
Rasgos morfológicos asociados a la viabilidad de pupas en parasitoides del género *Pseudacteon* (Diptera: Phoridae)

FOLGARAIT, Patricia J.*, Mónica G. CHIRINO* y Lawrence E. GILBERT**

* Centro de Estudios e Investigaciones, Universidad Nacional de Quilmes, Roque Saénz Peña 180, B1876BXD Bernal, Argentina; e-mail: pfolgarait@unq.edu.ar, mchirino@unq.edu.ar

** Section of Integrative Biology, Brackenridge Field Laboratory, University of Texas, TX78712 Austin, USA; e-mail: lgilbert@mail.utexas.edu

Morphological traits associated with pupae viability in *Pseudacteon* (Diptera: Phoridae) parasitoids

■ **ABSTRACT.** *Pseudacteon* Coquillett phorid flies oviposit on *Solenopsis* Westwood ants and pupate within the ant's head. We have evaluated the relationship between pupae's viability, presence of respiratory horns and the operculum color in four species of *Pseudacteon* reared on *Solenopsis invicta* Buren and *Solenopsis richteri* Forel ants. The presence of respiratory horns was significantly associated with pupae's viability for all species considered ($p < 0,001$) but operculum color was not ($p > 0,09$), except ($p < 0,01$) when *Pseudacteon cultellatus* Borgmeier had developed on *S. invicta* nanitic and reserve workers. Pupae with light-colored opercula were more frequent in *P. cultellatus*, whereas brown opercula were more frequent for the other species that attack bigger ants. Mimetism can be invoked to explain the similarity in opercula color with that of the head of the parasitized ant as a way to avoid recognition by members of the colony. We conclude that the presence of respiratory horns is necessary for pupae survival of most of the pupae and we suggest to use the presence of respiratory horns as an indicator of the efficiency of rearing protocols for this group of parasitoids. We also recommend using forager ants because other castes do not seem to be appropriate hosts.

KEY WORDS. *Pseudacteon*. Viability. Puparium. Respiratory horns. *Solenopsis*.

■ **RESUMEN.** Fóridos del género *Pseudacteon* Coquillett oviponen en forrajeras del género *Solenopsis* Westwood y empupan en sus cabezas. Se evaluó la relación entre la viabilidad de los parasitoides, la presencia de cuernos respiratorios y el color en los opérculos de los puparios de cuatro especies de *Pseudacteon* criados sobre *Solenopsis invicta* Buren y *Solenopsis richteri* Forel. La presencia de cuernos respiratorios estuvo asociada a la viabilidad de las pupas para las especies consideradas ($p < 0,01$), pero no el color de los opérculos ($p > 0,09$); excepto cuando *Pseudacteon cultellatus* Borgmeier se desarrolló sobre hormigas de la reserva y niñeras de *S. invicta* ($p < 0,01$). Los opérculos claros predominaron en *P. cultellatus*; mientras que en las demás especies, que atacan a hormigas más grandes, predominaron los opérculos castaños. Debido a que los opérculos presentaron un color similar al de la hormiga parasitada, esto representaría un mimetismo por parte del parasitoide para evitar ser detectado por el huésped. Dado que los cuernos respiratorios son necesarios para la supervivencia de la mayoría de las pupas, sugerimos que sean usados como indicadores de eficiencia en los protocolos de cría. Recomendamos usar solo forrajeras dado que las otras castas no parecen ser huéspedes apropiados.

PALABRAS CLAVE. *Pseudacteon*. Viabilidad. Pupario. Cuernos respiratorios. *Solenopsis*.

INTRODUCCIÓN

Las moscas del género *Pseudacteon* Coquillett (Diptera: Phoridae) son parasitoides de hormigas y muchas son específicas del género *Solenopsis* Westwood (Hymenoptera: Formicidae) (Disney, 1994; Folgarait *et al.*, 2002a). Se han registrado hasta 20 especies de *Pseudacteon* atacando a hormigas del grupo *saevisima* (Disney, 1994; Folgarait *et al.*, 2005a). Un factor que puede influenciar esta diversidad es el polimorfismo presente en las colonias de *Solenopsis* (Tschinkel, 1988) debido a que diferentes especies de parasitoides oviponen en hormigas de diferentes rangos de tamaño (Morrison *et al.*, 1997; Folgarait *et al.*, 2002b); por lo que se observa una correlación positiva entre el tamaño del parasitoide y el tamaño de las obreras atacadas, con las especies más grandes parasitando a las obreras mayores (Feener, 1987; Morrison *et al.*, 1997; Morrison & Gilbert, 1998) y las especies de menor tamaño oviponiendo en las hormigas más pequeñas de la colonia (Folgarait *et al.*, 2002b).

Las hembras de *Pseudacteon* colocan un huevo en el tórax de las hormigas adultas que salen a forrajear o a defender el nido, y el tercer estadio larval empupa dentro de la cápsula cefálica de su huésped después de haberse alimentado de su contenido (Porter, 1998) y quedando la cabeza de la hormiga separada del cuerpo. Durante la pupariación, los primeros tres segmentos corporales de la larva de tercer estadio se extienden formando un plato -el opérculo- que llena la cavidad oral, y la cabeza de la hormiga es utilizada para albergar el pupario (Porter *et al.*, 1995b). El opérculo se esclerosa mientras que el resto del pupario no y permanece protegido dentro de la cápsula cefálica. Tres o cuatro días después, emergen dos cuernos respiratorios o "pelos" que se extienden lateralmente hacia el exterior a través de la cavidad oral de la cabeza del huésped donde estaban las mandíbulas (Porter, 1998). La formación del pupario (pupariación) acontece previamente al desarrollo de la pupa y se considera formalmente que la pupa se ha formado (pupación) cuando se observan los cuernos respiratorios (Disney, 1994). Si los cuernos respiratorios no logran atravesar el tegumento del pupario se considera que la pupa no se ha formado o que no es viable (Disney, 1994). Por lo tanto, se espera que las pupas tengan cuernos respiratorios para poder respirar y desarrollarse y convertirse posteriormente en adultos. Durante la cría de *Pseudacteon* spp, es normal encontrar pupas con opérculos con diferente color (comunicación de los autores). Sin embargo, esta variabilidad no se ha estudiado ni se le ha asignado una posible función aunque ya se había observado que existe

una concordancia entre el color del opérculo y el de la cápsula cefálica de la hormiga (Porter *et al.* 1997).

Dado que estos parasitoides, además de infligir mortalidad directa, como lo hacen los parasitoides himenópteros, afectan negativamente el patrón de alimentación de la colonia (Feener & Brown, 1992; Orr *et al.*, 1997; Folgarait & Gilbert, 1999), han sido propuestos como candidatos para el control biológico de las hormigas de fuego, *Solenopsis invicta* Buren y *Solenopsis richteri* Forel. Con este objetivo se vienen realizando en la última década varias investigaciones que han servido para describir sus historias de vida (Porter *et al.*, 1995b; Morrison *et al.*, 1997; Folgarait *et al.*, 2002b; Folgarait *et al.*, 2005b y en prensa), la especificidad del huésped (Porter *et al.*, 1995a; Morrison & Gilbert, 1999; Folgarait *et al.*, 2002a), los ciclos de actividad (Folgarait *et al.*, 2003), el comportamiento de oviposición (Morrison *et al.*, 1997), el posible mecanismo de determinación sexual (Morrison *et al.*, 1999) y otros efectos que provocan los parasitoides sobre el comportamiento de sus huéspedes (Wuellner *et al.*, 2002; Elizalde *et al.*, 2004). Actualmente, se están usando fóridos del género *Pseudacteon* como agentes de control biológico de las hormigas de fuego, nativas de la Argentina y plaga en los Estados Unidos de América (Porter & Gilbert, 2004).

El uso de estos parasitoides como agentes de control biológico de las hormigas de fuego no sólo depende de la especie candidata, sino también de la existencia de un adecuado protocolo de cría masiva que permita la liberación de grandes cantidades de individuos. Por lo tanto, es importante contar con indicadores de viabilidad de los organismos criados. Los objetivos de este estudio han sido comprobar si la viabilidad de las pupas, en las diferentes especies de *Pseudacteon* analizadas, está afectada por la presencia de cuernos respiratorios y/o el color del opérculo; además de analizar si existe relación entre la viabilidad de las pupas y el tamaño de la cápsula cefálica del huésped.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sitios de Muestreo y recolección de Especímenes

Los experimentos fueron realizados entre julio de 1999 y junio de 2001. Las colonias de *S. richteri* fueron recolectadas en la Reserva Ecológica Costanera Sur (RECS), Buenos Aires (34° 37' Sur y 58° 22' Oeste) y las colonias de *S. invicta* en Mercedes, Corrientes (29° 47' Sur y 58° 03' Oeste). Las hormigas fueron identificadas por cla-

ve (Trager, 1991) y corroboradas por especialistas. *Pseudacteon nocens* Borgmeier y *Pseudacteon obtusus* Borgmeier fueron recolectados de diferentes campos en las cercanías de Mercedes, *Pseudacteon cultellatus* Borgmeier en la Estación de Cría de Animales Silvestres (ECAS), a 50 km al sudeste de la Capital Federal, y *Pseudacteon borgmeieri* Schimitz en la Reserva Ecológica Costanera Sur (RECS), Buenos Aires, Argentina. Los *Pseudacteon* fueron identificados con lupas de mano (20X), a campo, siguiendo la clave de Porter & Pesquero (2001).

Mantenimiento de las Colonias y Test de Oviposición

Las colonias fueron mantenidas en condiciones estándares a 22 °C, 60-80 % HR y a 12 L: 12 O. Los test de oviposición, realizados en cajas de vuelo acondicionadas para tal fin (Folgarait *et al.*, 2002b), fueron conducidos a una temperatura ambiente que varió entre 25 y 30°C. Se usaron por ataque entre tres a seis moscas (en función de la especie y de su estado) para 0,8 gr de hormigas.

Para obtener obreras de distintas clases de tamaño se usaron coladores (ZONYTEST) de distintos tamaños de poro (16:18:20). Las hormigas fueron categorizadas en: grandes (hormigas que atra-

viesan el colador N°16 con 1190 micrones de abertura y quedan retenidas en el colador N°18 de 1000 micrones), medianas (hormigas retenidas en el colador N°20 de 840 micrones de abertura) y pequeñas (hormigas que atraviesan el colador N°20).

Para *P. borgmeieri*, *P. nocens* y *P. obtusus* se utilizaron hormigas de tamaño grande y una mezcla de tres rangos de tamaños (0,20 gr de hormigas pequeñas, 0,22 gr de medianas y 0,38 gr de grandes tanto para *S. invicta* como para *S. richteri*); mientras que para *P. cultellatus* se usaron hormigas pequeñas y una mezcla de los tres tamaños mencionados.

Observaciones en el Desarrollo

Las hormigas atacadas fueron revisadas diariamente durante 60 días, separando y guardando cada cabeza parasitada en un recipiente plástico con yeso en su base para mantener una humedad alta. Durante el desarrollo de los parasitoides se observó la presencia de cuernos respiratorios y el color del opérculo en tres oportunidades: al momento de la pupariación (cuando se distingue el opérculo), a las dos semanas del anterior, cuando ya ha pupariado (formado la pupa) (Fig. 1) y al emerger el adulto.

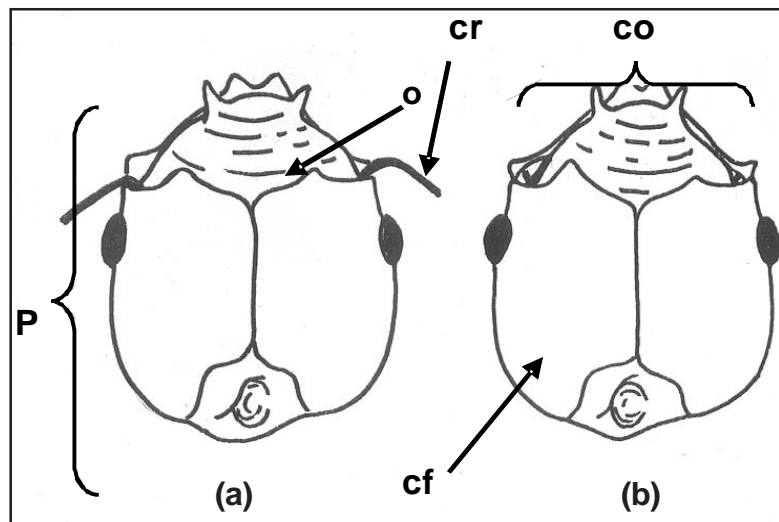


Fig. 1. Diagrama esquemático de la cápsula cefálica más el opérculo de la pupa. a) pupa con normal desarrollo de los cuernos respiratorios. b) pupa con reducido desarrollo de los cuernos respiratorios (los mismos no llegan a emerger de la cavidad oral de la cabeza de la hormiga). cf: cápsula cefálica, co: cavidad oral, cr: cuerno respiratorio, o: opérculo, p: pupario (Modificado de Porter *et al.*, 1995b).

Para registrar el tamaño de hormiga elegido por cada especie de parasitoide se midió el ancho de la cabeza (a la altura de los ojos) de las hormigas. Las mediciones fueron hechas con un ocular micrométrico calibrado con incrementos de 0,03 mm con un microscopio estereoscópico de aumento máximo total de X30 (Nikon modelo SMZ-1 ESD).

Análisis Estadístico

Las categorías "con y sin pelos" y "tipos de coloración" (castaño claro, castaño oscuro, negro) en relación con la viabilidad de las pupas fueron analizadas estadísticamente con el test Chi-cuadrado. En los casos necesarios, la interacción entre color, presencia de pelos y viabilidad se analizó utilizando modelos log lineales. Para comparar el tamaño de obreras preferido por cada especie de parasitoide, se usó el Test de Student y un ANOVA de un factor, ya que los datos fueron normales y presentaron homoscedacia; el método de Bonferroni fue utilizado para controlar el error de tipo I en las comparaciones múltiples (Zar, 1996). Los análisis fueron realizados con el programa

STATISTIX (Analytic Software 1998) y SAS (SAS 2002-2003).

RESULTADOS

Cuernos Respiratorios y Viabilidad

Para las cuatro especies analizadas encontramos que más del 65 % de las pupas desarrolladas tanto en *S. invicta* como en *S. richteri* presentaron cuernos respiratorios y, dentro de éstas, un 60-87 % fueron viables. La presencia de cuernos respiratorios estuvo asociado significativamente con la emergencia de adultos para las cuatro especies analizadas (Tabla I); sin embargo en *P. cultellatus* el porcentaje de pupas viables que desarrollaron cuernos respiratorios fue menor al de las otras tres especies. En un pequeño porcentaje de pupas viables no se registraron cuernos respiratorios para tres de las especies en estudio, especialmente cuando el desarrollo ocurrió en *S. invicta*, siendo la excepción *P. nocens*.

Coloración del Opérculo y Viabilidad

Tabla I. Cuadro comparativo de viabilidad de pupas en función de la presencia de cuernos respiratorios discriminada por especie de parasitoide y de huésped. Se indica el porcentaje de pupas viables con y sin pelos.

| Huésped | Parasitoide | Viabilidad de pupas ¹ | % de pupas con pelos (N) | % de pupas con pelos y viables (N) | % de pupas sin pelos (N) | % de pupas sin pelos pero viables (N) |
|--------------------|-----------------------|----------------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| | | X ² p | | | | |
| <i>S. invicta</i> | <i>P. cultellatus</i> | 52,62 0,001 | 67,63 (163) | 60,12 (98) | 32,37 (78) | 10,26 (8) |
| | <i>P. obtusus</i> | 31,60 0,001 | 84,28 (520) | 86,54 (450) | 15,72 (97) | 9,28 (9) |
| | <i>P. nocens</i> | 21,50 0,001 | 83,27 (224) | 83,48 (187) | 16,73 (45) | 0,00 |
| | <i>P. borgmeieri</i> | 10,47 0,001 | 87,18 (34) | 85,29 (29) | 12,82 (5) | 20,00 (1) |
| <i>S. richteri</i> | <i>P. cultellatus</i> | 60,66 0,001 | 68,27 (312) | 56,09 (175) | 31,73 (145) | 18,63 (27) |
| | <i>P. obtusus</i> | 59,21 0,001 | 80,98 (132) | 75,00 (99) | 19,02 (31) | 0,00 |
| | <i>P. nocens</i> | 9,36 0,010 | 77,19 (44) | 70,45 (31) | 22,81 (13) | 0,00 |
| | <i>P. borgmeieri</i> | 20,76 0,001 | 84,31 (43) | 81,40 (35) | 15,69 (8) | 0,00 |

¹ Tests de Chi-Cuadrado considerando la presencia o ausencia de cuernos respiratorios y la viabilidad de las pupas por especie de parasitoide y de hospedador; para cada caso en particular: g. l. = 1.

El color presente en los opérculos no estuvo asociado significativamente con la viabilidad de las pupas, excepto cuando *P. cultellatus* se desarrolló sobre *S. invicta* (Tabla 2).

Tabla 2. Cuadro comparativo de la viabilidad de pupas según el color del opérculo presente, discriminado por especie de parasitoide y de huésped. Se indica el porcentaje y el color de opérculo más frecuente para cada especie.

| Huésped | Parasitoide | Viabilidad de pupas ¹ | color de opérculo más frecuente | % del color más frecuente (N) |
|--------------------|-----------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| | | X ² | p | |
| <i>S. invicta</i> | <i>P. cultellatus</i> | 28,83 | 0,001 | Castaño claro 59,47 (227) |
| | <i>P. obtusus</i> | 1,37 | 0,50 | Castaño oscuro 81,82 (197) |
| | <i>P. nocens</i> | 2,26 | 0,33 | Castaño oscuro 77,57 (113) |
| | <i>P. borgmeieri</i> | 1,55 | 0,46 | Castaño oscuro 70,00 (39) |
| <i>S. richteri</i> | <i>P. cultellatus</i> | 1,53 | 0,47 | Castaño claro 81,59 (440) |
| | <i>P. obtusus</i> | 4,75 | 0,09 | Castaño oscuro 69,23 (164) |
| | <i>P. nocens</i> | 0,88 | 0,64 | Castaño oscuro 57,00 (58) |
| | <i>P. borgmeieri</i> | 2,13 | 0,34 | Castaño oscuro 83,02 (51) |

El análisis log lineal mostró que únicamente para el caso de *P. cultellatus* en *S. invicta*, tanto el color del opérculo como la presencia de cuernos respiratorios estuvo significativamente asociado con la viabilidad de las pupas (Tabla 3). Este patrón se debió a que el 61% (60 pupas) de todas

las pupas viables que desarrollaron pelos, presentaron opérculos de color castaño oscuro. Además, de todas las pupas viables (106 pupas), el 92,45% (98 pupas) desarrolló cuernos respiratorios (Tabla 2). Por otra parte el 89,7% (70 pupas) de las pupas sin pelos fueron inviables.

Tabla 3. Modelo Log Lineal de mejor ajuste y más parsimonioso para *P. cultellatus* sobre *S. invicta*.

| Factores | GL | X ² | Probabilidad |
|--------------------------------------|----|----------------|--------------|
| pelos | 1 | 32,30 | 0,0001 |
| viabilidad | 1 | 14,43 | 0,0001 |
| pelos*viabilidad | 1 | 36,69 | 0,0001 |
| color | 1 | 4,82 | 0,0281 |
| color*viabilidad | 1 | 23,46 | 0,0001 |
| Coefficiente de Máxima Verosimilitud | 2 | 1,80 | 0,4058 |

En general, el color del opérculo estuvo relacionado con el tamaño del huésped, debido a que las pupas con opérculos de color castaño claro presentaron, en conjunto, un tamaño ($0,71 \pm 0,10$ mm) estadísticamente menor ($p < 0,01$) que las pupas con opérculos de color castaño oscuro ($0,90 \pm 0,28$ mm). Aunque las pupas castaño claro predominaron en *P. cultellatus* (Tabla II), se las encontró también en *P. obtusus*, *P. nocens* y *P. borgmeieri*, pero sólo en aque-

llas hormigas que midieron hasta 1,10 mm de ancho en su cápsula cefálica. Las pupas castaño oscuras se presentaron en todo el rango de distribución de tamaños, sin embargo, estuvieron presentes en mayor proporción (73,08%) en las hormigas con un ancho promedio de cabeza mayor que 0,80 mm. Los opérculos de color negro ($0,78 \pm 0,21$ mm) se presentaron en todas las especies y fueron, en general, pupas no viables (datos sin publicar).

Viabilidad y Tamaño de la Cápsula Cefálica del Huésped

El tamaño promedio de las cabezas de hormigas parasitadas por cada especie de parasitoide fue diferente, observándose que el tamaño elegido por *P. cultellatus* fue siempre estadísticamente

menor (Fig. 2) que los elegidos por *P. borgmeieri*, *P. nocens* y *P. obtusus*, ya sea que el desarrollo haya ocurrido sobre *S. invicta* o sobre *S. richteri*; además el tamaño promedio de las hormigas parasitadas por *P. borgmeieri* fue siempre el más grande (Fig. 2).

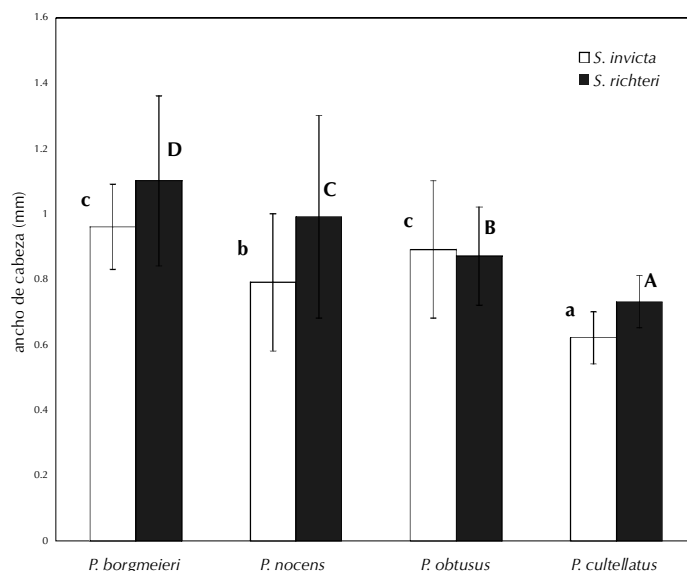


Fig. 2. Medias y desvíos estándar de los tamaños de las cápsulas cefálicas de *S. invicta* y *S. richteri* elegidas por las cuatro especies de *Pseudacteon*. Letras distintas indican diferencias significativas entre especies de parasitoides (Test ANOVA de un factor, para *S. invicta* $F = 79,51$, $p = 0,000$; para *S. richteri* $F = 89,14$, $p = 0,000$). Letras minúsculas para comparaciones en *S. invicta* y letras mayúsculas para comparaciones en *S. richteri*.

Las cabezas de *S. invicta* parasitadas por *P. cultellatus* y por *P. nocens*, fueron siempre de menor tamaño que las cabezas de *S. richteri* parasitadas por las mismas especies ($t = -15,45$, g.l. = 493, $p < 0,001$ para *P. cultellatus*; $t = -6,09$, g.l. = 319, $p < 0,001$ para *P. nocens*). Las cabezas de *S. invicta* y *S. richteri* parasitadas por *P. borgmeieri* y *P. obtusus* fueron de tamaños estadísticamente similares ($t = -1,38$, g.l. = 44, $p = 0,1751$ para *P. borgmeieri*; $t = 0,54$, g.l. = 225, $p = 0,59$ para *P. obtusus*) (Tabla 4).

No se encontraron diferencias significativas en el tamaño promedio de las pupas viables y no viables de *P. cultellatus*, *P. obtusus* y *P. nocens* cuando se desarrollaron sobre ambos huéspedes (Test de T, $p > 0,05$ en cada caso); por lo que el tamaño del huésped no fue la causa determinante del porcentaje de inviabilidad de las pupas en desarrollo. Sólo en *P. borgmeieri* encontramos que las pupas inviables presentaron un tamaño menor que las viables (0,95 versus 1,17 mm respectivamente; $p < 0,02$) cuando el desarrollo ocurrió sobre *S. richteri* (Tabla 4).

Tabla 4. Ancho promedio de las cápsulas cefálicas del huésped considerando pupas viables y no viables desarrolladas para cada especie de parasitoide.

| Parasitoide | Huésped | pupas viables | pupas no viables | Significación Test de T |
|-----------------------|--------------------|----------------|------------------|-------------------------|
| <i>P. cultellatus</i> | <i>S. invicta</i> | 0,62 ± 0,06 mm | 0,63 ± 0,09 mm | $P > 0,40$ |
| | <i>S. richteri</i> | 0,74 ± 0,07 mm | 0,73 ± 0,08 mm | $P > 0,50$ |
| <i>P. obtusus</i> | <i>S. invicta</i> | 0,90 ± 0,15 mm | 0,88 ± 0,20 mm | $P > 0,60$ |
| | <i>S. richteri</i> | 0,84 ± 0,15 mm | 0,89 ± 0,21 mm | $P > 0,24$ |
| <i>P. nocens</i> | <i>S. invicta</i> | 0,80 ± 0,22 mm | 0,77 ± 0,21 mm | $P > 0,37$ |
| | <i>S. richteri</i> | 1,01 ± 0,29 mm | 0,98 ± 0,34 mm | $P > 0,68$ |
| <i>P. borgmeieri</i> | <i>S. invicta</i> | 0,96 ± 0,13 mm | ----- | |
| | <i>S. richteri</i> | 1,17 ± 0,25 mm | 0,95 ± 0,30 mm | $P < 0,02$ |

DISCUSIÓN

Los cuernos respiratorios desarrollados por las pupas del género *Pseudacteon* son importantes para su normal desarrollo y viabilidad. Esta hipótesis fue avalada por el hecho de que más del 80 % de las pupas criadas en el laboratorio presentaron cuernos respiratorios, de las cuales más del 70 % resultaron viables para la mayoría de las especies, aunque en *P. cultellatus* los porcentajes fueron menores. Sólo un pequeño porcentaje desarrolló pelos pero fueron inviables, probablemente debido a condiciones intrínsecas del parasitoide o de la hormiga parasitada. Algunas de aquellas pupas que parecieron no desarrollar cuernos respiratorios y que, sin embargo, fueron viables presentaron un pupario en el que el opérculo no selló completamente la cavidad oral de la cápsula cefálica de la hormiga. Por lo que la pupa contenida en el pupario, pudo haber sobrevivido debido a que no necesitó prolongaciones hacia el exterior para poder respirar normalmente. En otros casos de pupas viables sin pelos, el pupario no fue obviamente más grande y creemos que la aparente falta de cuernos respiratorios pudo haber sido en realidad por el desarrollo de cuernos muy pequeños que dificultaba su detección.

El color del opérculo estuvo asociado significativamente con la viabilidad de las pupas sólo cuando *P. cultellatus* se desarrolló sobre *S. invicta*. Esto se debió a que 1) el mayor porcentaje de las pupas con pelos correspondió a las pupas de color castaño oscuro y 2) para las pupas viables y con pelos, las pupas de color castaño oscuro ($0,60 \pm 0,06$ mm) fueron obtenidas de hormigas de menor tamaño ($t = 2,59$, g.l. = 83, $p = 0,01$) que las pupas de castaño claro ($0,64 \pm 0,06$ mm). Sabemos por trabajos previos que *P. cultellatus* prefiere oviponer en hormigas con un ancho de cabeza de 0,60 mm (Folgarait *et al.*, 2002b), por lo que en este caso las pupas marrones presentaron el tamaño apropiado para que el parasitoide se desarrolle normalmente. Es necesario aclarar que las hormigas pequeñas de *S. invicta* son de color relativamente más claro, como castaño claro; mientras que las hormigas de mayor tamaño son de color relativamente más oscuro, hacia el castaño oscuro (Vinson, 1997; Autores, com. pers.). Por otro lado, en el rango de menor tamaño, hay pupas con opérculos de ambos colores. Como las condiciones en el laboratorio fueron artificiales debido a que en los test de oviposición ofrecimos obreras sin discriminar castas temporales o físicas dentro de la colonia, la gran cantidad de pupas claras e inviables encontradas en *P. cultellatus*, podría deberse al parasitismo de niñeras y obreras de reserva de esa misma clase de tamaño. Las niñeras son

obreras recientemente emergidas que necesitan de uno a dos días para oscurecerse. Tanto las niñeras como las obreras de reserva son de color amarillo claro y no salen a forrajear y, por lo tanto, no pertenecen a la casta de hormigas más adecuada para ser parasitadas. Dentro de una colonia de *S. invicta*, los adultos jóvenes pasan desde varios días a semanas junto a los inmaduros y a la reina. Debido a que las obreras cumplen diferentes labores en función de su edad (en las castas menores) y de su tamaño (en las castas mayores), las obreras son clasificadas en niñeras, de reserva o forrajeras (Hölldobler & Wilson, 1990; Vinson, 1997). Las niñeras alimentan, limpian y mueven a los inmaduros y a la reina en respuesta a cambios de temperatura y humedad en el nido. A medida que envejecen pasan a formar parte de la reserva. Las reservas ayudan a limpiar, defender la colonia, construir y mantener el nido, y son reclutadas para tomar la comida traída por las obreras más viejas de la colonia, las forrajeras. Así, el tiempo de vida y la cantidad de tiempo que las obreras pasan como niñeras, de reserva o forrajeras depende de sus edades y tamaños, pero está influenciado por las necesidades de la colonia; de modo que si la mayoría de las niñeras o de las forrajeras mueren, las hormigas de la reserva pueden revertir a niñeras o comenzar a forrajear prematuramente (Hölldobler & Wilson, 1990; Vinson, 1997). Por lo tanto, es altamente probable que muchas de las hormigas de *S. invicta* atacadas por *P. cultellatus* en el laboratorio no fueran representativas de las obreras que saldrían a forrajear normalmente en el campo. Esta aclaración tiene valor sólo para *P. cultellatus* que ovipone en hormigas pequeñas, porque las demás especies atacan a obreras de mayor porte que, en general, son forrajeras.

En cuanto a la presencia de opérculos de distintos colores que coincidieron con el color de la cápsula cefálica de la hormiga parasitada, planteamos varios mecanismos posibles para explicar este patrón: opérculos de diferente grosor, concentración diferencial de melanina, pupas en distintos momentos del desarrollo, o mimetismo por parte del parasitoide; los cuales discutiremos en orden.

Si planteamos que las pupas desarrolladas en hormigas de menor tamaño poseen opérculos menos gruesos que las pupas desarrolladas en hormigas de mayor tamaño, significa que existen diferencias en el engrosamiento de la cutícula; descartamos esta hipótesis porque este mecanismo, regulado genética y hormonalmente, es el mismo para todos los individuos dentro de la misma especie (Blun, 1985; Chapman, 1998) independientemente de sus tamaños respectivos.

Si establecemos que los opérculos tienen distintos colores debido a diferentes concentraciones de melanina, estamos afirmando que este proceso involucra distintas vías de actividad; pero este proceso natural en el desarrollo y la metamorfosis se establece antes de que ocurra la apólisis de la pupa (Blun, 1985; Chapman, 1998) por lo que las vías de actividad son las mismas dentro de cada especie. Por esta razón, descartamos esta hipótesis.

Si aceptamos que el opérculo va oscureciéndose a medida que se acerca el momento de la emergencia del adulto, esperaríamos encontrar durante el desarrollo una gradación de colores desde opérculos muy claros hasta opérculos muy oscuros a medida que nos acercamos al momento de la emergencia del adulto; pero de nuestras observaciones notamos que los opérculos castaño claro llegaron a presentar una coloración miel pero nunca una coloración castaño oscuro o negro, excepto en los casos en que la pupa fue inviable, además hemos observado que las pupas que desarrollaron opérculos castaño oscuro adquirieron ese color desde el principio.

El color del opérculo coincidió siempre con el color de la cápsula cefálica de la hormiga que contenía la pupa en desarrollo. Podríamos plantear que los diferentes colores surgieron como respuesta a una adaptación evolutiva por parte del parasitoide para evitar ser detectado por depredadores con sistema visual de detección de su presa, como ocurre con las aves insectívoras (Bachmann, com. pers.). Así podríamos intentar comparar esta característica con lo que se observa en los estadios inmaduros de los lepidópteros, en los que las pupas se camuflan en el medio en donde se desarrollan (Hazle & West, 1996; Van Dyck *et al.*, 1998; Ottenheim *et al.*, 1999; Windig, 1999). El problema que enfrenta esta hipótesis es que no sería muy nutritivo alimentarse de restos de las hormigas *Solenopsis*, por su alta toxicidad y porque las cabezas y, por ende, las pupas que en ellas se desarrollan son extremadamente pequeñas para un ave (ancho de cabeza de 0,90-1,46 mm para *S. invicta* y 0,87-1,35 mm para *S. richteri*; Trager, 1991). Además del hecho de que si un ave picotea sobre un hormiguero es seguro que lo que consuma sean a las hormigas que se mueven y no sus restos, como ocurre con varias especies de *Camponotus* Mayr (Gorosito, obs. pers.); a menos que las hormigas picoteadas pertenezcan a especies de gran porte y sean fácilmente discriminadas a pesar de estar muertas o moribundas, pero este no sería el caso para *Solenopsis*.

Finalmente, planteamos como hipótesis alternativa que los distintos colores presentes en los opérculos de las pupas de *Pseudacteon* se deben a que el parasitoide se mimetiza con la cápsula cefálica de su huésped para evitar ser detectado por las obreras de la colonia. Por esta razón, encontramos que las obreras de menor tamaño que presentan color castaño claro tienen opérculos de ese color; mientras que las obreras de mayor tamaño, de color castaño oscuro-rojizas principalmente, poseen opérculos de color castaño oscuro. Datos preliminares a favor de esta hipótesis son los que encontraron Elizalde *et al.* (2004) al comprobar que las hormigas de colonias artificiales tratan de igual manera a las cabezas de *Solenopsis* parasitadas y sin parasitarlo, o sea las descartan en los basureros sin darles un tratamiento diferencial (mordida, rotura, etc.). Esta hipótesis asume además que los parasitoides emergen dentro de los nidos de *Solenopsis*, idea que actualmente tratamos de comprobar.

Resta en el futuro hacer, por un lado, experimentos de manipulación ofreciendo puparios de colores idénticos o distintos a las cabezas de las hormigas y evaluar las respuestas en el comportamiento de las hormigas de la colonia, y por otro, realizar nuevos ataques con *P. cultellatus* para reevaluar la viabilidad de las pupas ofreciendo solamente forrajeras.

CONCLUSIONES

La presencia de cuernos respiratorios, en los puparios de las especies de *Pseudacteon*, es una característica fisiológica fundamental para el normal desarrollo y la viabilidad de la pupa. Su presencia no está relacionada con la especie o con el tamaño del huésped, por eso se los encuentra tanto en pupas desarrolladas sobre *S. invicta* como en *S. richteri* y en todas las distribuciones de tamaños. Esta característica podría ser utilizada como criterio de eficiencia en la cría de estos parasitoides ya que éstos garantizan la emergencia de los adultos en un 80 % de los casos.

Por otra parte, el color del opérculo no afecta de un modo directo la viabilidad de las pupas, aunque habría que evitar ofrecer hormigas recién emergidas. La coincidencia entre el color del opérculo y el de la hormiga parasitada, nos permite plantear como hipótesis la existencia de mimetismo que evitaría la destrucción de las cabezas parasitadas, por parte de otras obreras de la colonia.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias al financiamiento de la Fundación H. Kleberg & J. Kleberg. Agradecemos al señor Julio Benítez por recolectar la mayoría de los especímenes de *P. nocens*, *P. obtusus* y las colonias de *S. invicta* en Corrientes. A Norma Gorosito, Octavio Bruzzone y Ana Sallénave por ayudarnos con la cría en laboratorio y la recolección de *P. cultellatus*, *P. borgmeieri* y *S. richteri* en Buenos Aires. Este trabajo no se podría haber realizado sin el permiso de la Reserva Ecológica Costanera Sur (RECS) y la Estación de Cría de Animales Silvestres (ECAS), instituciones a las que estamos muy agradecidos. Un último agradecimiento al CONICET y a la Universidad Nacional de Quilmes por su apoyo.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Analytical Software. Statistix for Windows. 1998. Version 2.0. Tallahassee, Fl., USA.
- BLUN, M. S. 1985. *Fundamentals of insect physiology*. John Wiley & Sons, New York.
- CHAPMAN, R. F. 1998. *The insects structure and function*. 4^o edition. Cambridge University Press, UK.
- DISNEY, R. H. L. 1994. *Scuttle flies: The Phoridae*. Chapman & Hall, London.
- ELIZALDE, L., P. J. FOLGARAIT & L. E. GILBERT. 2004. Comportamiento de hormigas de fuego atacadas por parasitoides: ¿existen cambios de conducta que beneficien a los hospedadores?. *En: Il Reunión. Binac. Ecol., Mendoza, Argentina*, 2004. pp. 142.
- FEENER, D. JR. 1987. Size selective oviposition in *Pseudacteon crawfordi* (Diptera: Phoridae), a parasite of fire ants. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 80: 148-151.
- FEENER, D. JR & B. BROWN. 1992. Reduced foraging of *Solenopsis geminata* (Hymenoptera: Formicidae) in the presence of parasitic *Pseudacteon* spp. (Diptera: Phoridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 85: 80-84.
- FOLGARAIT, P. J. & L. E. GILBERT. 1999. Phorid parasitoids affect foraging activity of *Solenopsis richteri* under different availability of food in Argentina. *Ecol. Entomol.* 24: 163-173.
- FOLGARAIT, P. J., O. BRUZZONE, R. J. WILSON PATROCK & L. E. GILBERT. 2002a. Developmental rates and host specificity for *Pseudacteon* parasitoids (Diptera: Phoridae) of fire ants (Hymenoptera: Formicidae) in Argentina. *J. Econ. Entomol.* 95: 1151-1158.
- FOLGARAIT, P. J., O. BRUZZONE & L. E. GILBERT. 2002b. Development of *Pseudacteon cultellatus* (Diptera: Phoridae) on *Solenopsis invicta* and *Solenopsis richteri* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Environ. Entomol.* 31: 403-410.
- FOLGARAIT, P. J., O. BRUZZONE & L. E. GILBERT. 2003. Seasonal patterns of activity among species of black fire ant parasitoid flies (*Pseudacteon*: Phoridae) in Argentina explained by analysis of climatic variables. *Biol. Control.* 28: 368-378.
- FOLGARAIT, P. J., O. BRUZZONE, S. D. PORTER, M. A. PESQUERO & L. E. GILBERT. 2005a. Biogeography and macroecology of phorid flies that attack fire ants in south-eastern Brazil and Argentina. *J. Biogeog.* 32: 353-367.
- FOLGARAIT, P. J., M. G. CHIRINO, R. J. WILSON PATROCK & L. E. GILBERT. 2005b. Development of *Pseudacteon obtusus* (Diptera: Phoridae) on *Solenopsis invicta* and *Solenopsis richteri* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Environ. Entomol.* 34 :308-316.
- FOLGARAIT, P. J., R. J. WILSON PATROCK & L. E. GILBERT. En Prensa. Development of *Pseudacteon nocens* (Diptera: Phoridae) on *Solenopsis invicta* and *Solenopsis richteri* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*
- HAZEL, W. N. & D. A. WEST. 1996. Pupation site preference and environmentally cued pupal colour dimorphism in the swallowtail butterfly *Papilio polyxenes* Fabr. (Lepidoptera: Papilionidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 57: 81-87.
- HÖLLDOBLER, B. & E. O. WILSON. 1990. *The ants*. The Harvard University Press Cambridge, Massachusetts.
- MORRISON, L. W. & L. E. GILBERT. 1998. Parasitoid-host relationships when host size varies: the case of *Pseudacteon* flies and *Solenopsis* fire ants. *Ecol. Entomol.* 23: 409-416.
- MORRISON, L. W. & L. E. GILBERT. 1999. Host specificity in two additional *Pseudacteon* spp. (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Fla. Entomol.* 82: 404-409.

19. MORRISON, L. W., C. G. DALL'AGLIO-HOLVORCEM & L. E. GILBERT. 1997. Oviposition behavior and development of *Pseudacteon* flies (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Environ. Entomol.* 26: 14-22.
20. MORRISON, L. W., S. PORTER & L. E. GILBERT. 1999a. Sex ratio variation as a function of host size in *Pseudacteon* flies (Diptera: Phoridae), parasitoids of *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 66: 257-267.
21. ORR, M., S. SEIKE & L. E. GILBERT. 1997. Foraging ecology and patterns of diversification in dipteran parasitoids of fire ants in south Brazil. *Ecol. Entomol.* 22: 305-314.
22. OTTENHEIM, M. M., B. WERTHEIM, G. J. HOLLOWAY & P. M. BRAKEFIELD. 1999. Survival of colour-polymorphic *Eristalis arbustorum* hoverflies in semi-field conditions. *Funct. Ecol.* 13: 72-77.
23. PORTER, S. D. 1998. Biology and behavior of *Pseudacteon* decapitating flies (Diptera: Phoridae) that parasitize *Solenopsis* fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *Fla. Entomol.* 81: 292-309.
24. PORTER, S. D. & L. E. GILBERT. 2004. Assessing host specificity and field release potential of fire ant decapitating flies (Phoridae: Pseudacteon). 2004. En Van Driesche, R.G., T. Murray & R. Reardon (eds). *Assessing host ranges for parasitoids and predators used for classical biological control: a guide to best practice*. USDA Forest Service, Morganton, WVA, USA. Pag. 152-176.
25. PORTER, S. D. & M. A. PESQUERO. 2001. Illustrated key to *Pseudacteon* decapitating flies (Diptera: Phoridae) that attack *Solenopsis saevissima* complex fire ants in South America. *Fla. Entomol.* 83: 422-427.
26. PORTER, S. D., D. F. WILLIAMS, & R. S. PATTERSON. 1997. Rearing the decapitating fly *Pseudacteon tricuspis* (Diptera: Phoridae) in imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae) from the United States. *J. Econ. Entomol.* 90: 135-138.
27. PORTER, S. D., H. FOWLER, S. CAMPIOLO & M. A. PESQUERO. 1995a. Host specificity of several *Pseudacteon* (Diptera: Phoridae) parasites of fire ants (Hymenoptera: Formicidae) in south America. *Fla. Entomol.* 78: 70-75.
28. PORTER, S. D., M. A. PESQUERO, S. CAMPIOLO & H. FOWLER. 1995b. Growth and development of *Pseudacteon* phorid fly maggots (Diptera: Phoridae) in the head of *Solenopsis* fire ant workers (Hymenoptera: Formicidae). *Environ. Entomol.* 24: 475-479.
29. SAS for Windows. 2002-2003.. Version 5.0.2195. By SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.
30. TRAGER, J. 1991. A revision of the fire ants, *Solenopsis geminata* group (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). *J. New York Entomol. Soc.* 99:141-198.
31. TSCHINKEL, W. 1988. Colony growth and the ontogeny of worker polymorphism in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Behavior Ecol. Sociobiol.* 22: 103-115.
32. VAN DYCK, H., E. MATTHYSEN & C. WIKLUND. 1998. Phenotypic variation in adult morphology and pupal colour within and among families of the speckled wood butterfly *Pararge aegeria*. *Ecol. Entomol.* 23: 465-472.
33. VINSON, S. B. 1997. Invasion of the red imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae). Spread, biology and impact. *Am. Entomol.* 43: 23-39.
34. WINDIG, J. J. 1999. Trade-offs between melanization, development time and adult size in *Inachis io* and *Araschnia levana* (Lepidoptera: Nymphalidae)?. *Heredity.* 82: 57-68.
35. WUELLNER, C. T., C. G. DALL'AGLIO-HOLVORCEM, W. W. BENSON & L. E. GILBERT. 2002. Phorid fly (Diptera: Phoridae) oviposition behavior and fire ant (Hymenoptera: Formicidae) reaction to attack differ according to phorid species. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 95: 257-266.
36. ZAR, J. H. 1996. *Biostatistical analysis*. 3° ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

Recibido: 20-IV-2005

Aceptado: 30-V-2005