

ANTONIO CARLOS BRAGATO BERGAMASCHI

**ESTUDO COMPORTAMENTAL E ASSOCIAÇÃO SEXUAL DE
MUTILLIDAE (HYMENOPTERA, ACULEATA) INCLUINDO
ASPECTOS BIOLÓGICOS DO HOSPEDEIRO *Dialictus
seabrai* (Moure, 1956) (HYMENOPTERA, APIDAE)**

**Dissertação apresentada à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas, Área de Concentração em
Entomologia, Setor de Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Paraná, como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas.**

CURITIBA

2009

ANTONIO CARLOS BRAGATO BERGAMASCHI

**ESTUDO COMPORTAMENTAL E ASSOCIAÇÃO SEXUAL DE
MUTILLIDAE (HYMENOPTERA, ACULEATA) INCLUINDO
ASPECTOS BIOLÓGICOS DO HOSPEDEIRO *Dialictus
seabrai* (Moure, 1956) (HYMENOPTERA, APIDAE)**

**Dissertação apresentada à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas, Área de Concentração em
Entomologia, Setor de Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Paraná, como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas.**

Orientador: Prof. Dr. Gabriel A. R. Melo

CURITIBA

2009

ANTONIO CARLOS BRAGATO BERGAMASCHI

“ESTUDO COMPORTAMENTAL E ASSOCIAÇÃO SEXUAL DE
MUTILLIDAE (HYMENOPTERA, ACULEATA) INCLUINDO ASPECTOS
BIOLÓGICOS DO HOSPEDEIRO *Dialictus seabrai* (Moure, 1956)
(HYMENOPTERA, APIDAE)”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Mestre em Ciências Biológicas”, no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela comissão formada pelos professores:

Prof. Dr. Gabriel Augusto Rodrigues de Melo (Orientador)
(UFPR)

Profa. Dra. Maria Luisa Tunes Buschini
(UNICENTRO/PR)

Prof. Dr. Eduardo Andrade Botelho de Almeida
(UFPR)

Curitiba, 20 de fevereiro de 2009

“Que nossos esforços desafiem as impossibilidades. Lembrai-vos que as grandes proezas da história foram conquistadas do que parecia impossível” **Charles Chaplin.**

Aos meus pais, por todo amor e carinho dispensado.

Dedico.

Agradecimentos

A Deus, por mais uma grande conquista na vida.

Ao Prof. Dr. Gabriel pela oportunidade de trabalho, orientação e valiosos conselhos prestados durante esses dois anos de trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia da UFPR, pela infra-estrutura e oportunidade de trabalho e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

À Prof. Dra. Maria Luisa Tunes Buschini por ter aceitado o convite para participar como membro da banca e pela ajuda e grandes conselhos prestados desde a época da graduação, os quais contribuíram muito para meu crescimento pessoal e profissional.

À Prof. Dra. Mirna Martins Casagrande e ao Prof. Dr. Olaf Mielke pelo agradável convívio e preciosos ensinamentos prestados durante a disciplina de Entomologia I e pela oportunidade concedida na disciplina de prática à docência, que constituiu uma experiência muito importante como referência para minha vida profissional.

Ao Dr. Eduardo Andrade Botelho de Almeida por gentilmente aceitar a participação nesta banca de mestrado.

A todos os taxonomistas, que foram essenciais para a realização deste trabalho, pelo auxílio na identificação do material: Alice Fumi Kumagai (UFMG) (Ichneumonidae), Angelo Pires do Prado (UNICAMP) (Phoridae), Antonio Domingos Brescovit (Instituto Butantan) (Aranae), Crisleide Maria Lazzarotto (UFPR) (Aphididae); Osmar dos Santos Ribas (Museu Botânico Municipal, Curitiba, PR) (material botânico) e Roberto A. Cambra (Universidade do Panamá) (Mutillidae).

Aos colegas de turma e grandes incentivadores, que ao fim de dois anos de convivência tenho como grandes amigos: Alexandre, Cecília, Danilo, Fernando, Elaine, Gabrielzinho e Neto.

Às pessoas que durante o desenvolvimento deste trabalho passaram a fazer parte da minha vida e proporcionaram momentos agradáveis de convivência dentro ou fora da universidade: Anderson, André, Carol, Juliano, Lisiane, Luciano, Mila, Marina, Matheus e Pati.

Ao meu grande amigo Thiago, pela ajuda e companheirismo nas horas mais difíceis em Curitiba e auxílio nas observações no campo.

Aos grandes amigos de longe, mas que sempre estiveram perto com palavras de incentivo e amizade: Aline, Camila, Dani, Diana, Elina, Fernando, Fofy, Kely, Japa, Jú, Lilian, Neide, Ricardo, Ronaldo e Vanessa.

A todos os meus familiares que sempre apoiaram, acreditaram nos meus sonhos e suportaram minha ausência na vida familiar, em especial meus pais, Antonio e Nilda; minhas tias Cida, Carolina, Lucia, Regina e Nair; os primos Antonio, Regiane, Gustavo e Nathália e os afilhados Pedro e Gabriel, que tanto amo.

Ao Instituto Ambiental do Paraná, pela concessão da licença para a realização desta pesquisa e à Sanepar pela autorização para trabalhar na área dos Mananciais da Serra e o apoio durante o desenvolvimento do trabalho.

SUMÁRIO**Página**

LISTA DE FIGURAS.....	ix
TABELA.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivo Geral.....	5
2.2. Objetivos Específicos.....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	6
3.1. Área de estudo.....	6
3.2. Delineamento amostral.....	9
3.3. Análise comportamental.....	9
3.4. Testes de associação sexual.....	10
4. RESULTADOS.....	13
4.1. Estudo comportamental e associação sexual de Mutillidae.....	13
4.1.1. <i>Lophomutilla corupa</i>	14
4.1.2. <i>Pseudomethoca pumila</i>	20
4.1.3. <i>Lynchiatilla</i> sp. n.....	22
4.2. Aspectos biológicos do hospedeiro <i>Dialictus seabrai</i>	24
5. DISCUSSÃO.....	35
5.1. Estudo comportamental e associação sexual de Mutillidae.....	35
5.1.1. <i>Lophomutilla corupa</i>	37
5.1.2. <i>Pseudomethoca pumila</i>	40
5.1.3. <i>Lynchiatilla</i> sp. n.....	42
5.2. Aspectos biológicos do hospedeiro <i>Dialictus seabrai</i>	42
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa de localização da APA Mananciais da Serra, em Piraquara/PR (1:350.000).....p.6
- Figura 2.** Área de nidificação com a agregação de *Dialictus seabrai*, localizada as margens da estrada vicinal que corta a reserva.....p.8
- Figura 3.** Parte inicial da estrada vicinal que atravessa a reserva dos Mananciais da Serra.....p.8
- Figura 4.** **A** – Marcação de um ninho de *Dialictus seabrai* com alfinete de cabeça colorida; **B** – Marcação de um espécime de *Dialictus seabrai* com tinta atóxica e o auxílio de um saco plástico transparente; **C** – Bloqueio da entrada do ninho de *Dialictus seabrai* para verificar quanto tempo fêmeas de Mutillidae permaneceram no ninho hospedeiro.....p.10
- Figura 5.** **A** – Recipiente onde as fêmeas de Mutillidae foram alimentadas com mel diluído em algodão; **B** – BOD onde os mutilídeos foram criados; **C** – Arena onde foram realizados os testes experimentais de associação sexual dos mutilídeos.....p.11
- Figura 6.** Representatividade das espécies de Mutillidae coletadas na área de estudo entre dezembro de 2007 e novembro de 2008.....p.14
- Figura 7.** *Lophomutilla corupa* **A** – Fêmea, vista dorsal; **B** – Fêmea, vista lateral; **C** – Macho, vista lateral.....p.14
- Figura 8.** **A** – *Lophomutilla corupa* durante uma tentativa de invasão, presa por uma fêmea guarda de *Dialictus seabrai* na entrada do ninho; **B** – *Lophomutilla corupa* removendo terra no fim da tarde para se abrigar.....p.17
- Figura 9.** Plantas em que *Lophomutilla corupa* foi vista forrageando. **A** – *Baccharis trimera*; **B** – *Dicranopteris nervosa*; **C** – *Miconia lymanii*.....p.17

- Figura 10.** *Uroleucon ambrosiae* e a planta hospedeira *Baccharis schultzei*.....p.18
- Figura 11.** Macho de *Lophomutilla corupa* preso na teia de *Mesabolivar* sp.p.18
- Figura 12.** Macho posicionado sobre o corpo da fêmea de *Lophomutilla corupa* durante a cópula.....p.20
- Figura 13.** *P. pumila* **A** – Fêmea, vista dorsal; **B** – Fêmea, vista lateral; **C** – Macho, vista lateral.....p.20
- Figura 14.** Macho e fêmea de *Pseudomethoca pumila* em cópula.....p.22
- Figura 15.** *Lynchiatilla* sp. n. **A** – Fêmea, vista dorsal; **B** – Fêmea, vista lateral; **C** – Macho, vista lateral.....p.22
- Figura 16.** *Paraxystoglossa spilopectera*. **A** – Vista lateral; **B** – Vista dorsal.....p.23
- Figura 17.** Macho e fêmea de *Lynchiatilla* sp. n. **A** – Cópula; **B** – Fêmea rejeitando o macho curvando o metassoma.....p.24
- Figura 18.** *Dialictus seabrai*. **A** – Fêmea guarda na entrada do ninho; **B** – Fêmea com pólen; **C** – Fêmea chegando no ninho.....p.26
- Figura 19.** Ninhos de *Dialictus seabrai*. **A, B** – Sinais de escavação noturna; **C** – Ninho com a entrada fechada no fim da tarde.....p.26
- Figura 20.** Entradas de ninhos de *Dialictus seabrai*. **A** – Ninho recém fundado; **B** – Fêmea guarda moldando a borda nas primeiras horas da manhã; **C** – Ninho antigo com borda na entrada.....p.27
- Figura 21.** Atividade das fêmeas de oito ninhos de *Dialictus seabrai* no dia 07/01/2008.....p.28

Figura 22. Padrão arquitetônico de sete ninhos de *Dialictus seabrai* escavados na área de estudo no mês de abril. **A, D, F, G** – ninhos não parasitados; **B, E** – ninhos parasitados por *Lophomutilla corupa*; **C** – ninho parasitado por *Pseudomethoca pumila*. ♀ = pupa de fêmea, ♂ = pupa de macho, c = casulo vazio, r = restos de pólen e fezes e v = célula vazia e limpa.....p.30

Figura 23. Material proveniente de ninhos de *Dialictus seabrai* nas escavações realizadas em abril. **A** – Célula vazia; **B** – Célula com fezes dispostas em camadas por um imaturo de *Dialictus seabrai*; **C** – Célula com restos de pólen e fezes dispersos, onde havia um casulo do parasita; **D** – Células com casulos vazios; **E** – Morfologia típica dos casulos encontrados nos ninhos parasitados por *Lophomutilla corupa*; **F** – Morfologia típica dos casulos encontrados no ninho parasitado por *Pseudomethoca pumila*.....p.31

Figura 24. *Dialictus seabrai*. **A** – fêmea, vista dorsal; **B** – fêmea, vista lateral; **C** – macho, vista lateral; **D** – macho, vista dorsal; **E** – pupa de fêmea; **F** – pupa de macho.....p.33

Figura 25. **A, B e C** – Fêmeas guarda de *Dialictus seabrai* encontradas mortas nas entradas dos ninhos no período em que a espécie estava em diapausa (maio).....p.34

Figura 26. Demais inimigos naturais de *Dialictus seabrai*. **A** – Fêmea de *Lissonota* sp. vista lateral; **B** – Macho de *Lissonota* sp. vista lateral; **C** – *Megaselia* sp.p.34

TABELA

Tabela 1. Datas de saídas a campo e tempo de observação na área de estudo.....p.12

RESUMO

Mutillidae é uma família de vespas solitárias relativamente bem representada em coleções científicas, porém a biologia e história natural da maioria das espécies descritas é totalmente desconhecida. Essas vespas são ectoparasitóides de imaturos de outros insetos nos estágios finais de desenvolvimento, tendo como principais hospedeiros outros Aculeata (Hymenoptera) e atacam espécies solitárias e eussociais, dentre as quais destacam-se as abelhas Halictinae. O objetivo geral deste trabalho foi descrever o comportamento e interações entre espécies de Mutillidae e seus hospedeiros da subfamília Halictinae. O estudo foi realizado entre dezembro de 2007 e novembro de 2008, em uma área de nidificação de abelhas Halictinae na APA Mananciais da Serra, Piraquara, PR, totalizando 35 viagens a campo e 204 horas de observação. *Lophomutilla corupa* Casal, 1968 e *Pseudomethoca pumila* (Burmeister, 1854), estiveram associadas ao hospedeiro *D. seabrai* (Moure, 1956), enquanto *Lynchiatilla* sp. n. com *Paraxystoglossa spilopecta* Moure, 1960. Testes experimentais permitiram a associação sexual dessas três espécies de Mutillidae. *Dialictus seabrai* foi a espécie de abelha mais comum na área de estudo, formando agregações de ninhos em alta densidade apresentando até quatro fêmeas ocupando o mesmo ninho. Essas abelhas fundam seus ninhos inicialmente de forma solitária, mas assim que a primeira geração emerge a prole é que passa a trazer pólen e os ninhos passam a ser guardados por uma fêmea que permanece na sua entrada. As fêmeas-guarda tiveram um importante papel na proteção do ninho contra ataques de *L. corupa* e *P. pumila*.

Palavras-chave: Mutillidae, associação sexual, relação parasita-hospedeiro, Halictinae.

ABSTRACT

Mutillidae is a large family of parasitic wasps relatively well represented in scientific collections, however the biology and natural history of most of the described species are ignored totally. These wasps are ectoparasitoids of immatures of other insects in the final stages of development, their main hosts other Aculeata (Hymenoptera) and attack solitary and eusocial species, among which stand out the halictine bees. The main objective of this work was to describe the behavior and host parasite interactions between species of Mutillidae and hosts of the subfamily Halictinae. The study was carried out between December of 2007 and November of 2008, in a nesting hosts area in the APA Mananciais da Serra, Piraquara, PR, totaling 35 trips at field and 204 hours of observation. *Lophomutilla corupa* Casal, 1968 and *Pseudomethoca pumila* (Burmeister, 1854), were associated to the host *Dialictus seabrai* (Moure, 1956), while *Lynchiatilla* n. sp. with *Paraxystoglossa spilopectera* Moure, 1960. Experimental tests confirmed the sexual association of these three species of Mutillidae. *Dialictus seabrai* was the specie more common nesting in the study area, forming aggregations of nests in high density with until four females occupying the same nest. These bees build their nests initially lonely, but as soon as the fist generation emerges the offspring is that starts to bring pollen ant the nests pass to be kept by a female in its entrance. The guard bee had an important role in the protection of the nest against attacks of *L. corupa* e *P. pumila*.

Key words: Mutillidae, sexual association, host-parasite interaction, Halictinae.

1. INTRODUÇÃO

A família Mutillidae (Hymenoptera, Aculeata) tem como representantes vespas solitárias popularmente conhecidas como oncinha, piolho de onça, chiadeira, gatinha, formiga onça, formiga veludo, formiga rainha, formiga chiadeira e formiga feiticeira. Essas denominações estão relacionadas a características morfológicas e hábitos, tais como: presença de manchas coloridas, pilosidade abundante, picadas extremamente dolorosas e chiado emitido em situações de perigo; o que tem colocado essas vespas como figuras lendárias de muitos povos (LENKO & PAPAVERO, 1979; TSCHUCH, 2000). Em pequenos municípios da Bahia, por exemplo, essas vespas são torradas e moídas para fazer infusões para o tratamento de asma (COSTA-NETO, 2002).

A família possui 208 gêneros e cerca de 4.200 espécies descritas, mas estima-se que esse número seja muito maior, chegando a aproximadamente 6.000 espécies (LELEJ & BROTHERS, 2008). A região neotropical possui uma riqueza enorme, da qual se conhece muito pouco ainda (BROTHERS, 2006a). BROTHERS (1975) reconheceu sete subfamílias: Myrmosinae, Pseudophotopsidinae, Ticoplinae, Rhopalomutillinae, Sphaerophthalminae, Myrmillinae e Mutillinae. LELEJ & MENKOV (1997) aumentaram esse número para dez acrescentando três subfamílias, antes consideradas tribos por BROTHERS (1975): Ephutinae, Kudakrumiinae e Dasylabrinae. Entretanto, outro estudo de BROTHERS (1999) revalidou a classificação proposta por ele em 1975 e atualmente são reconhecidas sete subfamílias, das quais apenas Sphaerophthalminae e Mutillinae estão presentes na região neotropical.

Apesar de se tratar de um grupo muito grande e relativamente bem representado em coleções científicas, pouco se conhece sobre aspectos básicos da sua biologia. Em todo o mundo são menos de dez espécies que foram estudadas com detalhe, embora haja um conhecimento vago de outras 140 espécies (BROTHERS, 2006a). A maior parte das informações que se tem sobre a biologia da família provêm dos trabalhos de MICKEL (1928), CLAUSEN (1940), FERGUSON (1962), BROTHERS (1972, 1978, 1989), BROTHERS *et al.* (2000) e BAYLISS & BROTHERS (1996) que oferecem uma visão geral sobre a biologia desta família.

As larvas dessas vespas são ectoparasitóides de estágios imaturos de outros insetos. Dentre os hospedeiros registrados, se destacam larvas completamente alimentadas ou pupas de uma grande variedade de abelhas e vespas Aculeata, podendo

atacar também pupários de moscas (principalmente Glossinidae); pupas de mariposas que vivem dentro de casulos muito rígidos (Limaconidae); pupas de besouros (Chrysomelidae) e ootecas de baratas (Polyphagidae). Essa lista se baseia em dados provenientes de apenas 2% do total de espécies conhecidas, assim deve-se ter cautela, pois indubitavelmente o número de hospedeiros é muito maior (BROTHERS, 2006a). Apesar de sempre se afirmar que os mutilídeos são parasitóides, dados mais recentes indicam que algumas espécies de *Ephuta* poderiam atuar como cleptoparasitóides de pompilídeos (KROMBEIN & NORDEN, 1996).

As fêmeas ovipõem diretamente em cada célula ou no casulo do hospedeiro abrindo um pequeno orifício com as mandíbulas. A célula do possível hospedeiro é examinada cuidadosamente e o ovo só é depositado se o hospedeiro já parou de se alimentar e defecou. Depois da oviposição, as fêmeas fecham novamente a célula do hospedeiro aplicando um pouco de terra, secreção salivar ou ambas (BROTHERS, 1972).

Ao eclodir, a larva do mutilídeo perfura a cutícula do hospedeiro com suas mandíbulas afiadas e começa a se alimentar de hemolinfa. O desenvolvimento é muito rápido, cinco etapas larvais podem ser observadas e a empupação ocorre dentro de um casulo (BROTHERS, 2006a). Normalmente, somente um mutilídeo se desenvolve por hospedeiro ou por ooteca, mas quando há superparasitismo, uma larva se encarrega de matar as outras, com exceção do registro de algumas espécies australianas que produzem até quatro mutilídeos por célula hospedeira (BROTHERS, 1984).

Uma das principais características de Mutillidae é o acentuado dimorfismo sexual. As fêmeas são ápteras e gastam grande parte do tempo caminhando no solo em busca de hospedeiros, onde farão oviposição, enquanto os machos são alados e gastam a maior parte do tempo voando em busca de fêmeas (DUNCAN & LIGHTON, 1997). A condição áptera das fêmeas é considerada uma sinapomorfia para a família como um todo (BROTHERS, 1989). A atividade de vôo dos machos é particularmente importante para o fluxo gênico no grupo (DEYRUP & MANLEY, 1990).

Segundo BROTHERS (1972) a atividade de vôo dos machos está relacionada com a emergência das fêmeas. Machos de muitas espécies de Mutillidae patrulham pacificamente os sítios de eclosão, a espera de uma fêmea receptiva (MANLEY & TABER, 1978; JELLISON, 1982). Estudos vêm sugerindo que fêmeas produzem feromônios que são usados para atrair os machos, que são capazes de perceber fêmeas

virgens para cópula a uma distância considerável (LINSLEY *et al.*, 1955; BROTHERS, 2006a).

Muitas espécies, ou até mesmo gêneros, são conhecidos por apenas um único sexo. Historicamente, observações de cópula têm sido usadas para associar o sexo em espécies de Mutillidae, mas essas observações são muito raras. Até mesmo em gêneros comuns como *Dasymutilla*, menos de 20% das espécies do mesmo sexo são conhecidas (PILGRIM *et al.*, 2002). Essa disparidade é parcialmente causada pelas técnicas de coleta e coleção: machos são tipicamente coletados em armadilhas Malaise, enquanto fêmeas são coletadas manualmente ou em armadilhas “pitfall”. O levantamento dos seus hospedeiros também vem sendo usado para associar os sexos, mas esse método não garante a confiabilidade, pois algumas espécies usam diferentes hospedeiros para cada sexo (MATTHEWS, 1997). Atualmente, estudos baseados em técnicas moleculares vêm sendo empregados para associação sexual em Mutillidae, baseando-se em regiões do DNA mitocondrial (PILGRIM & PITTS, 2006; PILGRIM *et al.*, 2008).

A maioria dos mutilídeos coletados é proveniente de habitats relativamente secos, como savanas e áreas semidesérticas, que são ambientes ocupados precisamente pelos seus hospedeiros mais comuns (outros Aculeata Hymenoptera). Provavelmente isso se deve ao fato de que nesses locais é muito fácil capturar fêmeas. Por serem ápteras são facilmente vistas correndo no solo nu ou na areia. Por outro lado, são praticamente impossíveis de serem observadas em locais com vegetação muito densa. O uso de armadilhas Malaise na região Neotropical tem comprovado através de coletas de machos que essas vespas são mais comuns do que se pensava, incluindo em áreas que se acreditava que eram impróprias para os mutilídeos, como florestas úmidas (BROTHERS, 2006a; MANLEY & TABER, 1978).

Sobre o grau de especificidade ao hospedeiro, também se sabe muito pouco, mas algumas espécies parecem depender mais da situação que do hospedeiro. Na América do Norte, por exemplo, *Pseudomethoca frigida* (Smith, 1855) parasita pelo menos seis espécies de abelhas Halictinae que nidificam em condições similares. *Sphaerophthalma orestes* Fox, 1899 pode atacar ninhos subterrâneos de abelhas, de Crabronidae e os vespídeos Eumeninae; e *Sphaerophthalma unicolor* (Cresson) se desenvolve nas células subterrâneas de seis gêneros de abelha e em células em caules de plantas (FERGUSON, 1962; KROMBEIN *et al.*, 1979). Até agora, os hospedeiros registrados no Neotrópico são abelhas e vespas construtoras de ninhos, sobretudo espécies solitárias, mas

incluindo também espécies eussociais como abelhas Halictinae (Hymenoptera, Apidae) (BROTHERS *et al.*, 2000).

As abelhas Halictinae compõem um grupo com alta riqueza de espécies e diversidade bionômica, possuindo espécies vão desde inteiramente solitárias a eussociais, durante toda ou parte de seus ciclos de nidificação. Espécies eussociais normalmente formam agregações grandes e permanentes, que oferecem um habitat ideal para uma grande variedade de inquilinos e parasitóides (KNERER & ATWOOD, 1967). Seus ninhos consistem em túneis escavados, geralmente no solo, que se ramificam. Nesses túneis são construídas células onde o alimento é provisionado e os imaturos se desenvolvem (MICHENER, 1974). Nas espécies sociais, frequentemente há uma operária guarda na entrada do ninho e qualquer mutilídeo intruso enfrenta um conflito com a guarda ao tentar entrar no ninho. Desde que consiga passar pela guarda e entre no ninho, a fêmea de Mutillidae parece se tornar aceita e não é mais assediada, estando apta para procurar onde por ovos em células no ninho hospedeiro (BROTHERS, 1972).

Essas abelhas têm sido extensivamente usadas em investigações sobre as origens da eussocialidade, já que o grupo inclui uma grande diversidade. Esses estudos vêm indicando que a eussocialidade teve origem separadamente em muitas ocasiões (MICHENER, 1974; BROTHERS *et al.*, 2000). O aumento da pressão parasitária exercida por Mutillidae em Halictinae é considerado como tendo um importante papel na evolução do comportamento social dessas abelhas (LIN, 1964).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo geral descrever o comportamento e interações parasita-hospedeiro entre espécies da família Mutillidae e seus hospedeiros Halictinae.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar e descrever os comportamentos envolvidos no ataque de mutilídeos em ninhos hospedeiros;
- Coletar informações biológicas sobre o hospedeiro *Dialictus seabrai* (Moure, 1956) (Hymenoptera, Apidae);
- Contribuir para o conhecimento taxonômico da família Mutillidae e descrever comportamentos de acasalamento, cópula e rejeição das fêmeas perante os machos realizando experimentalmente testes de associação sexual entre os espécimes coletados no campo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ÁREA DE ESTUDO

Esse estudo foi conduzido na Área de Proteção Ambiental (APA) Mananciais da Serra (25°29'18"S e 48°58'26"W) (Figura 1), localizada no município de Piraquara, Paraná, a aproximadamente 40 km de Curitiba.

Essa área possui 2.249 hectares e foi institucionalizada em 1906, sendo desde então propriedade do governo estadual do Paraná e monitorada pelo Departamento de Água e Esgotos, atual Companhia de Saneamento do Estado (SANEPAR) (VICENTINI *et al.*, 1991).

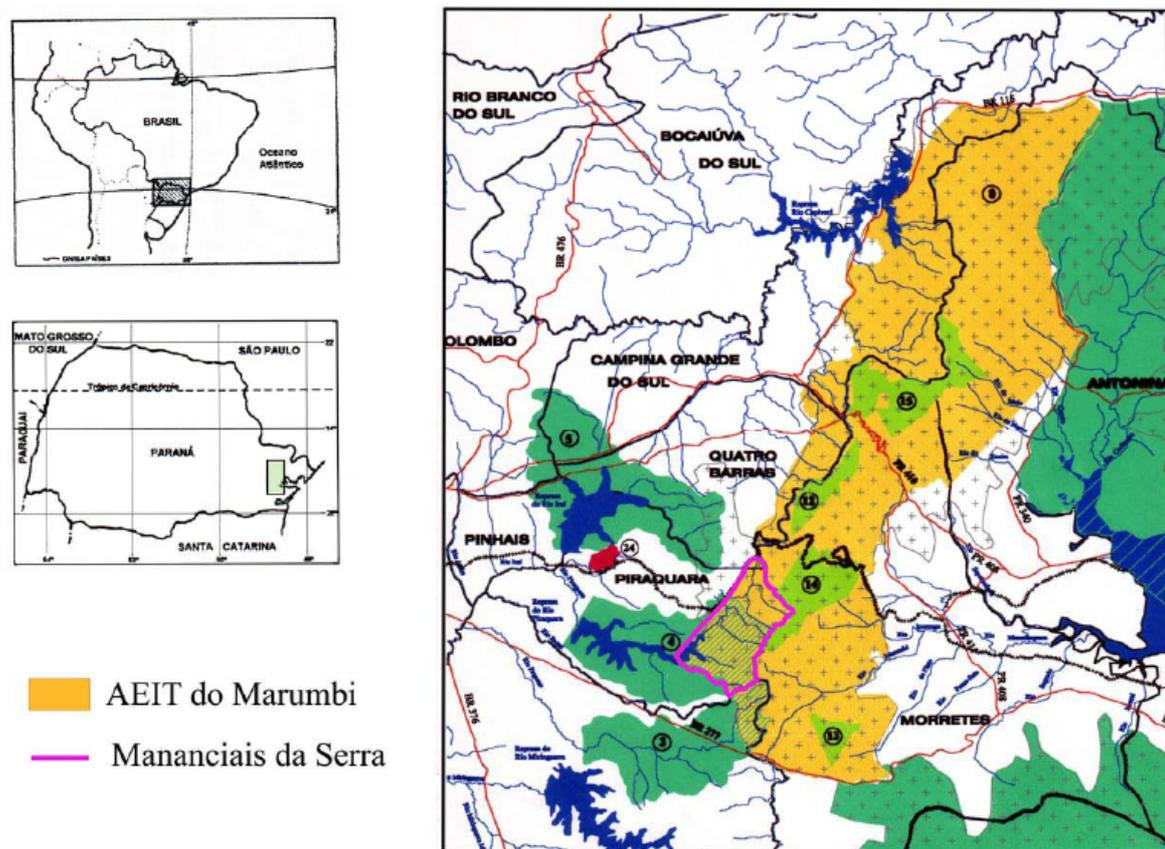


Figura 1. Mapa de localização da APA Mananciais da Serra, em Piraquara/PR (1:350.000) (Retirado de ROCHA FILHO, 2007).

A reserva faz parte da Serra do Mar e se encontra no Primeiro Planalto Paranaense, entre altitudes de 900 e 1.400 m, cujo relevo é caracterizado pela presença

de anfibolitos, gnaisses e granitos. Solos dos tipos Latossolo Vermelho-Amarelo e Podzólico Vermelho-Amarelo são encontrados na região (PARANÁ, 1987). Sua área está sob os domínios da Mata Atlântica e a vegetação é composta por um ecótono de Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista, com a presença de diversas formações secundárias de vegetação natural, resultantes da interferência antrópica (ITCF, 1987; LACERDA, 1999).

De acordo com a classificação de Köppen a região apresenta clima subtropical úmido e classificado predominantemente como Cfb, apresentando pluviosidade todos os meses do ano, sem estação seca, com verões frescos e chuvosos e invernos com geadas. As temperaturas médias anuais oscilam entre 15 e 19 °C, a umidade relativa do ar entre 80 e 85% e a precipitação anual varia entre 1250 e 2500 mm (EMBRAPA, 1986; MAAK, 2002).

A área foi escolhida como local de estudo pelo seu estado de preservação, facilidade de acesso e pela existência de um levantamento prévio da fauna de Mutillidae, conduzido por GARCIA (2004) indicando a presença de 27 espécies e nove gêneros pertencentes às duas subfamílias presentes na região Neotropical (Sphaerophthalminae e Mutilinae). As análises desse levantamento indicaram uma riqueza média para a área, mostrando que estudos adicionais, como o proposto aqui, podem ser conduzidos com sucesso.

A área de nidificação onde o estudo foi conduzido (Figura 2) está situada às margens da estrada vicinal que atravessa a reserva (Figura 3), aproximadamente a cinco quilômetros da entrada principal. Tal área consiste em um barranco com 15 metros de altura e uma região descoberta de vegetação com aproximadamente 12 metros de largura, visivelmente proveniente de um desmoronamento que ocorreu no local a alguns anos, possibilitando a nidificação de vespas e abelhas que constroem ninhos no solo. A espécie de abelha dominante no local é *Dialictus seabrai* (Apidae, Halictinae, Halictini) e representa, junto com as demais que nidificam na área, hospedeiros potenciais de vespas da família Mutillidae.



Figura 2. Área de nidificação com a agregação de *Dialictus seabrai*, localizada as margens da estrada vicinal que corta a reserva. Foto: Gabriel A. R. Melo.



Figura 3. Parte inicial da estrada vicinal que atravessa a reserva dos Mananciais da Serra. Foto: Thiago D. Woiski.

3.2. DELINEAMENTO AMOSTRAL

A observação e coleta do material foi realizada ao longo de onze meses, entre dezembro de 2007 e novembro de 2008, principalmente no mês de janeiro de 2008 e preferencialmente em dias quentes, com sol e sem chuva. Foram utilizadas técnicas de coleta ativa e observações diretas dos ninhos de hospedeiros na área de nidificação, totalizando 204 horas de observação em 35 viagens ao campo (Tabela 1) que permitiram registros comportamentais das três espécies de Mutillidae mais representativas na área: *Lophomutilla corupa* Casal, 1968; *Pseudomethoca pumila* (Burmeister, 1854) e *Lynchiatilla* sp. n.; além da coleta de informações biológicas do hospedeiro *Dialictus seabrai*.

Em abril, foram escavados sete ninhos completos de *D. seabrai*, sendo que em três deles foi registrado o parasitismo por fêmeas de Mutillidae. Após escavação, o material foi levado ao laboratório, em blocos do substrato de nidificação, onde foi aberto cuidadosamente sob estereomicroscópio para análise do seu conteúdo, descrição da arquitetura dos ninhos, determinação da razão sexual dos imaturos do hospedeiro e a procura de imaturos e casulos de Mutillidae no intuito de confirmar o parasitismo nos casos em que houve registro de fêmeas dessas vespas entrando nos ninhos.

No mês de maio, cinco fêmeas adultas de *D. seabrai* que estavam em diapausa foram coletadas dentro de um ninho. Tais fêmeas foram dissecadas, e suas espermatecas observadas no microscópio, no intuito de averiguar se estavam inseminadas.

3.3. ANÁLISE COMPORTAMENTAL

As fêmeas de Mutillidae avistadas foram acompanhadas por no mínimo 30 minutos antes de serem coletadas, através de observações diretas e seu comportamento registrado *ad libitum* (ALTMANN, 1974). Tais observações foram realizadas visando registrar comportamentos de parasitismo, acasalamento, cópula, forrageamento e fuga de possíveis predadores. Em virtude da atividade de vôo dos machos, não foi possível acompanhá-los por muito tempo antes de serem coletados. Posteriormente os espécimes foram coletados e colocados individualmente em pequenos potes etiquetados com um símbolo indicando o sexo e número (ex.: ♀1 e ♂1), seguido da data e horário de coleta para serem levados ao laboratório.

Ao contrário de Mutillidae, os hospedeiros têm um ninho fixo, onde costumam voltar para aprovisionar alimento para a prole se desenvolver. Fêmeas de *D. seabrai* foram acompanhadas pela marcação de seus ninhos com alfinetes de cabeça colorida próximo a entrada do ninho (Figura 4A) e os espécimes com o auxílio de sacos plásticos transparentes e tinta atóxica no mesoscuto (Figura 4B). Tais marcações permitiram o acompanhamento de ninhos desde o início da construção. Observações superficiais da entrada dos ninhos da espécie foram possíveis com a ajuda de um oftalmoscópio.

Nos casos em que houve registro de fêmeas de Mutillidae entrando em ninhos de *D. seabrai*, a entrada do ninho foi observada por mais 30 minutos. Na maioria das vezes a fêmea intrusa não saiu do ninho nesse período, então foi colocado um pote plástico na entrada do ninho (Figura 4C), que foi inspecionado a cada 15 minutos no intuito de investigar quanto tempo permaneceu no ninho hospedeiro.

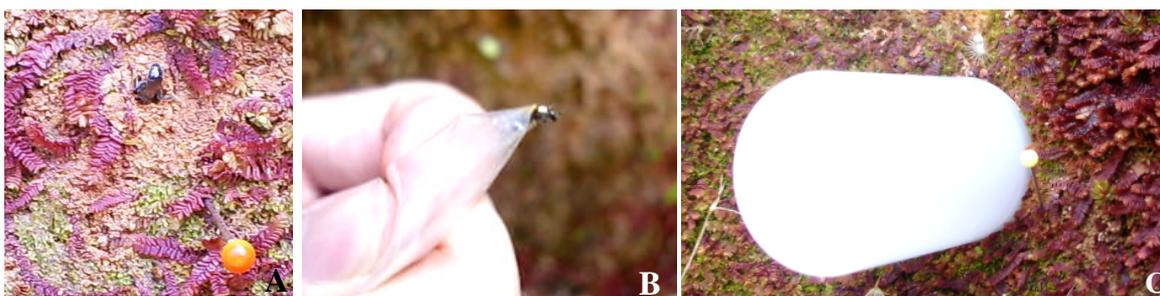


Figura 4. **A** – Marcação de um ninho de *Dialictus seabrai* com alfinete de cabeça colorida; **B** – Marcação de um espécime de *Dialictus seabrai* com tinta atóxica e o auxílio de um saco plástico transparente; **C** – Bloqueio da entrada do ninho de *Dialictus seabrai* para verificar quanto tempo fêmeas de Mutillidae permaneceram no ninho hospedeiro. Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.

3.4. TESTES DE ASSOCIAÇÃO SEXUAL

Os mutilídeos coletados foram levados ao laboratório, onde foram armazenados individualmente em potes plásticos quadrados (10x10x3cm) ou circulares (10x3cm), mantidos em câmaras para criação de insetos do tipo BOD (“Biological Oxygen Demand”) e alimentados com mel diluído em algodão (Figuras 5A e 5B) para a realização de testes experimentais de associação sexual. As condições na BOD foram

mantidas sempre em uma fotofase de 12 horas, umidade relativa em torno de 70% e temperatura na fase clara de 24 °C e na escura de 17 °C.

Os testes de associação sexual seguiram a metodologia elaborada por GARCIA (2004) com algumas modificações. Tais testes consistiram em ensaios onde casais foram colocados individualmente em uma arena transparente de 11x11x3,5 cm por 15 minutos (Figura 5C), com intervalos de 3 minutos entre cada ensaio. Os ensaios foram realizados no intuito de associar macho e fêmea das espécies coletadas e registrar comportamentos de corte, cópula e rejeição das fêmeas perante os machos.



Figura 5. **A** – Recipiente onde as fêmeas de Mutillidae foram alimentadas com mel diluído em algodão; **B** – BOD onde os mutilídeos foram criados; **C** – Arena onde foram realizados os testes experimentais de associação sexual dos mutilídeos. Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.

O material coletado foi identificado por especialistas e encontra-se depositado na Coleção Entomológica Pe. Jesus Santiago Moure (DZUP), Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.

Tabela 1. Datas de saídas a campo e tempo de observação na área de estudo.

DATAS	HORÁRIO DE INÍCIO E FIM DAS OBSERVAÇÕES	TEMPO DE OBSERVAÇÃO
26/12/2007	8:45 às 17:45	9 horas
03/01/2008	8:05 às 15:25	7 horas e 20 minutos
05/01/2008	7:20 às 17:40	10 horas e 20
07/01/2008	7:45 às 18:35	10 horas e 50
08/01/2008	7:50 às 16:50	9 horas
11/01/2008	7:45 às 18:45	11 horas
15/01/2008	8:05 às 15:25	7 horas e 20 minutos
17/01/2008	7:50 às 17:10	9 horas e 20 minutos
27/01/2008	9:50 às 10:50	1 hora
30/01/2008	9:00 às 11:00	2 horas
10/02/2008	8:45 às 15:15	6 horas e 45 minutos
12/02/2008	8:50 às 16:50	8 horas
15/02/2008	8:00 às 13:15	5 horas e 15 minutos
23/02/2008	7:50 às 13:00	5 horas e 10 minutos
29/02/2008	8:20 às 15:05	6 horas e 45 minutos
04/03/2008	8:10 às 18:10	10 horas
06/03/2008	8:30 às 17:30	9 horas
13/03/2008	8:25 às 13:10	4 horas e 45 minutos
19/03/2008	9:00 às 13:40	4 horas e 40 minutos
28/03/2008	8:10 às 16:40	8 horas e 30 minutos
02/04/2008	9:05 às 16:45	7 horas e 40 minutos
19/04/2008	9:10 às 13:40	4 horas e 30 minutos
25/04/2008	9:00 às 16:30	7 horas e 30 minutos
09/05/2008	9:15 às 14:45	5 horas e 30 minutos
16/05/2008	9:25 às 17:25	8 horas
17/07/2008	10:30 às 12:30	2 horas
20/08/2008	10:45 às 15:15	4 horas e 30 minutos
27/08/2008	11:45 às 14:45	3 horas
04/09/2008	10:15 às 15:15	5 horas
07/10/2008	12:30 às 16:00	3 horas e 30 minutos
22/10/2008	10:30 às 16:30	6 horas
01/11/2008	10:05 às 13:05	3 horas
08/11/2008	11:00 às 11:30	30 minutos
15/11/2008	10:30 às 14:30	4 horas
28/11/2008	10:00 às 11:00	1 hora
TOTAL	35 viagens a campo e 204 horas de observação	

4. RESULTADOS

4.1. ESTUDO COMPORTAMENTAL E ASSOCIAÇÃO SEXUAL DE MUTILLIDAE

Foram coletados 100 espécimes da família Mutillidae, sendo 79 fêmeas e 21 machos. Desse material, apenas indivíduos pertencentes a três espécies foram mais abundantes na área de nidificação durante os 11 meses de estudo (Figura 6): *Lophomutilla corupa* (n = 53 indivíduos coletados); *Pseudomethoca pumila* (n = 14) e *Lynchiatilla* sp. n. (n = 11), das quais foi possível obter registros comportamentais, relações hospedeiro-parasita e associação sexual. Seis morfoespécies de fêmea e uma de macho foram observadas e coletadas com menos frequência e não forneceram informações relevantes para serem incluídas neste trabalho.

Todas as fêmeas foram observadas antes de serem coletadas. Essas fêmeas caminhavam pelo substrato da agregação com a cabeça abaixada, frequentemente batendo as antenas no solo, sem possuir uma rota fixa ao longo do dia, parando repetidas vezes em lugares protegidos como cavidades pré-existentes, embaixo da vegetação ou qualquer material suspenso sobre o substrato. Nessas paradas, foi possível observar o comportamento de “grooming”, que consistiu em limparem a cabeça, peças bucais e antenas com as pernas dianteiras e o metassoma com as pernas médias e posteriores.

Os machos de Mutillidae coletados foram observados patrulhando a área de nidificação do hospedeiro através de vôos lentos quando se aproximavam do substrato. Isso se relaciona pela presença de inúmeras fêmeas na área em busca de ninhos para fazer oviposição.

Para os espécimes coletados e mantidos em BOD, as fêmeas sobreviveram em média 52,4 dias (n = 79 fêmeas) e os machos 11,3 dias (n = 21 machos). Conforme a disponibilidade, os espécimes foram submetidos a testes experimentais de associação sexual. Foram realizados 132 ensaios, totalizando 33 horas de observação, que permitiram a associação sexual de três espécies de Mutillidae, cujos machos ainda não estão descritos na literatura.

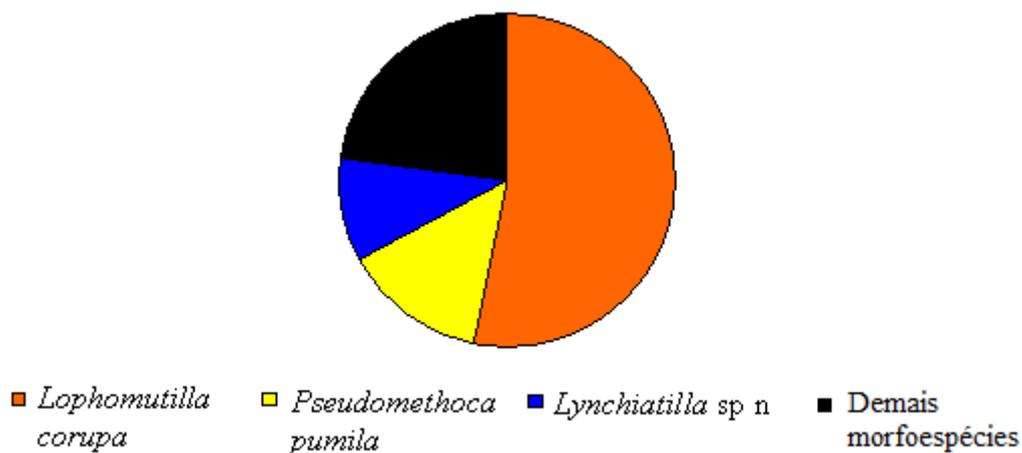


Figura 6. Representatividade das espécies de Mutillidae coletadas na área de estudo entre dezembro de 2007 e novembro de 2008.

4.1.1 *Lophomutilla corupa*

Lophomutilla corupa (Hymenoptera, Mutillidae, Sphaerophthalminae) (Figura 7) foi a espécie de Mutillidae mais comum na área. Foi vista facilmente na agregação na maioria dos dias no campo nos meses de dezembro, janeiro, fevereiro, março, abril, outubro e novembro com o registro de atividades entre 10:13 e 16:52 horas.



Figura 7. *Lophomutilla corupa* **A** – Fêmea, vista dorsal; **B** – Fêmea, vista lateral; **C** – Macho, vista lateral. (Escala: 2 mm). Fotos: Vitor A. Nardino.

A espécie mostrou-se associada ao hospedeiro *D. seabrai*. Ao todo, foram registradas 26 tentativas de parasitismo, que consistiram inicialmente em se aproximar

lentamente da entrada do ninho do hospedeiro. Dessas 26 tentativas, 21 foram fracassadas e em cinco *L. corupa* conseguiu entrar no ninho.

Em oito das 21 tentativas fracassadas houve briga de mandíbulas entre a fêmea guarda do ninho hospedeiro e a intrusa. Essas brigas se iniciavam assim que a fêmea de *L. corupa* se aproximava lentamente e colocava a cabeça na entrada do ninho (Figura 8A). Em todas as observações a guarda do ninho hospedeiro reagiu muito rápido, emitindo um forte ruído e prendendo a cabeça da vespa parasita com as mandíbulas por até 4'12". A fêmea intrusa se apoiava com as pernas dianteiras na entrada do ninho até conseguir se libertar. Em cinco dessas oito observações que houve briga de mandíbulas, a guarda virou em seguida, ficando com o metassoma voltado para fora do ninho e em pouco tempo tapou sua entrada puxando terra de dentro do ninho com o auxílio das pernas. As fêmeas do ninho hospedeiro que estavam forrageando encontraram dificuldade tanto no reconhecimento do ninho de origem, quanto para entrar, pois tiveram que destapá-lo para conseguir entrar e com muita dificuldade, pois a grande maioria carregava pólen.

Nas outras 13 observações de tentativas fracassadas, *L. corupa* apenas aproximou-se lentamente da entrada do ninho, mas assim que a guarda reagiu avançando, emitindo ruído e movimentando as mandíbulas, a intrusa fugiu, correndo muito rápido sem que houvesse tempo hábil para um conflito entre elas.

Em três dos cinco registros em que *L. corupa* conseguiu entrar no ninho de *D. seabrai*, houve briga de mandíbulas seguida por briga com ferrão, que consistiu na fêmea intrusa se virar e entrar lentamente com o metassoma voltado para o ninho exibindo o ferrão para a guarda, que cedeu e foi se afastando, retrocedendo para dentro do ninho, à medida que *L. corupa* se aproximava. Esse conflito durou por no máximo 3'04", até que *L. corupa* ficasse apenas com a cabeça para fora do ninho apoiando-se na entrada com as pernas dianteiras. Logo após a briga com ferrão, a fêmea intrusa saiu do ninho, virou, e entrou novamente em poucos segundos, com a cabeça voltada para o ninho. Em duas dessas três observações a fêmea guarda voltou rapidamente a sua posição original, puxou terra e tapou a entrada fechando *L. corupa* no ninho. Em uma observação a guarda não voltou e aproximadamente após 17 minutos muitas operárias de *Linepithema* sp. (Hymenoptera, Formicidae, Dolichoderinae) começaram a entrar no ninho, de onde saíram com uma abelha morta. Provavelmente essa abelha morta carregada pelas formigas se trata da fêmea guarda que morreu após a briga de ferrão com *L. corupa*. Esse ninho posteriormente foi colonizado pelas formigas por três

semanas, permaneceu aparentemente inativo na semana seguinte, e em seguida foi habitado por uma larva de Cicindelidae (Coleoptera), que foram relativamente comuns em outras cavidades na área de estudo nos meses de fevereiro, março e novembro. Em setembro de 2008, sete meses após o registro de parasitismo e as colonizações pelas diferentes espécies, o ninho foi novamente ocupado por *D. seabrai*.

Em uma das tentativas bem sucedidas, a guarda surpreendentemente não reagiu à presença de *L. corupa*, que se aproximou com as antenas voltadas para baixo, contornando a cabeça, e entrou tranquilamente no ninho, sem enfrentar nenhum conflito com a guarda. Nas quatro tentativas bem sucedidas descritas até então a fêmea intrusa permaneceu no ninho até o fim do dia, provavelmente pernoitando no local.

Em outra tentativa bem sucedida, *L. corupa* entrou em um ninho desguardado, onde permaneceu por menos de dois minutos. Esse ninho era recém fundado, estava ocupado por apenas uma fêmea de *D. seabrai* e provavelmente ainda não tinha células provisionadas ou hospedeiros imaturos nos estágios finais de desenvolvimento disponíveis para parasitar.

Fêmeas de *L. corupa* (n = 22) foram observadas no fim da tarde removendo o solo com as mandíbulas, através de movimentos circulares, e com o auxílio das pernas abrindo pequenas cavidades (Figura 8B) ou se alojando em pequenas depressões no substrato, provavelmente para pernoitar. Todas essas cavidades foram marcadas com alfinete de cabeça colorida para posterior acompanhamento. Nenhuma dessas fêmeas foi vista novamente em tais cavidades nos outros dias de observação.

Lophomutilla corupa foi observada cinco vezes forrageando em grupos de sete a treze fêmeas nas plantas *Baccharis trimera* (Less.) (Asteraceae) (Figura 9A), *Dicranopteris nervosa* (Kauf.) (Gleicheniaceae) (Figura 9B) e *Miconia lymanii* Wurdack (Melastomataceae) (Figura 9C). Fêmeas estavam se alimentando da secreção açucarada (“honeydew”) que caía sobre as folhas dessas plantas. Tal secreção era liberada por *Uroleucon ambrosiae* (Thomas, 1878) (Hemiptera, Aphididae), tendo como planta hospedeira *Baccharis schultzii* Baker (Asteraceae) (Figura 10). *Lophomutilla corupa* andava muito rápido, batendo as antenas nas folhas, parando repetidas vezes, movimentando o metassoma para cima e para baixo e raspando as mandíbulas na superfície foliar para se alimentar. Quando duas ou mais fêmeas se chocavam, todas reagiam correndo imediatamente para o lado oposto. A formação desses grupos de fêmeas durante o forrageamento foi responsável pela atração de machos para o local, pois em três dessas observações machos da espécie foram

observados patrulhando a planta enquanto as fêmeas se alimentavam, mas não apresentaram comportamento de corte, apenas voavam lentamente ao redor da planta.

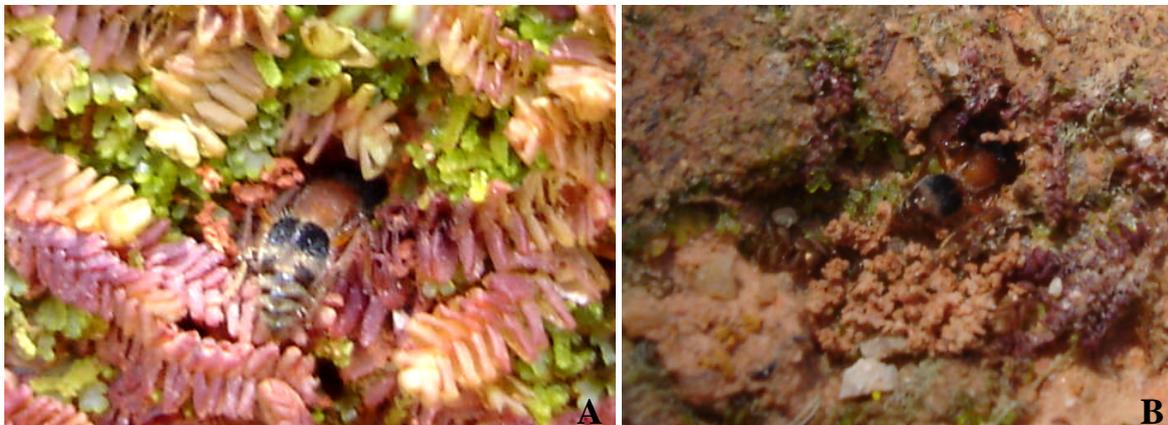


Figura 8. **A** – *Lophomutilla corupa* durante uma tentativa de invasão, presa por uma fêmea guarda de *Dialictus seabrai* na entrada do ninho; **B** – *Lophomutilla corupa* removendo terra no fim da tarde para se abrigar. Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.



Figura 9. Plantas em que *Lophomutilla corupa* foi vista forrageando. **A** – *Baccharis trimera*; **B** – *Dicranopteris nervosa*; **C** – *Miconia lymanii*. Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.

O único possível inimigo natural de *L. corupa* registrado durante as observações foi *Mesabolivar* sp. (Araneae, Pholcidae). Um macho de *L. corupa* que estava patrulhando a área ficou preso na teia dessa aranha (Figura 11). Inicialmente o macho de *L. corupa* não teve reação alguma, mas pouco mais de um minuto após ficar preso, a aranha começou a se aproximar rapidamente e como resposta, o macho se debateu, conseguindo escapar da teia antes que a aranha o alcançasse.



Figura 10. *Uroleucon ambrosiae* e a planta hospedeira *Baccharis schultzei*. Foto: Gabriel A. R. Melo.



Figura 11. Macho de *Lophomutilla corupa* preso na teia de *Mesabolivar* sp. Foto: Antonio C. B. Bergamaschi.

No total foram coletados 53 espécimes de *L. corupa*, sendo 44 fêmeas e nove machos, que permitiram a realização de 72 testes de associação sexual. Em todos os ensaios entre macho e fêmea dessa espécie, o macho demonstrou interesse pela fêmea e apresentou comportamento de corte, mas apenas em 26 testes houve cópula, todas com mais de um minuto de duração, estendendo-se por até 2'26".

A corte dos machos iniciava-se assim que os espécimes eram expostos na arena. O macho iniciou a corte andando no campo de visão da fêmea abrindo e fechando as asas, permanecendo a maior parte do tempo com as asas abertas e quando a fêmea

parava de andar, o macho se aproxima por trás. As fêmeas reagiram à corte dos machos de duas formas diferentes. A situação menos comum ($n = 4$) foi permanecerem paradas e aceitarem a corte na primeira tentativa do macho, ao contrario da situação mais comum em que a fêmea continuou a andar muito rápido. Na segunda situação, os machos foram observados tentando copular por até 11 tentativas durante os 15 minutos de exposição.

Normalmente o comportamento observado de rejeição das fêmeas consistiu em apenas correr, mas em duas tentativas o macho tentou segurar a fêmea pressionando as pernas dianteiras no seu tórax e nas duas situações elas reagiram exibindo o ferrão. Os machos soltaram as fêmeas imediatamente e estas continuaram a correr na arena, sem tentativas adicionais de cópula por parte dos machos.

Durante as cópulas, o macho subiu sobre o corpo da fêmea (Figura 12), seguido do encaixe das genitálias e bateu as pernas dianteiras sobre o pronoto da fêmea em um ritmo constante do início ao fim da cópula.

Quatro fêmeas desta espécie copularam com dois machos, sendo que uma copulou duas vezes no mesmo dia, cerca de quatro horas após a primeira cópula e as demais em dias diferentes. Foram realizados dez ensaios extra com casais que já haviam copulado e que foram colocados juntos na arena novamente e em todos os testes as fêmeas aparentemente continuaram atrativas aos machos, que demonstraram interesse e comportamento de corte, mas todas as fêmeas reagiram com rejeição.

No campo também foi possível obter observações de corte e rejeição, as quais foram semelhantes às observadas no laboratório. Os machos patrulhavam lentamente a área com vôos longos. Ao avistar uma fêmea, antes de pousar, aproximava e afastava-se várias vezes do substrato no local onde a fêmea estava e ao pousar exibia comportamento de corte semelhante ao observado no laboratório. O que diferiu é que no campo as fêmeas conseguiam escapar mais facilmente dos machos se jogando e rolando pelo barranco ou se escondendo em pequenas cavidades do substrato.



Figura 12. Macho sobre o corpo da fêmea de *L. corupa* durante a cópula. Foto: Antonio C. B. Bergamaschi.

4.1.2. *Pseudomethoca pumila*

Pseudomethoca pumila (Hymenoptera, Mutillidae, Sphaerophthalminae) (Figura 13) foi observada e coletada na área nos meses de janeiro, fevereiro, março, abril e novembro entre 11:11 e 16:45 horas e assim como *L. corupa* mostrou-se associada ao hospedeiro *D. seabrai*. Foram registradas nove tentativas de parasitismo em ninhos dessa espécie, sete fracassadas e duas bem sucedidas. Antes de tentar entrar no ninho hospedeiro, *P. pumila* tinha como comportamento característico andar muito rápido e passar repetidas vezes (de sete a nove vezes) sobre a entrada do mesmo ninho.



Figura 13. *Pseudomethoca pumila* **A** – Fêmea, vista dorsal; **B** – Fêmea, vista lateral; **C** – Macho, vista lateral. (Escala: 2mm). Fotos: Vitor A. Nardino.

Nas sete tentativas fracassadas, em todas as observações *P. pumila* passou repetidas vezes sobre a entrada do ninho de *D. seabrai* e em seguida se aproximou lentamente de sua entrada. Dessas sete tentativas, em cinco houve briga de mandíbulas por até 2'55" seguida de fuga como em *L. corupa*, e em duas tentativas *P. pumila* conseguiu escapar a tempo e fugiu assim que a guarda avançou, sem que houvesse a briga de mandíbulas.

Nas duas tentativas bem sucedidas de parasitismo registradas, *P. pumila* inicialmente seguiu o mesmo ritual das demais tentativas, passando repetidas vezes na entrada do ninho hospedeiro. Em seguida *P. pumila* entrou lentamente com o metassoma direcionado para o ninho exibindo o ferrão para a guarda, ficando apenas com a cabeça para fora por até 2'25", sem que houvesse briga de mandíbulas anteriormente. A fêmea intrusa saiu em seguida e entrou rapidamente com a cabeça direcionada para o ninho e a fêmea guarda retornou à sua posição original. *Pseudomethoca pumila* foi vista saindo do ninho após mais de três horas em uma das observações e ficou até o fim da tarde, provavelmente pernoitando no ninho na outra observação.

Foram coletadas oito fêmeas e seis machos desta espécie, permitindo a realização de 22 testes de associação sexual. Em todos os ensaios envolvendo macho e fêmea desta espécie houve corte dos machos perante as fêmeas assim que foram expostos na arena, mas apenas quatro cópulas foram registradas, com duração máxima de 58".

A corte para essa espécie foi semelhante àquela de *L. corupa*, mas ao invés de subir imediatamente sobre o corpo da fêmea após esta parar de andar, o macho tocava as antenas no metassoma da fêmea repetidas vezes antes de subir sobre seu corpo.

Nas quatro cópulas registradas as fêmeas aceitaram a corte do macho na primeira tentativa, permitindo que os machos subissem sobre seu corpo, seguido do encaixe das genitálias e cópula (Figura 14); porém a situação mais comum (n=18) foi a fêmea rejeitar o macho expondo o ferrão e continuando a andar muito rápido em seguida. Após a rejeição, os machos não tentaram copular novamente com a mesma fêmea.



Figura 14. Macho e fêmea de *Pseudomethoca pumila* em cópula. Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.

4.1.3. *Lynchiatilla* sp. n.

Lynchiatilla sp. n. (Hymenoptera, Mutillidae, Sphaerophthalminae) (Figura 15) teve atividade registrada nos meses de janeiro, fevereiro e novembro entre 11:27 e 18:12 horas. Foi vista entrando duas vezes em ninhos de *Paraxystoglossa spiloptera* Moure, 1960 (Hymenoptera, Apidae, Halictinae) (Figura 16). As fêmeas intrusas não tiveram dificuldade em entrar nos ninhos hospedeiros, pois *P. spiloptera* não possui uma fêmea guardando a entrada do ninho como ocorre em *D. seabrai*. Uma dessas observações foi às 15:45 e a outra às 16:22 horas e em ambas *Lynchiatilla* sp. n. não saiu do ninho hospedeiro até o fim da tarde.

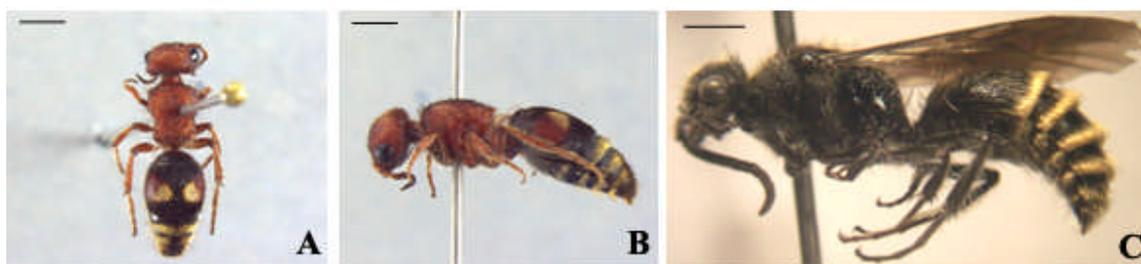


Figura 15. *Lynchiatilla* sp. n. **A** – Fêmea, vista dorsal; **B** – Fêmea, vista lateral; **C** – Macho, vista lateral. (Escala: 2mm). Fotos: Vitor A. Nardino e Roberto A. Cambra.



Figura 16. *Paraxystoglossa spilopectera*. A – Vista lateral; B – Vista dorsal. (Escala: 2mm). Fotos: Vitor A. Nardino.

Ao todo foram coletadas nove fêmeas e dois machos de *Lynchiatilla* sp. n.. Apesar dessa espécie não ser tão comum na área como *L. corupa* e *P. pumila*, foi possível realizar seis testes de associação sexual, dos quais em dois houve cópula e em quatro rejeição das fêmeas perante a corte dos machos.

O comportamento de corte do macho desta espécie caracterizou-se por andar constantemente no campo de visão da fêmea e quando esta parava de andar na arena, o macho se direcionava, parando na sua frente, tocava as antenas na sua cabeça e passava por cima dela. Em seguida, virava-se ficando na mesma direção que a fêmea segurava o seu mesossoma com as mandíbulas na altura do terceiro par de pernas.

As fêmeas que aceitaram a corte do macho continuaram paradas e as que rejeitaram curvaram o metassoma para baixo, impedindo que a genitália masculina alcançasse a feminina (Figura 17B).

A cópulas duraram 1'23" e 1'10". O macho permaneceu posicionado sobre o corpo da fêmea, encaixando rapidamente sua genitália na da fêmea, pressionando as mandíbulas na região do metanoto o tempo todo (Figura 17A).



Figura 17. Macho e fêmea de *Lynchiatilla* sp. n. **A** – Cópula; **B** – Fêmea rejeitando o macho curvando o metassoma. Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.

4.2. ASPECTOS BIOLÓGICOS DO HOSPEDEIRO *Dialictus seabrai*

D. seabrai (Figura 19) foi a espécie nidificante mais comum na área de estudo, formando agregações de ninhos em alta densidade. As fêmeas desta espécie construíram seus ninhos no solo, preferencialmente em superfícies verticais e raramente em regiões planas (n=2). A distância entre as entradas dos ninhos oscilou em média 2,8 centímetros (n = 40 distâncias aferidas). A espécie esteve ativa de dezembro a abril, saindo da diapausa em setembro.

Durante o período de observações, foi possível acompanhar a construção de nove ninhos de *D. seabrai* desde o início da sua fundação. Antes de escolher um local para nidificar, uma fêmea inicialmente solitária visita várias regiões na área de nidificação, podendo inspecionar, sair e voltar ao mesmo local mais de cinco vezes antes de iniciar a fundação. Em duas observações, a fêmea iniciou e abandonou a escavação do ninho após pouco mais de uma hora de trabalho. A construção do ninho é iniciada com a limpeza do local e retirada da vegetação, seguida da remoção do solo compactado e de textura argilosa através de movimentos circulares, com o auxílio das mandíbulas e das pernas emitindo um ruído fraco. Após a remoção, a terra é retirada da cavidade com o auxílio das pernas e após cerca de três horas de trabalho, a fêmea já abriu um túnel com aproximadamente dois centímetros de profundidade, onde seu corpo já cabe inteiramente. A partir daí, pára de jogar a terra para fora e passa a trabalhar

enquanto a fêmea trabalhou fechada só era removida dos ninhos no período noturno, pois ninhos acompanhados durante o dia foram inspecionados no dia seguinte nas primeiras horas da manhã, estando cheios de terra caída abaixo da sua entrada (Figura 20A e 20B), fato que ocorreu também em ninhos antigos, onde as fêmeas continuaram com as escavações para sua ampliação e construção de células novas.

As fêmeas e os ninhos acompanhados desde o início da construção foram marcados para posterior acompanhamento. Essas fêmeas trabalharam sozinhas, fechadas dentro do ninho a maior parte do tempo na construção das primeiras células. Em pouco mais de uma semana começaram a coletar pólen e quatro semanas após o início da construção do ninho a primeira geração começa a emergir. As filhas é que passam a trazer pólen e a fêmea fundadora sai do ninho raramente e quando sai não retorna mais com pólen, passando aparentemente a ter apenas função reprodutiva no ninho. A marcação das demais fêmeas desses ninhos permitiu estimar que havia no máximo quatro fêmeas ocupando um ninho ao mesmo tempo (média=2,92 fêmeas, n = 9 ninhos). Assim que a primeira geração de um ninho emerge outros ninhos começam a ser fundados muito próximos, ao seu redor.

Quando o ninho já estava ocupado por mais de uma fêmea, uma delas assumia a função de guarda (Figura 18A), permanecendo sempre na entrada do ninho no intuito de prevenir a ação de intrusos e inimigos naturais. Quando outra fêmea que ocupava o ninho precisava sair ou entrar, a que estava na posição de guarda saía da posição original e entrava até atingir o diâmetro suficiente para que a outra passasse por cima de seu corpo, retornando em seguida à posição de guarda. A marcação das fêmeas permitiu visualizar que apesar de uma delas passar a maior parte do tempo na função de guarda, nem sempre era a mesma fêmea que ocupava essa função e quando toda a prole saía do ninho a fêmea fundadora assumia a função de guarda.



Figura 18. *Dialictus seabrai*. **A** – Fêmea guarda na entrada do ninho; **B** – Fêmea com pólen; **C** – Fêmea chegando no ninho. Fotos: Gabriel A. R. Melo.

A maioria dos ninhos era tapada com terra pela fêmea guarda no fim da tarde (Figura 20C), permanecendo assim até a manhã do dia seguinte. Em três observações, não houve fechamento da entrada dos ninhos, mas a fêmea guarda permaneceu na entrada do ninho com o metassoma virado para fora cerca de 0,4 cm da entrada.



Figura 19. Ninhos de *Dialictus seabrai*. **A, B** – Sinais de escavação noturna; **C** – Ninho com a entrada fechada no fim da tarde. Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.

Nas primeiras horas da manhã, antes das demais fêmeas do ninho saírem para o primeiro vôo, fêmeas guarda começavam a destapar as entradas e colocar as antenas e cabeça para fora gradativamente. Algumas permaneciam na entrada com o metassoma virado para fora por alguns minutos antes de ficar na sua posição original com a cabeça direcionada para fora do ninho.

Através de algumas características foi possível distinguir ninhos antigos de ninhos novos. Os ninhos recém fundados além de não possuírem uma fêmea guarda,

tinham suas entradas simples (Figura 20A) e dificilmente eram visualizados sem uma análise minuciosa do substrato, ao contrário dos ninhos antigos, que já possuíam uma fêmea guarda e tinham uma borda de barro ao redor da entrada (Figura 20C). Essa borda era moldada somente nas primeiras horas da manhã pela fêmea guarda, antes que as demais saíssem para forragear, com o auxílio das mandíbulas e das pernas anteriores, emitindo um forte ruído, sempre em movimentos circulares no sentido anti-horário (Figura 20B).



Figura 20. Entradas de ninhos de *Dialecticus seabrai*. **A** – Ninho recém fundado; **B** – Fêmea guarda moldando a borda nas primeiras horas da manhã; **C** – Ninho antigo com borda na entrada. Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.

As primeiras fêmeas foram vistas saindo do ninho a partir das 08:42 da manhã e as últimas chegando até 17:37 da tarde em dias quentes e ensolarados. A Figura 21 permite visualizar a atividade das fêmeas baseada na quantificação do número de abelhas que saíam e voltavam de 8 ninhos muito próximos em 07/01/2008, um dia quente e ensolarado, mostrando que a espécie é mais ativa pela manhã e no fim da tarde. Perante adversidades climáticas, tais como: pluviosidade, cerrações, nevoeiros e baixa temperatura, as fêmeas retardavam suas atividades, realizando os primeiros vôos quando as condições ambientais eram propícias. No primeiro vôo da manhã, a maioria das fêmeas saía do ninho e andava por alguns minutos no substrato batendo as asas, sendo que algumas permaneciam no substrato por mais de cinco minutos antes de voar.

Ao voltar ao ninho, *D. seabrai* normalmente sobrevoava a área antes de parar na entrada do ninho de origem, em seguida tocava as antenas na cabeça da guarda rapidamente e entrava. Algumas paravam na entrada, sobrevoavam novamente a área e só então retornavam ao ninho e entravam após o toque de antenas na guarda ao

contrário de outras que voavam por muito tempo, paravam na entrada de vários ninhos e não entravam em nenhum.

Em alguns casos (n=23), fêmeas sem pólen tentaram entrar em vários ninhos, mas foram rejeitadas pela fêmea guarda, mostrando a possibilidade de que a espécie pode apresentar cleptoparasitismo intra-específico; por outro lado fêmeas com pólen nunca foram rejeitadas pela fêmea guarda.

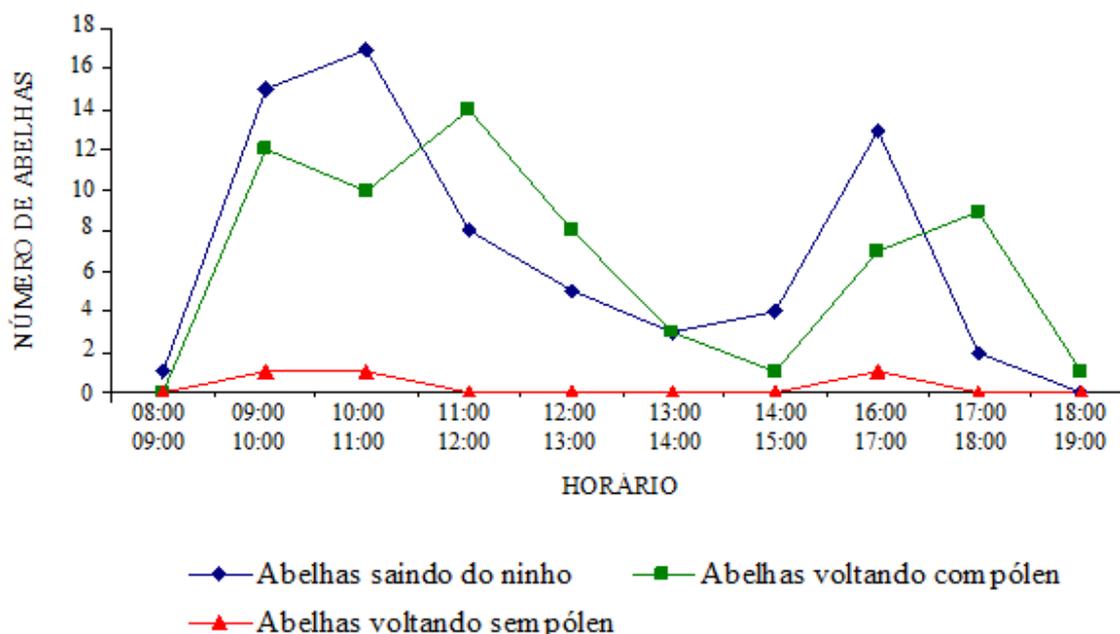


Figura 21. Atividade das fêmeas de oito ninhos de *Dialictus seabrai* observados no dia 07/01/2008.

Escavações de ninhos de *D. seabrai* permitiram detalhar o padrão arquitetônico de sete ninhos completos da espécie (Figura 22) e a análise minuciosa do seu conteúdo sob estereomicroscópio. Os ninhos consistem em um túnel principal construído horizontalmente com o diâmetro de 0,5 cm, do qual podem partir ramificações com o mesmo diâmetro. Tais túneis tiveram uma profundidade variando entre 14 e 21 cm, podendo apresentar curvas irregulares e inclinações para cima ou para baixo inferiores a 45° em relação ao plano da entrada do ninho. A entrada dos ninhos se apresentou mais estreita que os túneis, tendo em média 0,31 cm (n = 12 entradas). As células são

escavadas verticalmente, mas não são necessariamente perpendiculares aos túneis, podendo apresentar inclinações. Essas células tinham em média uma entrada de 0,28 cm; o maior diâmetro com 0,39 cm e a altura de 0,88 cm (n= 115 células).

As escavações foram feitas no mês de abril. Nessa época, a maior parte do material encontrado nas células foi imaturos na fase de pupa e poucas larvas de último instar já defecando ou terminando de se alimentar. A razão sexual das pupas encontradas foi de 1,8 fêmeas (n=33) por macho (n=18). Junto com os imaturos foram encontrados nas células colembolos, pequenos anelídeos e ácaros associados.

Dos sete ninhos escavados, três foram parasitados e marcados em fevereiro, sendo que dois deles (Figuras 22B e 22E) por *L. corupa* e um (Figura 22C) por *P. pumila*. Em abril, época em que as escavações foram realizadas, esses ninhos estavam aparentemente abandonados, sem pupas e adultos ativos ou em diapausa do hospedeiro e do parasita, mas a presença de casulos em algumas células confirma o parasitismo, já que como as demais espécies de Halictinae, *D. seabrai* tece casulo. Os demais ninhos escavados ainda estavam ativos, com imaturos e adultos do hospedeiro.

As células ocupadas por imaturos de *D. seabrai* sempre apresentaram fezes dispostas em camadas (Figura 23B), ao contrário das que foram encontrados casulos e se desenvolveram mutilídeos, onde os resíduos provenientes da alimentação desses imaturos estavam completamente dispersos (Figura 23C). Os casulos dos ninhos atacados por *P. pumila* (Figura 23F) eram ligeiramente mais longos que os de *L. corupa* (Figura 23E) e apresentaram uma pequena constrição na extremidade.

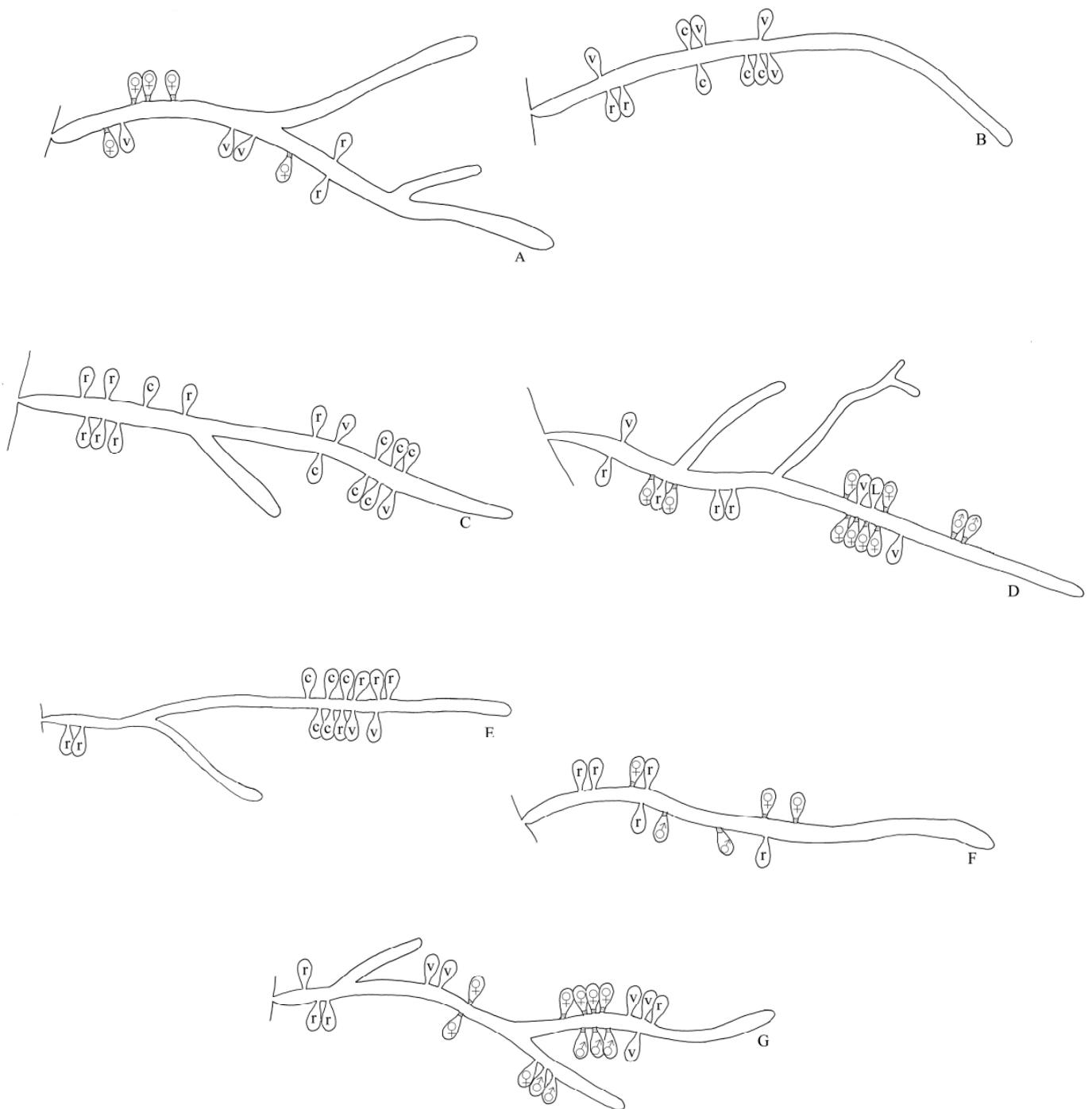


Figura 22. Padrão arquitetônico de sete ninhos de *Dialictus seabrai* escavados na área de estudo no mês de abril. **A, D, F, G** – ninhos não parasitados; **B, E** – ninhos parasitados por *Lophomutilla corupa*; **C** – ninho parasitado por *Pseudomethoca pumila*. ♀ = pupa de fêmea, ♂ = pupa de macho, c = casulo vazio, r = restos de pólen e fezes e v = célula vazia e limpa.



Figura 24. Material proveniente de ninhos de *D. seabrai* nas escavações realizadas em abril. **A** – Célula vazia; **B** – Célula com fezes disposta em camadas por um imaturo de *D. seabrai*; **C** – Célula com restos de pólen e fezes dispersos, onde havia um casulo; **D** – Células com casulos vazios; **E** – Morfologia típica dos casulos encontrados nos ninhos parasitados por *L. corupa*; **F** – Morfologia típica dos casulos encontrados no ninho parasitado por *P. pumila*. Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.

Fêmeas de *D. seabrai* coletaram pólen até o fim de março, com uma redução gradual e perceptível do forrageamento desde o começo desse mês, mas mesmo sem atividade de provisionamento de alimento para a prole, os ninhos continuaram ativos, com grande fluxo de entrada e saída de fêmeas nos ninhos, principalmente na parte da manhã. No dia 25 de abril, muitos machos da espécie (Figuras 24C e 24D) foram vistos patrulhando a agregação. Provavelmente esses machos emergiram no fim do período de atividade da espécie para copular com as fêmeas, que passariam o inverno em diapausa como adultas já fecundadas nos ninhos antigos. Em maio, mais um ninho foi escavado e aberto, possibilitando a coleta de cinco fêmeas adultas em diapausa presentes em células fechadas com um pouco de terra descompactada em sua entrada. A dissecação dessas fêmeas permitiu visualizar que quatro estavam inseminadas pela presença de espermatozoides na espermateca e uma delas estava com a espermateca aparentemente

vazia. Além das fêmeas em diapausa nas células, na entrada no ninho, logo após a entrada tapada com terra foi encontrada uma fêmea guarda seca e morta (Figura 25). Vestígios de ninhos antigos e abandonados coletados junto com os das escavações feitas em abril mostraram que as guardas além de fechar a entrada do ninho com terra no fim das atividades após o verão, permaneceram ali até a morte.

Durante as observações, foi possível registrar que além de Mutillidae, a espécie possui outros inimigos naturais. *Eustala* sp. (Araneae, Araneidae) esteve presente na área de nidificação em todos os meses de observação, tendo como hábito tecer teias em frente às entradas dos ninhos, o que funcionou como uma armadilha para as fêmeas de *D. seabrai* que muitas vezes ficavam presas na teia ao voltarem de suas viagens por bloquearem a entrada de seus ninhos de origem. Ao ficar presa na teia a abelha se debatia e quando estava com pólen perdia grande parte do que havia coletado, a aranha não tinha reação alguma. Caso a abelha não conseguisse escapar após se debater, quando ficava parada a aranha se aproximava lentamente e cortava suas asas e pernas, em seguida a enrolava em uma teia para provavelmente se alimentar posteriormente.

Lissonota sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae) (Figura 26A e 26B) também foi uma espécie muito comum na área. Fêmeas pousavam no substrato e inseriam o ovipositor diretamente no solo em busca de células para oviposição. Muitos machos da espécie também foram vistos patrulhando a área em vôos lentos, mas permaneceram a maior parte do tempo pousados sobre a vegetação.

Megaselia sp. (Diptera, Phoridae) (Figura 26C) foi observada tentando entrar em ninhos de *D. seabrai* (n=19), mas a fêmea guarda rapidamente bloqueava a entrada do ninho com o metassoma ou fechava com terra caso a mosca continuasse a tentar entrar. Ao contrário de *D. seabrai*, ninhos de *Augochloropsis* sp. (Hymenoptera, Apidae, Halictinae), que nidificou na área nos meses de dezembro, janeiro e novembro não possuem uma fêmea guardando a sua entrada e *Megaselia* sp. foi observada entrando sete vezes, utilizando-se da tática de entrar atrás da abelha, logo que esta chegava ao ninho.

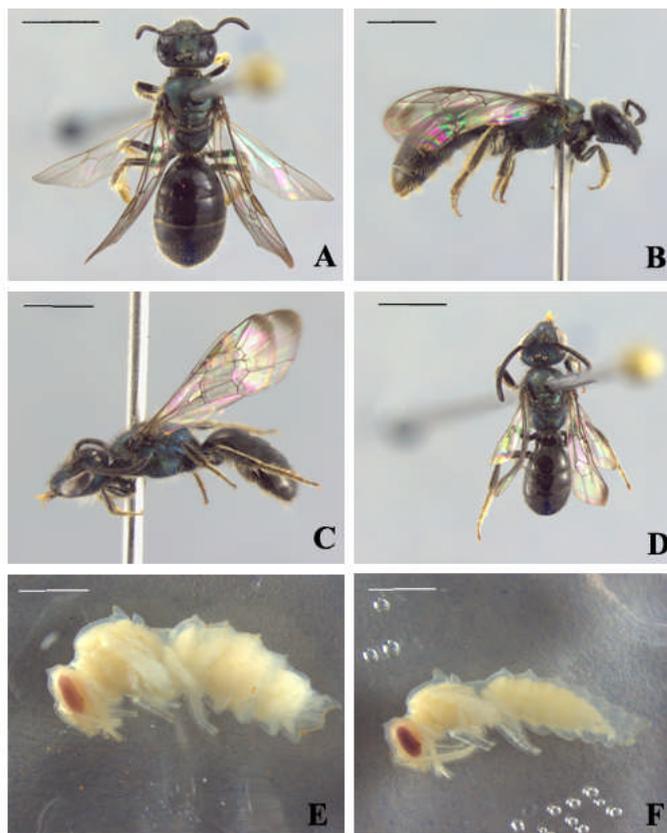


Figura 24. *D. seabrai*. **A** – fêmea, vista dorsal; **B** – fêmea, vista lateral; **C** – macho, vista lateral; **D** – macho, vista dorsal; **E** – pupa de fêmea; **F** – pupa de macho. (Escala: 2mm). Fotos: Vítor A. Nardino.

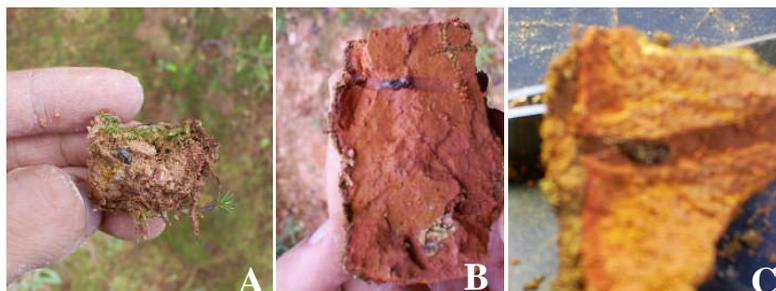


Figura 25. **A, B e C** – Fêmeas guarda de *D. seabrai* encontradas mortas nas entradas dos ninhos no período em que a espécie estava em diapausa (maio). Fotos: Antonio C. B. Bergamaschi.

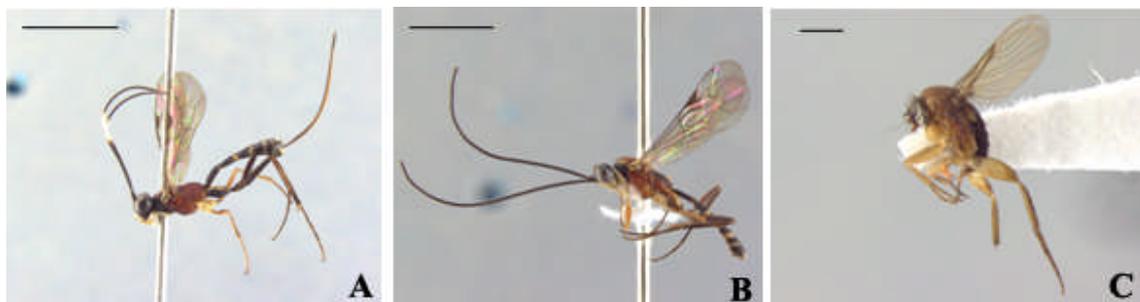


Figura 26. Demais inimigos naturais de *D. seabrai*. **A** – Fêmea de *Lissonota* sp vista lateral; **B** – Macho de *Lissonota* sp vista lateral; **C** – *Megaselia* sp. (Escala: 2mm). Fotos: Vitor A. Nardino.

5. DISCUSSÃO

5.1. ESTUDO COMPORTAMENTAL E ASSOCIAÇÃO SEXUAL DE MUTILLIDAE

A grande maioria dos estudos sobre Mutillidae é realizada através de coletas esporádicas sem o uso de uma metodologia sistematizada apresentando apenas relações de espécies novas e chaves de identificação para a região estudada, sem preocupação alguma na coleta de informações sobre a história natural dessas vespas. Grande parte das informações disponíveis sobre Mutillidae deriva de estudos tendo como objetivo principal a investigação da biologia de seus hospedeiros. O primeiro estudo no Brasil utilizando uma metodologia sistematizada foi realizado por GARCIA (2004) no período de um ano de coleta e investigando o comportamento da fauna de Mutillidae nos Mananciais da Serra. Esse estudo permitiu a coleta de 120 indivíduos, distribuídos em 27 espécies (10 representadas por machos e 17 por fêmeas). Dentre as três espécies consideradas no presente estudo, GARCIA (2004) coletou apenas uma fêmea de *P. pumila*, porém coletou outra espécie do gênero *Lophomutilla* Mickel, 1952 e outras duas espécies de *Lynchiatilla* Casal, 1963.

O comportamento das fêmeas caminhando com a cabeça abaixada e frequentemente batendo as antenas no solo em busca de ninhos de hospedeiros também foi descrito por BROTHERS (1972) em *P. frigida* e é aparentemente comum à família como um todo. Durante esta caminhada em busca de ninhos hospedeiros, as fêmeas ficam expostas aos predadores e frequentemente enfrentam conflitos com as espécies hospedeiras, como os ataques das guardas de *D. seabrai*. Por enfrentarem tais situações de perigo, as espécies do presente estudo, assim como as demais fêmeas de Mutillidae possuem uma grande variedade de mecanismos de defesa, entre eles um exoesqueleto muito duro, mandíbulas grandes e pontiagudas repelentes químicos segregados por glândulas mandibulares e uma picada particularmente dolorosa, tanto para atacar o hospedeiro como para se defender dele (SCHIMIDT & BLUM, 1977; FALES *et al.*, 1980; MANLEY, 1984; DEYRUP, 1988). Além dessas características, muitas espécies têm cores aposemáticas e parecem servir de modelos para vários artrópodos miméticos (BROTHERS, 2006a).

A maioria das espécies de Mutillidae e hospedeiros Halictinae parece se comportar de forma muito similar à descrita neste trabalho, ou seja, com fêmeas adultas de Mutillidae patrulhando áreas de nidificação e geralmente não obtendo sucesso nas tentativas de entrar em ninhos guardados e frequentemente sendo atacadas e afugentadas pelas abelhas. Segundo KNERER & ATWOOD (1967) a maioria dos mutilídeos associados com Halictinae eussociais tende a ter cabeças grandes, com mandíbulas longas, que podem ser eficientes quando interagem com as abelhas guarda. Tais características morfológicas são observadas em *L. corupa* e *P. pumila* e provavelmente contribuíram para que essas vespas saíssem sem lesões após as brigas de mandíbulas com as fêmeas guarda do hospedeiro *D. seabrai*.

Descrições de comportamentos de corte e cópula em mutilídeos são raras. Segundo LINSLEY *et al.* (1955) a corte dessas vespas parece ser muito simples. SPANGLER & MANLEY (1978) descreveram que machos de *Dasymutilla foxi* (Cockerell, 1894) fazem vibrar as asas até produzir um som grave e durante a cópula se escutam ruídos alternados de machos e fêmeas. Nas observações durante os ensaios realizados para a associação sexual das espécies do presente estudo tais ruídos não foram observados. LINSLEY *et al.* (1955), observando *Dasymutilla formicata* Rohwer registraram três machos sobrevoando ao redor de uma fêmea, sendo que aquele que estava mais próximo se dirigiu rapidamente e iniciou a cópula sem qualquer comportamento de corte prévio; a cópula durou cerca de cinco segundos e os dois machos restantes deixaram o local logo que a cópula iniciou. BROTHERS (1972), em observações no campo e em ensaios experimentais colocando machos e fêmeas de *P. frigida* em uma placa de Petri, relatou que ao se aproximar da fêmea o macho fica muito agitado e corre rapidamente, mantendo as asas ligeiramente abertas em um ângulo de 45°. O macho sobe no dorso da fêmea, segurando-a com as pernas e prendendo-a com as mandíbulas na base do metassoma, mas permanece segurando-a apenas com as pernas dianteiras. O tempo desse procedimento dependeu da receptividade da fêmea. A fêmea continuou andando por um tempo carregando o macho, ou, especialmente no início do processo, tentou desalojá-lo, empurrando-o com as pernas posteriores. As cópulas duraram até 15 segundos. No presente estudo, *L. corupa* copulou por até 2'26", *P. pumila* 58" e *Lynchiatilla* sp. n. 1'31". Observações feitas com outros Sphaerophthalminae apontaram que estes normalmente têm cópulas curtas com menos de um minuto de duração, baseando-se nos gêneros *Dasymutilla* Ashmead, 1899 (COTTREL, 1936; LINSLEY *et al.*, 1955), *Photopsis* Blake, 1886 (FERGUSON, 1962)

e *Pseudomethoca* Ashmead, 1896 (BROTHERS, 1972). Ao contrário, nos Mutillinae como *Timulla* Ashmead, 1899 (LINSLEY, 1960; SHELDON, 1970) e *Smicromyrme* Thomson, 1870 (BERTKAU, 1884; PAGDEN, 1934) e os Rhopalomutillinae como *Rhopalomutilla* André, 1901 (BRIDWELL, 1917; PAGDEN, 1938), a cópula dura por um longo período, se estendendo por até mais de uma hora e o macho transporta a fêmea em vôo, pelo menos antes ou durante a cópula.

5.1.1. *Lophomutilla corupa*

O gênero *Lophomutilla* se distribui do sul do México ao norte da Argentina e possui 21 espécies e duas subespécies descritas (QUINTERO & CAMBRA, 1996a). Dados biológicos referentes ao gênero são escassos na literatura. Foi inicialmente descrito por MICKEL (1973) como *Paramutilla* (sinônimo júnior de *Lophomutilla* de acordo com QUINTERO & CAMBRA, 1996b), baseado em um espécime de *Paramutilla halicta*, hoje *Lophomutilla halicta*, coletado em um ninho de *Augochlorella edentata* Michener, 1954 (Hymenoptera, Apidae). GONZALEZ & ENGEL (2004) estudando abelhas tropicais andinas do Peru e Venezuela, encontraram uma espécie ainda não descrita de *Lophomutilla* atacando ninhos de *Neocorynura* sp. (Hymenoptera, Apidae). Até então apenas esses dois hospedeiros foram registrados para o gênero. Estudando aspectos biológicos de *Monoeca haemorrhoidalis* Smith, 1854 (Hymenoptera, Apidae) na área dos Mananciais da Serra ROCHA FILHO (2007) registrou as espécies *L. lenkoi* Suarez, 1962; *L. mickeli* Suarez, 1962 e *L. corupa*, identificada erroneamente como *L. staphyloma* (Gerstaecker, 1874) (Roberto Cambra, comunicação pessoal) em agregações desta abelha. Entre essas espécies coletadas, sugeriu apenas que *L. mickeli* estivesse associada a *M. haemorrhoidalis* por inspecionar ninhos recém construídos e baseando-se na comparação do seu tamanho corporal e o do hospedeiro.

Em quatro das cinco tentativas bem sucedidas em que fêmeas de *L. corupa* conseguiram entrar em ninhos de *Dialictus seabrai*, permaneceram no seu interior até o fim da tarde, provavelmente pernoitando no local. O mesmo aconteceu em uma das duas tentativas bem sucedidas de *P. pumila*. É provável que as fêmeas de Mutillidae adquiram seu odor quando entram no ninho e então passam a não ser mais molestadas pelo hospedeiro (BROTHERS, 1972). Segundo KROMBEIN (1992), as espécies de

Mutillidae que atacam ninhos de himenópteros com muitas células podem passar dias no seu interior indo de uma célula a outra. *L. corupa* e *P. pumila* permaneceram muito tempo dentro dos ninhos de *D. seabrai*, mesmo se tratando de ninhos pequenos e com poucas células como mencionado nos resultados.

Em uma das observações em que *L. corupa* entrou no ninho de *D. seabrai*, uma abelha morta foi carregada por formigas em seguida. Existem registros de abelhas mortas durante o conflito que precede a entrada da fêmea parasita no ninho hospedeiro que sugerem que fêmeas da espécie *P. frigida* podem ferroadar as guardas. MELANDER & BRUES (1903) registraram ferozes batalhas entre *P. frigida* e *D. zephyrum* (Smith, 1853), citada como *Halictus (Chloralictus) pruinosus*, e algumas abelhas saíram mortas, sem apresentação de detalhes de como se deram esses conflitos. LIN (1964), estudando o parasitismo de *P. frigida* em ninhos de *D. zephyrum*, descreveu conflitos, onde as guardas saíam do ninho para atacar a fêmea parasita, salientando que normalmente logo que a guarda saía do ninho, outra imediatamente assumia sua posição. Em dois desses conflitos a guarda foi encontrada morta o que LIN (1964) atribuiu a ferroadas de *P. frigida*. BROTHERS (1972) também estudando essas duas espécies, descreveu ataques a *P. frigida* quanto estas se aproximavam cerca de um centímetro do ninho. Esses ataques consistiram em segurar o mutilídeo com as pernas e pressioná-lo com as mandíbulas. Aparentemente não houveram tentativas das guardas de *D. zephyrum* ferroadarem *P. frigida*, o que de fato não teria efeito algum pela resistência do tegumento dos mutilídeos. Um desses ataques resultou na morte de uma guarda, o que BROTHERS (1972) também associou a uma ferroadada de *P. frigida*. KNERER & ATWOOD (1967) encontraram uma fêmea adulta de *P. frigida* em quatro ninhos de *Evyllaes cinctipes* (Provancher, 1888) (Hymenoptera, Apidae, Halictinae), embora os ninhos estivessem protegidos por fêmeas guarda quando foram observados antes das escavações. Em um desses ninhos escavados, uma operária foi encontrada morta, provavelmente após o conflito com *P. frigida*.

Lophomutilla corupa entrou sem dificuldade alguma no ninho hospedeiro em uma das observações, sem que a guarda apresentasse resistência alguma à sua entrada. ORDWAY (1964) coletando informações sobre os inimigos naturais de *Augochlorella striata* (Provancher, 1888) e *A. persimilis* (Viereck, 1910) (Hymenoptera, Apidae), abelhas com biologia muito semelhante e nidificaram juntas nas mesmas agregações, registrou que as guardas dessas espécies aparentemente não demonstraram resistência à entrada de fêmeas de *P. frigida* e *Myrmilloides grandiceps* (Blake, 1872). Segundo a

descrição de ORDWAY (1964) a fêmea de Mutillidae se aproximou da entrada e a guarda não reagiu. O mutílídeo colocou a cabeça na entrada, rapidamente se afastou e continuou a caminhar ao redor; logo em seguida retornou, e dessa vez entrou no ninho. Em seguida uma abelha novamente foi vista na entrada e continuou a guardar o ninho. Apesar de esses mutílídeos entrarem com facilidade no ninho hospedeiro, ORDWAY (1964) inferiu que sua taxa de parasitismo é baixa, pois 88 ninhos foram escavados e apenas seis continham larvas ou casulos de Mutillidae.

A maior parte dos estudos de comportamento animal indica que tanto vertebrados quanto invertebrados tem a necessidade de retornar a um local previamente visitado para copular, nidificar, forragear ou evitar a ação de predadores, ao contrário dos mutílídeos, que são parasitóides cursoriais (VANDERSAL, 2008). Através da marcação de cavidades, escavadas por fêmeas de *L. corupa*, e de depressões no substrato onde estavam se alojando no fim da tarde foi possível confirmar a suposição de que, como outras espécies da família, esta espécie também não possui uma rota fixa ou um local onde volte para passar a noite, se proteger ou outras atividades. Segundo VANDERSAL (2008) por andarem grandes distâncias para encontrar cavidades de hospedeiros e visitarem cada cavidade apenas uma vez fêmeas de Mutillidae constroem ou encontram um lugar para dormir diferente a cada dia. Não há informação alguma na literatura a respeito de onde os machos passam a noite.

Lophomutilla corupa foi observada se alimentando, em grupos, de solução açucarada liberada por afídeos na vegetação local. É comum fêmeas de uma ou várias espécies de Mutillidae visitarem plantas infestadas por afídeos para forragear (KROMBEIN, 1951; INVREA, 1964). Provavelmente além da alimentação essas agregações tinham a função de atrair machos para o local, pois enquanto se alimentavam, essas fêmeas constantemente movimentavam o metassoma para cima e para baixo. Nessas observações de forrageamento em grupo machos de *L. corupa* foram observados patrulhando a planta. Segundo KROMBEIN & NORDEN (1996) algumas fêmeas de *Ephuta* (Say, 1836) quando estão prontas para cópula começam a caminhar mais devagar do que o normal, movimentando o metassoma para cima e para baixo, colocando-o em posição quase vertical quando em repouso e acredita-se que esses movimentos sejam responsáveis pela liberação de algum feromônio sexual.

A realização de testes de associação sexual permitiu o registro do macho da espécie que até então era desconhecido. Um fato intrigante foi que quatro fêmeas copularam com mais de um macho. Segundo BROTHERS (1972) a atratividade das

fêmeas virgens pode ser causada por alguma secreção, que é mascarada ou anulada por outra secreção produzida após a cópula. BROTHERS (1972) conduziu testes experimentais com *P. frigida* e notou que a atratividade das fêmeas diminui logo após a cópula, pois macho e fêmea foram mantidos na mesma arena, sendo que poucos minutos após a cópula os machos ainda demonstraram interesse e se aproximaram da fêmea, mas desistiam em poucos segundos; nas horas seguintes notou-se que a atratividade da fêmea diminuía cada vez mais e no dia seguinte essas fêmeas já não provocavam resposta alguma nos machos. BROTHERS (1972) não mencionou ensaios com fêmeas oferecidas a mais de um macho, como no presente estudo. Das quatro fêmeas de *L. corupa* que copularam com mais de um macho, uma copulou pela segunda vez no mesmo dia, cerca de quatro horas após a primeira cópula e as demais copularam em dias diferentes. Cabe ressaltar que os testes foram conduzidos em condições artificiais e que é possível que no ambiente natural essas fêmeas se comportem de outra forma, pois o fato de não estarem confinadas em uma arena permite que escapem dos machos com mais facilidade.

5.1.2. *Pseudomethoca pumila*

O gênero *Pseudomethoca* é um dos mais abundantes de Mutillidae e encontra-se distribuído desde o Canadá até a Argentina. É representado por um grande número de espécies nas Américas Central e do Sul, sendo que a maioria delas ainda não foi descrita (KROMBEIN, 1992). A história natural de algumas espécies deste gênero já foi investigada e sabe-se que seus representantes são generalistas, podendo parasitar um amplo espectro de abelhas: *Andrena* Fabricius, 1775; *Augochlora* Smith, 1853; *Augochlorella* Sandhouse, 1937; *Agapostemon* Guérin-Méneville, 1844; *Dialictus* Robertson, 1902; *Exomalopsis* Spinola, 1853; *Halictus* Latreille, 1804; *Lasioglossum* Curtis, 1833; *Melissodes* Latreille, 1829; *Nomada* Scopoli, 1770; *Nomia* Latreille, 1804; *Perdita* Smith, 1853 e *Pseudopanurgus* Cockerell, 1897 (MELANDER & BRUES, 1903; LIN, 1964; BATRA, 1965; MICHENER & WILLE, 1961; KNERER & ATWOOD, 1967; MICKEL, 1969; BROTHERS, 1972, 1982; BREED, 1975; KROMBEIN, 1992; BROTHERS *et al.* 2000; NORDEN *et al.* 2003).

Apesar de ser um gênero bem representado na região Neotropical, poucos hospedeiros foram registrados até então. MICKEL (1969) registrou *P. willei* Mickel,

1969 emergindo de células de *Dialictus umbripennis* (Ellis, 1913). BROTHERS (1982) descreveu *P. hesperus* Brothers, 1982 mencionando que fêmeas foram observadas repetidamente tentando entrar nos sítios de nidificação de *Halictus hesperus* Smith, 1862.

Os registros de BROTHERS (1972), LIN (1964) e MICKEL (1969), citados acima, relacionam espécies de *Pseudomethoca* a hospedeiros do gênero *Dialictus*, assim como a aqui proposta entre *P. pumila* e *D. seabrai*. A espécie *P. pumila* não possui informação alguma na literatura desde a sua descrição.

Segundo BROTHERS (1972) fêmeas de Mutillidae podem selecionar seus hospedeiros através do porte. De encontro a isso a associação entre *L. corupa* e *P. pumila* ao hospedeiro *D. seabrai* é perfeitamente justificável por se tratarem de espécies pequenas e do mesmo porte. No entanto, um dos espécimes de *P. pumila* coletados possui o tamanho maior do que o padrão observado nos demais coletados e observados em campo. Segundo MICKEL (1924) existem variações de tamanho entre indivíduos da mesma espécie de inseto e essas variações no tamanho podem ser geradas devido a fatores genéticos ou ecológicos. Um dos principais fatores ecológicos sugeridos como causa para a variação no tamanho de indivíduos da mesma espécie é a nutrição, que inclui a quantidade e qualidade de alimento. Segundo DEYRUP & MANLEY (1986) entre os parasitóides solitários, a variação do tamanho do inseto adulto é limitada pelo tamanho do hospedeiro consumido pela larva. Dentro de uma mesma espécie de Mutillidae, e inclusive dentro de uma mesma população e mesmo sexo, os espécimes podem variar consideravelmente de tamanho, sendo que a consequência dessas diferenças é a quantidade de alimento que se dispõe para a larva (BROTHERS, 2006a). Como mencionado anteriormente, as espécies do gênero *Pseudomethoca* são generalistas; sendo assim é provável que a *P. pumila* ataque outro hospedeiro na área além de *D. seabrai*.

Além da variação no tamanho das fêmeas foi notável a diferença de tamanho encontrada entre os sexos em *P. pumila*, onde os machos foram maiores que as fêmeas reforçando a idéia de que a espécie é generalista e que os machos e algumas fêmeas podem ser gerados a partir de hospedeiros maiores que *D. seabrai*. Segundo MATTEWS (1997) algumas espécies de Mutillidae usam diferentes espécies de hospedeiros para cada sexo.

5.1.3. *Lychiatilla* sp. n.

O gênero *Lynchiatilla* possui a biologia totalmente desconhecida. Até então foram descritas dez espécies para o gênero (CASAL, 1963; FRITZ, 1992) com distribuição no Brasil, Argentina (CASAL, 1963) e Paraguai (FRITZ, 1992; QUINTERO & CAMBRA, 1996b).

FRITZ (1992) descreveu o único macho do gênero conhecido até então, pertencente à espécie *Lynchiatilla tacana* Casal, 1963. Essa associação sexual foi baseada na observação de muitos exemplares em atitude de pré-cópula, sem detalhes adicionais e esse macho foi incluído na chave genérica de mutilídeos neotropicais de BROTHERS (2006b).

5.2. ASPECTOS BIOLÓGICOS DO HOSPEDEIRO *Dialictus seabrai*

Dialictus possui centenas de espécies de coloração verde opaca que ocorrem do norte ao sul das Américas, com poucas espécies na região Paleártica. O gênero pertence ao complexo *Lasioglossum* e é frequentemente tratado como um subgênero deste. Ninhos de mais de 20 espécies foram estudados e revisados por SAKAGAMI & MICHENER, 1962; MICHENER, 1966 e EICKWORT, 1969. Tanto espécies sociais como solitárias ocorrem no gênero. Apesar de possuírem morfologia muito semelhante entre si, essas espécies apresentam comportamento social bem diverso.

Dialictus seabrai foi descrita originalmente como *Chloralictus seabrai* por MOURE (1956), baseando-se em espécimes coletados na Floresta da Tijuca (Rio de Janeiro) em 1950. A espécie se diferencia das demais do gênero pela presença de uma fraca mancha escura nas pontas das asas e também foi registrada na região de Curitiba por MICHENER *et al.* (1958) e SAKAGAMI & MOURE (1967) e na Colômbia por MICHENER (1979).

Dados da literatura até então indicavam que *D. seabrai* constrói ninhos isolados ou formam pequenas agregações e nenhuma agregação, tão grande como a do presente estudo, foi registrada até então para a espécie. MICHENER *et al.* (1958) estudaram a distribuição de ninhos de abelhas em barrancos terrosos em localidades próximas ao município de Curitiba e das 451 parcelas estudadas, foram encontrados seis ninhos de

D. seabrai, sendo três juntos na mesma localidade e três isolados em localidades diferentes.

MICHENER & SEABRA (1959) observaram ninhos desta espécie na Floresta da Tijuca no Rio de Janeiro e em Curitiba, e descreveram sua estrutura como sendo muito semelhante a *Dialictus rhytidophorus* (Moure, 1956) (descrito com detalhes em MICHENER & LANGE, 1958), exceto pelo menor tamanho do ninho de *D. seabrai*, justificado pela diferença de tamanho entre as duas espécies e o número de abelhas ocupando o ninho, que é maior em *D. rhytidophorus*. Tais descrições se assemelham às dos ninhos encontrados no presente estudo.

MICHENER & SEABRA (1959) encontraram ninhos de *D. seabrai* com uma profundidade máxima de 17 cm, enquanto no presente estudo essa profundidade chegou a 21 cm. Segundo MICHENER (1966) espécies de *Dialictus* que vivem em habitats úmidos e quentes como *Dialictus guaruvae* Moure, 1987, *Dialictus opacum* (Moure, 1940), *D. rhytidophorus* e *D. seabrai* constroem ninhos rasos, enquanto as que vivem onde o solo é úmido na primavera, mas vai tornando-se seco conforme a estação avança, as células são construídas em níveis bem mais profundos.

SAKAGAMI & MOURE (1967) coletaram mais cinco ninhos de *D. seabrai*, todos contendo estágios imaturos e fêmeas adultas em atividade. Com relação ao padrão arquitetônico, a estrutura dos ninhos escavados por esses autores não dão informação adicional alguma além das obtidas por MICHENER & SEABRA (1959); exceto para uma importante característica: a reutilização de células previamente construídas e utilizadas. Foram encontradas células aparentemente novas e algumas ainda em construção, no entanto haviam também células com resto de fezes no fundo, cobertas por uma fina camada de terra. Em algumas células, o resto de fezes estava parcialmente coberto, indicando que a construção da fina camada estava em andamento. No presente estudo, assim como no de MICHENER & SEABRA (1959) não foram encontradas células de *D. seabrai* reutilizadas dessa forma.

Nos ninhos de *D. seabrai* acompanhados no presente estudo, foi observado que até quatro fêmeas adultas ocuparam o mesmo ninho. No estudo de MICHENER & SEABRA (1959) o número de abelhas por ninho variou de uma a três, com uma média de 1,6 para 11 ninhos. SAKAGAMI & MOURE (1967) encontraram de quatro a cinco fêmeas adultas, indicando que o número de abelhas dessa espécie ocupando o mesmo ninho pode ser maior do que o encontrado por MICHENER & SEABRA (1959) e neste estudo.

A marcação e acompanhamento dos ninhos desde o início da construção, permitiu observar muitos ninhos sendo construídos próximos a ninho mais antigos assim que a primeira geração emerge. Segundo MICHENER *et al.* (1958) alguns fatores ambientais como declividade da superfície, exposição ao sol e tipo de solo são de grande importância para a determinação de locais para nidificação, mas é provável que agregações resultem de uma tendência das abelhas se agregarem quando presentes áreas de nidificação apropriadas e extensas o suficiente, sendo notável a propensão de abelhas jovens retornarem à vizinhança do ninho de seus progenitores para construir ninhos novos. Algumas hipóteses sugerem que o fato das abelhas se agregarem em uma mesma área para nidificar estaria relacionado à proteção contra o ataque de predadores e parasitas, além de propiciarem maior eficiência de cópulas e sucesso garantido na nidificação em áreas já testadas e comprovadas serem bem sucedidas (LIN, 1964; ALEXANDER, 1974; MICHENER, 1974). Por outro lado, alguns autores (LINSLEY, 1958; WCISLO, 1984). acreditam que o comportamento gregário das abelhas seria uma desvantagem ao seu valor adaptativo por propiciar uma maior concentração de inimigos naturais em um mesmo local.

Até então o único inimigo natural registrado para a espécie é o cleptoparasita *Microsphecodes russeicypeatus* (SAKAGAMI & MOURE, 1962) (Hymenoptera, Apidae). No presente estudo tais abelhas não foram encontradas, mas outros inimigos naturais foram registrados, entre eles: a aranha *Eustala* sp., o ichneumonídeo *Lissonota* sp., os mutilídeos *L. corupa* e *P. pumila* e provavelmente o forídeo *Megaselia* sp. que constantemente tentou entrar nos ninhos, mas sem nenhuma tentativa bem sucedida registrada.

A ausência de pólen e de imaturos nas fases iniciais de desenvolvimento nas células observadas nas escavações de abril confirmam que as fêmeas de *D. seabrai* estavam se preparando para entrar em diapausa, pois já não estavam mais coletando pólen desde o fim de março. Coincidentemente em abril, muitas fêmeas de *L. corupa* e *P. pumila* ainda foram vistas na agregação, mas desde o fim de março nenhuma tentativa de parasitismo foi registrada. Provavelmente essas fêmeas de Mutillidae passaram para a fase adulta e estavam à procura de outro lugar, fora do ninho hospedeiro de origem, para passar o inverno em diapausa. Há relatos de fêmeas do gênero *Dasymutilla* encontradas em diapausa na fase adulta, indicando que isso é possível para outras espécies da família, incluindo *L. corupa* e *P. pumila*. POTTS & SMITH (1944) encontraram espécimes de *Dasymutilla aureola pacifica* (Cresson) em

diapausa na fase adulta na Califórnia (Estados Unidos) em dezembro, durante o inverno. EVANS & MILLER (1969) observaram fêmeas de *Dasymutilla nigripes* (Fabricius) marcadas como adultas em diapausa em Michigan (Estados Unidos).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo de 11 meses em mais de 200 horas de observação no campo foram coletados 100 vespas pertencentes à família Mutillidae, dentre as quais as espécies mais representativas foram *Lophomutilla corupa*, *Pseudomethoca pumila* e *Lynchiatilla* sp. n., das quais foi possível obter informações relevantes sobre a história natural e associação sexual.

Lophomutilla corupa e *P. pumila* mostraram-se associadas ao hospedeiro *D. seabrai*. Essas espécies de Mutillidae apresentaram comportamentos complexos e ainda não registrados até mesmo para outras espécies da família, como brigas de mandíbulas e ferrão com a espécie hospedeira.

A marcação de locais onde *L. corupa* se alojou no fim da tarde confirmou a teoria de que essas vespas, assim como as demais da família, comportam-se como parasitóides cursoriais, sem uma rota ou local fixo onde costumam retornar para passar a noite ou realizar outras atividades.

A execução de testes experimentais de associação sexual, permitiu indicar o macho das três espécies envolvidas nesse trabalho e indicou que fêmeas de *L. corupa* podem copular mais de uma vez e com machos diferentes, contrastando com os dados disponíveis na literatura até então.

Uma espécie nova foi registrada para o gênero *Lynchiatilla*, que junto com sua associação sexual fornece dados para um trabalho posterior de descrição da espécie.

Foram obtidos também dados relativos a biologia da principal espécie nidificante na área de estudo, *Dialictus seabrai*. A literatura indicava até então que a espécie forma pequenas agregações ou ninhos isolados, contrastando com a grande agregação encontrada nos Mananciais da Serra. A dissecação de ninhos da espécie, além de concordar com o padrão arquitetônico descrito em trabalhos anteriores, confirmou o parasitismo de Mutillidae pela presença de casulos em suas células. Tais escavações feitas no mês de abril e imaturos de Mutillidae não foram encontrados nos ninhos abertos. Coincidentemente nessa época não foram registradas tentativas de parasitismo, tanto por *L. corupa* quanto por *P. pumila*, indicando que essas espécies passam o inverno em diapausa como adultas fora do ninho hospedeiro.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, R. D. 1974. The evolution of social behavior. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 5: 326-383.
- ALTMANN, J. 1974. Observational study of behavior: Sampling methods. **Behaviour**, 49: 227-267.
- BAYLISS, P. S. & D. J. BROTHERS. 1996. Biology of *Tricholabiodes* Radoszkowski in Southern Africa, with a new synonymy and review of recent biological literature (Hymenoptera: Mutillidae). **Journal of Hymenoptera Research**, 5: 249-258.
- BERTKAU, P. 1884. Die Begattung von *Mutilla ephippium*. **Biologisches Zentralblatt** 3: 722-724.
- BREED, M. D. 1975. Life cycle and behavior of a primitively social bee, *Lasioglossum rohweri* (Hymenoptera, Halictidae). **Journal of Kansas Entomological Society**, 48: 64-80.
- BRIDWELL, J. C. 1917. *Rhopalomutilla clavicornis*. **Proceedings of the Hawaiian Entomological Society**, 3: 260.
- BROTHERS, D. J. 1972. Biology and immature stages of *Pseudomethoca f. frigida*, with notes on other species (Hymenoptera: Mutillidae). **University of Kansas Science Bulletin**, 50: 1-38.
- BROTHERS, D. J. 1975. Phylogeny and classification of the aculeate Hymenoptera, with special reference to Mutillidae. **University of Kansas Science Bulletin**, 50 (11): 483-648.
- BROTHERS, D. J. 1978. Biology and immature stages of *myrmosula parvula* (Hymenoptera: Mutillidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, 51: 698-710.
- BROTHERS, D. J. 1982. Two new species of Mutillidae Associated with *Halictus hesperus* (Halictidae) in Panama (Hymenoptera). **Sociobiology**, 7: 205-212.
- BROTHERS, D. J. 1984. Gregarious parasitoidism in Australian Mutillidae (Hymenoptera). **Australian Entomological Magazine**, 11: 8-10.
- BROTHERS, D. J. 1989. Alternative life-history styles of mutillid wasps (Insecta, Hymenoptera) *In*: Bruton, M. N. **Alternative Life-History Styles of Animals**. Kluwer Academic Publishers, 279-291.

- BROTHERS, D. J. 1999 Phylogeny and evolution of wasps, ants and bees (Hymenoptera, Chrysidoidea, Vespoidea and Apoidea). **Zoologica Scripta**, 28: 233-249.
- BROTHERS, D. J. 2006a. Familia Mutillidae, p. 586-593. *In*: P. E. HANSON & I. D. GAULD. **Hymenoptera de la región neotropical**. The American Entomological Institute, 994p.
- BROTHERS, D. J. 2006b. Familia Mutillidae, p. 577-593. *In*: F. Fernández, & M. J. Sharkey. **Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical**. Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 894 p.
- BROTHERS, D. J.; G. TSCHUCH & F. BURGER, 2000. Associations of mutillid wasps (Hymenoptera, Mutillidae) with eusocial insects. **Insectes sociaux**, 47: 201-211.
- CASAL, H. C. 1963. Mutillidae Neotropicales XIX (Hymenoptera). Las especies del nuevo genero *Lynchiatilla*. **Acta Zoologica Lilloana**, 19: 343-383.
- CLAUSEN, C. P. 1940. **Entomophagous insects**, 688p. McGraw Hill, New York.
- COSTA-NETO, E. M. 2002. The use of insects in folk medicine in state of Bahia, Northeastern Brazil, with notes on insects reported elsewhere in Brazilian folk medicine. **Human Ecology**, 30: 245-263.
- DEYRUP, M. 1988. Review of adaptations of velvet ants (Hymenoptera: Mutillidae). **Great Lakes Entomologist**, 21: 1-4.
- DEYRUP, M. & D. MANLEY. 1986. Sex-biased size variation in velvet ants (Hymenoptera: Mutillidae). **Florida Entomologist**, 69: 327-335.
- DEYRUP, M. & D. MANLEY. 1990. Seasonal flight activity of male velvet ants (Hymenoptera: Mutillidae) in south Florida. **Entomological News**, 101(2): 99-108.
- DUNCAN, F. D. & J. R. B. LIGHTON. 1997. Discontinuous ventilation and energetics of locomotion in the desert-dwelling female mutillid wasp, *Dasymutilla gloriosa*. **Physiological Entomology**, 22: 310-315.
- EICKWORT, G. C. 1969. Tribal positions of Western Hemisphere genen sweat bees, with comments on their nest architecture (Hymenoptera: Halictidae). **Annals of the Entomological Society of America**, 62: 652-660.
- EMBRAPA. 1986. **Zoneamento ecológico para plantios florestais no Estado do Paraná**. Curitiba, EMBRAPA, 89p.
- EVANS D. A. & B. R. MILLER. 1969. A note on adult overwintering of *Dasymutilla nigripes* in Michigan (Hymenoptera: Mutillidae). **Michigan Entomologist**, 2: 74.

- FALES, H. M., T. M. JAOUNI, J. O. SCHIMIDT & M. S. BLUM. 1980. Mandibular gland allomones of *Dasymutilla occidentalis* and other mutillid wasps. **Journal of Chemical Ecology**, 6: 895-903
- FERGUSON, W. E. 1962. Biological characteristics of the mutillid subgenus *Photopis* Blake and their systematic values (Hymenoptera). **University of California publications in Entomology**, 27: 1-92.
- FRITZ, M. A. 1992. Sobre mutilidos neotropicales nuevos y conocidos (Hymenoptera: Mutillidae). **Gayana zoologica**, 56: 13-19.
- GARCIA, E. Q. 2004. **Diversidade, sazonalidade, aspectos comportamentais e associação sexual de Mutillidae (Hymenoptera, Aculeata) dos Mananciais da Serra, Piraquara, Paraná, Brasil**. Dissertação de Mestrado. Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, 65p.
- GONZALEZ, V. H. & M. S. ENGEL. 2004. The tropical Andean bee fauna (Insecta: Hymenoptera: Apoidea) with examples from Colombia. **Entomologische Abhandlungen**, 62: 65-75.
- INVREA, F. 1964. Mutillidae – Myrmosidae. **Fauna d' Italia**, 5: 1-303.
- ITCF. 1987. **Plano de gerenciamento da Área Especial de Interesse Turístico do Marumbi**. Curitiba, Instituto de Terras, Cartografia e Florestas do Paraná, 105p.
- JELLISON, W. L. 1982. Concentrations of mutillid wasps Hymenoptera Mutillidae. **Entomological News**, 93: 27-8.
- KNERER, G. & C. E. ATWOOD. 1967. Parasitization of social halictine bees in Southern Ontario. **Proceedings of the Entomological Society of Ontario**, 97:102-110.
- KROMBEIN, K. V. 1951. Wasp visitors of tulip-tree honeydew at Dunn-Loring, Virginia. **Annals of the Entomological Society of America**, 41: 141-143.
- KROMBEIN, K. V. 1992. Host relationships, ethology and systematics of *Pseudomethoca* Ashmead (Hymenoptera: Mutillidae, Andrenidae, Halictidae and Anthophoridae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, 94: 91-106.
- KROMBEIN, K. V. & B. B. NORDEN. 1996. Behavior of nesting *Episyron conterminus posterus* (Fox) and its cleptoparasite *Ephuta s. slossonae* (Fox) (Hymenoptera: Pompilidae, Mutillidae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, 98: 188-194.

- KROMBEIN, K. V.; P. D. HURD; D. R. SMITH & B. D. BURKS. 1979. **Catalog of Hymenoptera in America North of Mexico**. Smithsonian Institution Press, 2735 p.
- LACERDA, A.E.B. 1999. **Levantamento florístico e estrutural de vegetação secundária em área de contato da Floresta Ombrófila Densa e Mista - PR**. Dissertação de Mestrado. Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, 114p.
- LELEJ, A. S. & D. J. BROTHERS. 2008. The genus-group names of Mutillidae (Hymenoptera) and their type species, with a new genus, new name, new synonymies, new combinations and lectotypifications. **Zootaxa**, 1889:1-79.
- LELEJ, A. S. & P. G. MENKOV. 1997. Phylogeny, evolution and classification of Mutillidae (Hymenoptera). **Far Eastern Entomologist**, 46: 1-24.
- LENKO, K. & N. PAPAVERO. 1979. **Insetos no Folclore**. São Paulo, Conselho Estadual de artes e Ciências Humanas, 518 p.
- LIN, N. 1964. Increased parasitic pressure as a major factor in the evolution of social behavior in halictine bees. **Insectes Sociaux**, 11: 187-192.
- LINSLEY, E.G. 1958. The ecology of solitary bees. **Hildargia**, 27: 543-591.
- LINSLEY, E. G. 1960. A fragmentary observation on the mating behavior of *Timulla* (Hymenoptera: Mutillidae). **The Pan-Pacific Entomologist**, 36: 36.
- LINSLEY, E. G., J. W. MACSWAIN & R. F. SMITH. 1955. Observations on the mating habits of *Dasymutilla formicalia* Rohwer (Hymenoptera: Mutillidae). **Canadian Entomologist**, 87: 411-413.
- MAAK, R. 2002. **Geografia física do Estado do Paraná**. Curitiba, Imprensa Oficial, 3ª ed. 440p.
- MANLEY, D. G. & S. TABER. 1978. A mating aggregation of *Dasymutilla foxi* in southern Arizona (Hymenoptera: Mutillidae). **The Pan-Pacific Entomologist**, 54: 231-235.
- MANLEY, D. G. 1984. Predation upon weevil ants for the genus *Dasymutilla* in California. **The Pan-Pacific Entomologist**, 60: 219-226.
- MATTHEWS, R. M. 1997. Unusual sex allocation in a solitary parasitoid wasp, *Sphaerophthalma pensylvanica* (Hymenoptera: Mutillidae). **The Great Lakes Entomologist**, 30: 51-54.
- MELANDER, A. L. & C. T. BRUES. 1903. Guests and parasites of the burrowing bee *Halictus*. **Biological Bulletin**, 5: 1-27.

- MICHENER, C. D. 1966. The bionimics of a primitively social bee, *Lasioglossum versatum* (Hymenoptera, Halictidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, 39: 193-217.
- MICHENER, C. D. 1974. **The Social Behavior of the Bees – A Comparative Study**. Cambridge, Belknap, 404p.
- MICHENER, C. D. 1979. New and little-known halictine bees from Colombia (Hymenoptera: Halictidae). **Jornal of the Kansas Entomological Society**, 52: 180-208.
- MICHENER, C. D. & A. C. SEABRA. 1959. Observations on the behavior of Brazilian halictid bees, VI, tropical species. **Journal of the Kansas Entomological Society**, 32: 19-28.
- MICHENER, C. D. & R. B. LANGE. 1958. Observations on the behavior of Brazilian halictid bees V, *Chloralictus*. **Insectes sociaux**, 5: 379-407.
- MICHENER, C. D., R. B. LANGE, J. J. BIGARELLA, R. SALAMUNI. 1958. Fatores determinantes na distribuição de ninhos de abelhas em barrancos terrosos. **Dusenía**, 8: 1-24.
- MICHENER, C. D. & A. WILLE. 1961. The bionomics of a primitively social bee, *Lasioglossum inconspicuum*. **University of Kansas Science Bulletin**, 42: 1123-1202.
- MICKEL, C. E. 1924. An analysis of a bimodal variation in size of the parasite *Dasymutilla bioculata* Cresson (Hymenoptera: Mutillidae). **Entomological news**, 35: 236-242.
- MICKEL, C. E. 1928. Biological and taxonomic investigations on the mutillid wasps. **Bulletin of the United States national museum**, 143: 1-351.
- MICKEL, C. E. 1969. *Pseudomethoca willei* n. sp. Reared from cells of the bee *Lasioglossum (Dialictus) umbripenne* (Ellis) (Hymenoptera: Mutillidae; Apoidea). **Journal of the Kansas Entomological Society**, 42: 524-526.
- MICKEL, C. E. 1973. *Paramutilla halicta* n. genus, n. species, a parasite of the halictine bee *Augochlorella edentate*. **Journal of the Kansas Entomological Society**, 46: 1-3.
- MOURE, J. S. 1956. Seis espécies novas de *Chloralictus* do Sul do Brasil (Hymenoptera - Apoidea). **Dusenía**: 7: 107-117.
- NORDEN, B. B.; K. V. KROMBEIN; M. A. DEYRUP & J.P. EDIRISINGHE. 2003. Biology and behavior of a seasonally aquatic bee, *Perdita (Alloperdita) floridensis*

- Timberlake (Hymenoptera: Andrenidae: Panurginae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, 76: 236-249.
- ORDWAY, E. 1964. *Sphcodes pimpinellae* and other enemies of *Augochlorella*. **Journal of the Kansas Entomological Society**, 37: 139-352.
- PAGDEN, H. T. 1934. Biological notes on some Malayan aculeate Hymenoptera I. **Journal of the Federated Malay States museums**, 17: 458-466.
- PAGDEN, H. T. 1938. On a new species of *Rophalomutilla* (Hym. Mutillidae) from Java. **Journal of the Federated Malay States museums**, 18: 213-217.
- PARANÁ. 1987. **Atlas do Estado do Paraná**. Curitiba, Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, 73p.
- PILGRIM, E. M. & J. P. PITTS. 2006. A molecular method for associating the dimorphic sexes of velvet ants (Hymenoptera: Mutillidae). **Journal of the Kansas Entomological Society** 79: 222-230.
- PILGRIN, E. M., K. A. WILLIAMS & J. PITTS. 2008. Sex association and synonymy in southwestern U.S. species of *Dasymutilla* (Hymenoptera: Mutillidae). **The Pan-Pacific Entomologist**, 84: 57-68.
- PILGRIM, E. M., S. A. ROUSH & D. E. KRANE. 2002. Combining DNA sequences and morphology in systematics: testing the validity of the dragonfly species *Cordulegaster bilineata*. **Heredity**, 89: 184-190.
- POTTS, R. W. & R. F. SMITH. 1944. Hibernation of *Dasymutilla aureola pacifica*. **The Pan-Pacific Entomologist**, 20:60.
- QUINTERO, B. & R. A. CAMBRA. 1996a. Contribución a la sistemática de las Mutílidas (Hymenoptera) del Perú, en especial las de la Estación Biológica BIOLAT, Rio Manu, Pakitza. In: Wilson, D. E. & Sandoval, A. **La Biodiversidad del Suroeste del Perú: Manu**. Editorial Horizonte, 327-353.
- QUINTERO, D. & R. A. CAMBRA. 1996b. Mutillidae of Paraguay. **Sphecos**, 30: 11-14.
- ROCHA FILHO, L. C. 2007. **Aspectos biológicos de *Monoeca haemorrhoidalis* Smith, 1854 e sua relação com a espécie cleptoparasita *Protosiris gigas* Melo, 2006 (Hymenoptera, Apidae: Tapinotaspidini, Osirini)**. Dissertação de mestrado. Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, 134p.
- SAKAGAMI, S. F. & C. D. MICHENER. 1962. **Nest Architecture of the Sweat Bees, a comparative study of behavior**. University of Kansas Press, Lawrence, 135 p.

- SAKAGAMI, S. F. & J. S. MOURE. 1962. *Sphcodes russeiclypeatus*, n. sp., obtido de um ninho de *Dialictus (Chloralictus) seabrai* (Moure, 1956). **Boletim da Universidade do Paraná**, 18: 1-6.
- SAKAGAMI, S. F. & J. S. MOURE. 1967. Additional observations on the nesting habits of some Brazilian halictine bees (Hymenoptera, Apoidea). **Mushi**, 40: 119-138.
- SCHMIDT, J. O. & M. S. BLUM. 1977. Adaptations and responses of *Dasymutilla occidentalis* (Hymenoptera – Mutillidae) to predators. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 21:99-111.
- SHELDON, J. K. 1970. Sexual dimorphism in the head structure of Mutillidae Hymenoptera: a possible behavioral explanation. **Entomological News**, 81:57-61.
- SPANGLER, H. G. & D. G. MANLEY. 1978. Sounds associated with the mating behavior of a mutillid wasp. **Annals of the Entomological Society of America**, 71: 389-392.
- TSCHUCH, G. 2000. Ameisenwespen in ethnologischer und angewandter Entomologie (Hymenoptera: Vespoidea: Mutillidae). **Entomologia Generalis**, 25: 67-74.
- VANDERSAL, N. D. 2008. Rapid spatial learning in a vevelt ant (*Dasymutilla coccineohirta*). **Animal Cognition**, 11(3): 563-567.
- VICENTINI, A.; E. F. KEARNEY & F. BONATO. 1991. **Proposta de plano de manejo – Parque Estadual dos Mananciais da Serra**. Trabalho acadêmico (graduação em Engenharia Florestal) – Departamento de Silvicultura e Manejo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 71p.
- WCISLO, W. T. 1984. Gregarious nesting of a digger wasp as a “selfish herd” response to a parasitic fly (Hymenoptera: Sphecidae; Diptera: Sarcophagidae). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 15: 157-160.