2000. Forager size of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* (Hymenoptera: Formicidae) in a mature eucalyptus forest in Brazil. **Revista de Biologia Tropical** **48**: 983–988.