

ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE E DA VIDA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E EVOLUÇÃO DA BIODIVERSIDADE  
MESTRADO EM ECOLOGIA E EVOLUÇÃO DA BIODIVERSIDADE

TAIRIS DA COSTA

**INTERAÇÕES ENTRE ÁCAROS E ABELHAS SEM FERRÃO:  
DIVERSIDADE E DESCRIÇÕES DE NOVAS ESPÉCIES**

Porto Alegre  
2020

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica  
do Rio Grande do Sul

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE E DA VIDA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E EVOLUÇÃO DA  
BIODIVERSIDADE**

**INTERAÇÕES ENTRE ÁCAROS E ABELHAS SEM FERRÃO: DIVERSIDADE E  
DESCRIÇÕES DE NOVAS ESPÉCIES**

**Tairis da Costa**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
Av. Ipiranga 6681 - Caixa Postal 1429  
Fone: (051) 3320-3500  
CEP 90619-900 Porto Alegre - RS  
Brasil**

**2020**

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE E DA VIDA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E EVOLUÇÃO DA  
BIODIVERSIDADE**

**INTERAÇÕES ENTRE ÁCAROS E ABELHAS SEM FERRÃO: DIVERSIDADE E  
DESCRIÇÕES DE NOVAS ESPÉCIES**

**Tairis da Costa**

**Orientadora: Dra. Betina Blochtein**

**Coorientador: Dr. Noeli Juarez Ferla**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
PORTO ALEGRE - RS - BRASIL**

**2020**

**|**

## SUMÁRIO

<b>RELAÇÃO DE FIGURAS.....</b>	<b>4</b>
<b>RELAÇÃO DE TABELAS.....</b>	<b>6</b>
<b>MATERIAL SUPLEMENTAR.....</b>	<b>7</b>
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>8</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>10</b>
<b>APRESENTAÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>15</b>
Composição da comunidade acarina é determinada pela espécie de abelha hospedeira.....	16
Resumo.....	16
1. Introdução.....	16
2. Material e Métodos.....	18
3. Resultados.....	21
4. Discussão.....	28
5. Agradecimentos.....	30
6. Referências.....	30
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>37</b>
Three new species of the genus <i>Proctotydaeus</i> (Acari: Iolinidae) associated with Brazilian stingless bees.....	38
Abstract.....	38
1. Introduction.....	38
2. Material and methods.....	40

3. Systematics.....	41
4. Discussion.....	59
5. Acknowledgements.....	59
6. References.....	60
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>63</b>
Two new species of Tydeidae (Acari: Prostigmata) associated with stingless bees.....	64
Abstract.....	64
Introduction.....	64
Material and methods.....	65
Results.....	66
Acknowledgements.....	78
References.....	80
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>83</b>

## RELAÇÃO DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura 1. Mapa esquemático com representação do Estado do Rio Grande do Sul, ilustrando os pontos de amostragem das colônias de abelhas sem ferrão.....19
- Figura 2. Curva de rarefação de espécies, com o respectivo número de espécies acarinas encontradas e o número de espécies esperadas, nas três espécies de abelhas sem ferrão analisadas.....23
- Figura 3. Perfil de diversidade de Hill, diversidade de ácaros em três espécies de abelhas sem ferrão no Sul do Brasil.....24
- Figura 4. Escalonamento multidimensional não métrico (distância de Bray-Curtis) representando as espécies de ácaros encontrados em colônias de abelhas sem ferrão no Sul do Brasil.....25
- Figura 5. Rede ecológica bipartida representando as interações entre ácaros (nível superior) e abelhas sem ferrão (nível inferior) no Rio Grande do Sul.....27

### CAPÍTULO II

- Figure 1. (A) Nest of *M. quadrifasciata*; (B) Nest of *S. bipunctata*; (C) Adult individual of *T. fiebrigi*; (D) Map showing the location of sampling sites in Rio Grande do Sul State, Brazil....40
- Figure 2. *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov., female (holotype) in dorsal view.....44
- Figure 3. *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov., female (holotype) in ventral view.....45
- Figure 4. *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov., female (holotype). (A) Gnathosoma in ventral view. (B) Palptarsus.....46
- Figure 5. *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov., female (holotype). (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.....46
- Figure 6. *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov. (A) Dorsum. (B) Ornamentation between *la*, *bo* and *ro*. (C) Setae *ps2* in ventral view. (D) Setae  $\kappa$  bifurcate.....47
- Figure 7. *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1, female (holotype) in dorsal view.....50
- Figure 8. *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1, female (holotype) in ventral view.....51
- Figure 9. *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1, female (holotype). (A) Gnathosoma in ventral view. (B) Palptarsus.....52
- Figure 10. *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1, female (holotype). (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.....52

Figure 11. <i>Proctotydaeus (Oriolella)</i> sp. nov. 1.(A) Dorsum. (B) Reticulation between <i>la</i> , <i>bo</i> , <i>ro</i> and <i>ex</i> .....	53
Figure 12. <i>Proctotydaeus (Oriolella)</i> sp. nov. 2, female (holotype) in dorsal view.....	56
Figure 13. <i>Proctotydaeus (Oriolella)</i> sp. nov. 2, female (holotype) in ventral view.....	57
Figure 14. <i>Proctotydaeus (Oriolella)</i> sp. nov. 2, female (holotype). (A) Gnathosoma in ventral view. (B) Palptarsus.....	58
Figure 15. <i>Proctotydaeus (Oriolella)</i> sp. nov. 2, female (holotype). (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.....	58

### CAPÍTULO III

Figure 1. <i>Lorryia meliponarum</i> n. sp., female (holotype), idiosoma in dorsal view.....	68
Figure 2. <i>Lorryia meliponarum</i> n. sp. (A) Dorsum. (B) Ornamentation in dorsal view. (C) Ornamentation between <i>ro</i> and <i>bo</i> . (D) Ornamentation between <i>d</i> and <i>fl</i> . (E) Opisthosomal setae.....	69
Figure 3. <i>Lorryia meliponarum</i> n. sp., female (holotype), in ventral view.....	71
Figure 4. <i>Lorryia meliponarum</i> n. sp. (A) Genital area. (B) Palptarsus.....	72
Figure 5. <i>Lorryia meliponarum</i> n. sp., female (holotype), gnathosoma in ventral view.....	73
Figure 6. <i>Lorryia meliponarum</i> n. sp., female (holotype), palptarsus.....	73
Figure 7. <i>Lorryia meliponarum</i> n. sp., female (holotype), (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.....	74
Figure 8. <i>Melissotydeus bipunctata</i> n. sp., female (holotype), idiosoma in dorsal view.....	76
Figure 9. <i>Melissotydeus bipunctata</i> n. sp. (A) Dorsum. (B) Ornamentation between <i>ro</i> and <i>cl</i> , reticulated area. (C) Transverse striation between <i>d</i> , <i>e</i> and <i>fl</i> , encircled with striae to form an oval. (D) Genital area.....	77
Figure 10. <i>Melissotydeus bipunctata</i> n. sp., female (holotype), in ventral view.....	79
Figure 11. <i>Melissotydeus bipunctata</i> n. sp., female (holotype), gnathosoma in ventral view.....	80
Figure 12. <i>Melissotydeus bipunctata</i> n. sp., female (holotype), palptarsus.....	80
Figure 13. <i>Melissotydeus bipunctata</i> n. sp., female (holotype), (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.....	80

## RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1. Contribuições acumulativas da comunidade de ácaros associados a colônias de abelhas sem ferrão no Sul do Brasil.....	25
--	----



## MATERIAL SUPLEMENTAR

Material Suplementar 1. Lista de espécies de ácaros encontrados nas três espécies de abelhas sem ferrão no Sul do Brasil.....	36
---	----

## AGRADECIMENTOS

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução da Biodiversidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À minha orientadora Dra Betina Blochtein, por ter me dado à oportunidade de continuar a trabalhar com ácaros. Agradeço a orientação e confiança.

Ao meu coorientador Dr. Noeli Juarez Ferla, pela orientação, confiança e pelas oportunidades que me disponibilizou durante todos estes anos.

Aos colegas do Laboratório de Entomologia - Ecologia de Abelhas, pelos bons momentos e discussões científicas.

À Universidade do Vale do Taquari - Univates pela disponibilização da infraestrutura necessária para a realização deste estudo.

Aos colegas do Laboratório de Acarologia da Univates, em especial a Luana Fabrina Rodighero pelo auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho e Wesley Borges Wurlitzer pelo apoio nos campos.

À toda minha família, especialmente meu pai e minha mãe (*in memorian*), por todo apoio e incentivo durante toda minha vida.

Aos colegas Dr. Charles Fernando dos Santos e Dr. Guilherme Liberato da Silva pelas contribuições neste trabalho.

A todos os meliponicultores que se disponibilizaram em colaborar.

À comissão examinadora, pela presença e pelas contribuições.

E a todos aqueles que não foram citados aqui, mas contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A maioria dos ácaros associados a abelhas são mutualísticos e/ou comensais, atuando como saprófagos e predadores nos ninhos. O objetivo deste estudo foi analisar a comunidade de ácaros associados a colônias de abelhas sem ferrão no Brasil. O estudo foi conduzido em sete localidades: Bom Princípio, Ijuí, Panambi, Porto Alegre, Rolante, Santa Maria e Venâncio Aires. Em cada localidade, avaliamos colônias de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lepeletier, *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier) e *Tetragonisca fiebrigi* (Schwarz), totalizando 21 amostras de cada espécie, exceto para *S. bipunctata* da qual obtivemos 16 amostras. O procedimento de coleta direta de ácaros das colônias, com o uso de pincel embebido em álcool 70%, contemplou 1) o tubo de entrada, 2) parede interna da colmeia e 3) potes de mel. Além disso, foram coletados para exame em laboratório 4) invólucro de cerume, 5) pólen, 6) alvéolos de cria e 7) abelhas adultas. Estimamos o número total de espécies de ácaros não observadas a partir da equação de Chao. Realizamos o perfil de diversidade usando a ordem de diversidade da série de Hill, para avaliar amplamente a diversidade de ácaros nas colônias. Para testar a dissimilaridade na composição utilizamos Escalonamento Multidimensional Não-Métrico e Permanova, realizamos análise SIMPER para avaliar quais espécies contribuíram para a dissimilaridade na composição de espécies. As interações entre os ácaros e as suas respectivas abelhas hospedeiras foram analisadas utilizando a análise de rede ecológica. Do total de 1.458 ácaros coletados a maior abundância foi registrada em *M. quadrifasciata* (938), seguida de *S. bipunctata* (408) e *T. fiebrigi* (112). Encontramos 18 espécies/morfoespécies de ácaros associados às colônias ( $\text{Chao} = 22 \pm 5$ ), sendo cinco são novas espécies. As espécies mais abundantes foram *Hypoaspis alfabetica* Berlese (773), *Melissotydeus bipunctata* Da-Costa et al. (363) e *Lorryia meliponarum* Da-Costa et al. (127). O perfil de diversidade de Hill indicou que a riqueza de ácaros (riqueza,  $q = 0$ ) é mais alta em *M. quadrifasciata* do que em *S. bipunctata* e *T. fiebrigi*. A composição acarina se diferenciou nas espécies de abelhas analisadas (stress = 0,0011; Permanova,  $F_{(2,87)} = 14,65$ ;  $R^2=0,25$ ;  $p < 0,001$ ). A rede de interação apresentou especificidade e compartilhamento de algumas espécies de ácaros entre as três espécies de abelhas sem ferrão. Encontramos cinco novas espécies de ácaros, três novas espécies de Iolinidae (*Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nova, *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nova 1 e *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nova 2) e duas de Tydeidae (*Lorryia meliponarum* Da-Costa et al. 2019 e *Melissotydeus bipunctata* Da-Costa et al. 2019). Este trabalho evidencia que as abelhas sem ferrão abrigam uma alta diversidade de ácaros e que a composição da comunidade acarina é diferente de acordo com a espécie de abelha hospedeira.

Palavras-chave: Colônias; Interações ecológicas; Meliponários; Meliponini

## ABSTRACT

### INTERACTIONS BETWEEN MITES AND STINGLESS BEES: DIVERSITY AND DESCRIPTIONS OF NEW SPECIES

Most of mites associated with bees are mutualistic and/or commensal, acting as saprophagous or predator in nests. The aim of this study was analyze the mite community associated with stingless bees in Brazil. The study was conducted in seven counties: Bom Princípio, Ijuí, Panambi, Porto Alegre, Rolante, Santa Maria e Venâncio Aires. In each locality, we evaluate colonies of *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lepeletier, *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier) e *Tetragonisca fiebrigi* (Schwarz), totalizing 21 samples of each species, except for *S. bipunctata*, which we obtain just 16 colonies. The procedure of sampling with 70% alcohol-soaked brush included 1) inlet tube, 2) internal wall of the colonies, and 3) pots of honey. Additionally, was collected for laboratory exam 4) cerumen wrapper, 5) pollen, 6) brood cells and 7) adult bees. We estimate the total of mite species not observed from the Chao equation. We perform the Hill's diversity profile, to broadly evaluate the mite diversity in the colonies. To test the dissimilarity in composition we used Non-Metric Multidimensional Scaling and Permanova and perform SIMPER analysis to evaluate which species contributed to the dissimilarity in species composition. The interactions between mites and their respective host bees was analyzed using ecological network analysis. Of the 1.458 mites collected, the highest abundance was recorded in *M. quadrifasciata* (938), followed by *S. bipunctata* (408) and *T. fiebrigi* (112). We found 18 species/morphospecies of colony-associated mites (Chao =  $22 \pm 5$ ), with five new species. The most abundant species were *Hypoaspis alfabetica* Berlese (773), *Melissotydeus bipunctata* Da-Costa et al. (363) e *Lorryia meliponarum* Da-Costa et al. (127). Hill's diversity profile indicated that mite species diversity (richness,  $q = 0$ ) is higher in *M. quadrifasciata* than in *S. bipunctata* and *T. fiebrigi*. The composition of mites species differs in the bees species analyzed (stress = 0.0011; Permanova,  $F_{(2,87)} = 14.65$ ;  $R^2 = 0.25$ ;  $p < 0.001$ ). The interaction network showed specificity and some species of mites among the three species of stingless bees. The five new species of mites belongs to family Iolinidae (*Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nova, *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nova 1 and *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nova 2) and two from Tydeidae (*Lorryia meliponarum* Da-Costa et al. 2019 and *Melissotydeus bipunctata* Da-Costa et al. 2019). The study evidence that stingless bees harbor a high diversity of mites and that the composition of the acarine community differs among each species of host bee.

Keywords: Colonies; Ecological interactions; Meliponaries; Meliponini

## APRESENTAÇÃO

As comunidades ecológicas apresentam uma ampla variedade de espécies que interagem umas com as outras e são as principais componentes da biodiversidade, já que todos os organismos dependem de interações para alimentação, reprodução e abrigo (Thompson 2005; Fontaine *et al.* 2011). Os ácaros apresentam relações simbióticas obrigatórias com vertebrados e invertebrados (Lindquist 1975; Krantz 2009). Em ninhos de insetos sociais há registro de uma grande diversidade e são grupo dominante de artrópodes em colônias de abelhas (Eickwort 1994; Sammatoro *et al.* 2000; Haq *et al.* 2010).

As interações entre ácaros e abelhas incluem parasitismo, mutualismo e comensalismo (Eickwort 1994; Sammatoro *et al.* 2000; Okabe 2013). No caso do parasitismo, *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) é considerado o principal ácaro ectoparasita associado a *Apis mellifera* Linnaeus causando perdas significativas para a apicultura em todo o mundo, podendo alcançar o nível de praga em algumas regiões (Sammatoro *et al.* 2000; Genersch 2010). Este ácaro danifica as abelhas hospedeiras pelo consumo de gordura corporal (Ramsey *et al.* 2019), e sua alimentação causa efeitos diretos e indiretos, podendo ser vetor de vírus, como por exemplo, o vírus da asa deformada (Miranda & Genersch 2010; Rosenkranz *et al.* 2010).

Entretanto, a maioria dos ácaros associados às abelhas são mutualísticos e comensais, atuando como saprófagos e predadores (Eickwort 1990; Eickwort 1994). Estas atividades não têm efeito prejudicial às abelhas, sendo algumas delas relatadas como benéficas, como a presença de ácaros predadores que reduzem o nível populacional de organismos que podem ser danosos à colônia (Eickwort 1994). Outros podem se alimentar de insetos mortos e ainda colaborar na diminuição de fungos e bactérias presentes nos ninhos (Sammatoro *et al.* 2000; Cordeiro *et al.* 2011; Walter & Proctor 2013).

A fauna acarina tem associações obrigatórias em ninhos de abelhas sem ferrão, auxiliando-as na limpeza da colônia (Flechtmann & Camargo 1974; Eickwort 1994; Menezes *et al.* 2009). Porém, existem poucas informações acerca da associação dos ácaros com meliponíneos. Dois tipos de associações são sugeridos, sendo que uma com os ácaros controlando outras espécies de ácaros e a função de remoção de patógenos principalmente por *Proctotydaeus (Neotydeolus) therapeutikos* Flechtmann & Camargo, 1974 que se alimenta de fungos em ninhos de *Scaptotrigona postica* Latreille (Flechtmann & Camargo 1974; Okabe 2013).

Tendo em vista a importâncias destas interações, o presente estudo analisa a comunidade de ácaros associada a colônias de três espécies de abelhas sem ferrão no Sul do Brasil e descreve cinco novas espécies de ácaros associados a estas abelhas. A partir dos resultados deste estudo foram produzidos três manuscritos, que estão estruturados de acordo com os seguintes periódicos científicos, *Apidologie*, *Systematic and Applied Acarology* e *Zootaxa*.

O manuscrito I avalia a comunidade acarina associada a colônias de abelhas sem ferrão no Sul do Brasil. Nossos resultados mostraram 18 espécies/morfoespécies de ácaros associados às colônias e que a composição da comunidade acarina é diferente entre as espécies de abelhas hospedeiras. O manuscrito II descreve três novas espécies de *Proctotydaeus* (Acari: Iolinidae), *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov. Da-Costa, Rodighero & Ferla, *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1 Da-Costa, Rodighero & Ferla e *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 2 Da-Costa, Rodighero & Ferla sp. nov., baseados em espécimes coletados em abelhas sem ferrão no Rio Grande do Sul, Brasil. E o manuscrito III descreve duas novas espécies de Tydeidae, *Lorryia meliponarum* e *Melissotydeus bipunctata*, associados a colônias de abelhas sem ferrão no Brasil.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cordeiro GD, Taniguchi M, Flechtmann CHW, Alves-dos-Santos I (2011) Phoretic mites (Acari: Chaetodactylidae) associated with the solitary bee *Tetrapedia diversipes* (Apidae: Tetrapediini). *Apidologie* 42:128-139. <https://doi.org/10.1051/apido/2010044>
- Eickwort G (1990) Associations of mites with social insects. *Ann Rev Entomol* 35:469-488. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.35.010190.002345>
- Eickwort G (1994) Evolution and life-history patterns of mites associates with bee. In: Houck M. (ed.) *Mites: Ecological & evolutionary analyses of life-history patterns*. Springer, pp 218-251.
- Flechtmann CHW, Camargo CA (1974) Acari associated with stingless bees (Meliponidae, Hymenoptera) from Brazil. *Proceedings of the International Congress of Acarology* 315-319.
- Fontaine C, Guimarães Jr PR, Kéfi S, Loeuille N, Memmott J, van der Putten WH, van Veen FJF, Thébault E (2011) The ecological and evolutionary implications of merging different types of networks. *Ecol Lett* 14:1170-1181. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01688.x>
- Genersch E (2010) Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Appl Microbiol Biot* 87:87-97. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2573-8>
- Haq MA, Sumangala K, Ramani N (2010) Mites associated with concealed and open nests of *Apis cerana indica* in Kerala, South India. In: Sabelis MW, Bruin J (eds.) *Trend in Acarology*. Springer, pp. 371-373.
- Krantz GW (2009) Habits and habitats. In: Krantz GW, Walter DE (eds.) *A manual of Acarology*. Lubbock, Texas Tech University Press, pp. 64-82.
- Lindquist EE (1975) Associations between mites and other arthropods in forest floor habitat. *Can Ent* 107:425-437.
- Menezes C, Colletto-Silva A, Gazeta GS, Kerr WE (2009) Infestation by *Pyemotes tritici* (Acari, Pyemotidae) causes death of stingless bee colonies (Hymenoptera: Meliponina). *Genet Mol Res* 2:630-634. <https://doi.org/10.4238/vol8-2kerr021>
- Miranda JR, Genersch E (2010) Deformed wing virus. *J Invertebra Pathol* 103:48-61. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.012>
- Okabe K (2013) Ecological characteristics of insects that affect symbiotic relationships with mites. *Entomol Sci* 16:363–378. <https://doi.org/10.1111/ens.12050>
- Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol* 103:96-115. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>
- Sammataro D, Gerson U, Needham G (2000) Parasitic mites of honey bees: life history, implications, and impact. *Annu Ver Entomol* 45:519-548. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.519>

Thompson JN (2005) *The geographic mosaic of coevolution*. University of Chicago Press  
p.400.

Walter DE, Proctor HC (2013) *Mites: ecology, evolution & behaviour*. Springer, 2ed, pp. 494.



**CAPÍTULO I**  
**MANUSCRITO CIENTÍFICO**

**COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE ACARINA É DETERMINADA PELA ESPÉCIE  
DE ABELHA HOSPEDEIRA\***

\*Posteriormente será feita a tradução para o inglês

\* Este capítulo está formatado de acordo com periódico *Apidologie*

## Composição da comunidade acarina é determinada pela espécie de abelha hospedeira

Tairis Da-Costa<sup>1,2</sup>, Luana Fabrina Rodighero<sup>2</sup>, Charles Fernando dos Santos<sup>1</sup>, Noeli Juarez Ferla<sup>2</sup>, Betina Blochtein<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Entomologia, Escola de Ciências da Saúde e da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Acarologia, Tecnovates, Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado, RS, Brasil.

\*Autor correspondente: tairiscosta@gmail.com

**Resumo** – Ácaros e abelhas podem se relacionar de várias formas, com abelhas sem ferrão os ácaros podem estabelecer associações mutualísticas e/ou comensais. O objetivo deste estudo foi avaliar a comunidade acarina associada a colônias de abelhas sem ferrão. O estudo foi conduzido em sete localidades no Sul do Brasil, em cada localidade, avaliamos colônias de *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lepeletier, *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier) e *Tetragonisca fiebrigi*. Estimamos o número total de espécies de ácaros não observadas a partir da equação de Chao e realizamos o perfil de diversidade usando a ordem de diversidade da série de Hill. Testamos a dissimilaridade na composição utilizando Escalonamento Multidimensional Não-Métrico, Permanova e análise SIMPER. As interações entre os ácaros e as suas respectivas abelhas hospedeiras foram analisadas utilizando a análise de rede ecológica. Encontramos 1.458 ácaros, pertencentes a 18 espécies/morfoespécies (Chao =  $22 \pm 5$ ). As espécies mais abundantes foram *Hypoaspis alfabetica* Berlese (773), *Melissotydeus bipunctata* Da-Costa *et al.* (363) e *Lorryia meliponarum* Da-Costa *et al.* (127). A riqueza de ácaros (riqueza,  $q = 0$ ) é mais alta em *M. quadrifasciata* do que em *S. bipunctata* e *T. fiebrigi* e a composição acarina se diferenciou nas espécies de abelhas analisadas (stress = 0,0011; Permanova,  $F_{(2,87)} = 14,65$ ;  $R^2 = 0,25$ ;  $p < 0,001$ ). A análise de rede de interação apresentou especificidade e compartilhamento de algumas espécies entre as três espécies de abelhas hospedeiras. Este trabalho evidencia que as abelhas sem ferrão abrigam uma alta diversidade de ácaros e que a composição da comunidade acarina é diferente de acordo com a espécie de abelha hospedeira.

Palavras-chave: diversidade/ grupos funcionais/ interações biológicas/ Meliponini

## 1. INTRODUÇÃO

As comunidades ecológicas apresentam uma ampla variedade de espécies que interagem umas com as outras, através de amensalismo, comensalismo, mutualismo, parasitismo ou predação (Thompson 2005). As interações ecológicas mediam a biodiversidade, já que todos os organismos dependem de interações para alimentação, reprodução e abrigo (Thompson 2005; Fontaine et al. 2011). As interações entre espécies são a base dos serviços ecossistêmicos, como produção primária, ciclagem de nutrientes, controle biológico e polinização (Fontaine et al. 2011).

Por exemplo, é sabido que as abelhas estabelecem uma relação mutualística com plantas com flores, pois precisam visitar estas estruturas reprodutivas para coletar pólen e néctar para alimentar sua prole (Mitchell et al. 2009). Com isso, muitas vezes esse comportamento acaba promovendo a polinização das flores e conseqüentemente a reprodução das plantas (Mitchell et al. 2009). Entretanto, as abelhas podem estabelecer relações com muitos outros organismos dentro e fora dos seus ninhos. Fora das colmeias elas podem se relacionar com insetos sugadores de seiva, por exemplo, como fazem as abelhas melíferas (Apini), mamangavas (Bombini) e abelhas sem ferrão (Meliponini) (Bishop 1994; Dimou & Thrasyvoulou 2015; Santos et al. 2019). Dentro dos ninhos suas relações são menos conhecidas, como entre fungos e ácaros (Eickwort 1990; Paludo et al. 2018).

Dentre os ácaros que se associam com abelhas pode-se destacar os ectoparasitas, como *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) que se associa com *A. mellifera* causando perdas significativas para a apicultura em todo o mundo, podendo alcançar o *status* de praga em algumas regiões (Sammatoro et al. 2000; Genersch 2010). *Varroa destructor* danifica as abelhas hospedeiras pelo consumo da gordura corporal (Ramsey et al. 2019) e sua alimentação causa efeitos diretos e indiretos, e pode ser vetor de vírus, como por exemplo, o vírus da asa deformada (DWV) (Miranda & Genersch 2010; Rosenkranz et al. 2010).

Entretanto, as interações entre ácaros e abelhas não estão restritas ao parasitismo, podendo se relacionar através do mutualismo ou comensalismo (Eickwort 1994; Sammatoro et al. 2000; Okabe 2013). A maioria dos ácaros associados às abelhas são mutualísticos e comensais, atuando como saprófagos e predadores em ninhos (Eickwort 1990; Eickwort 1994). Estas atividades são relatadas como benéficas, pois os ácaros predadores são responsáveis pela redução do nível populacional de organismos danosos à colônia, além da diminuição de fungos e bactérias (Sammatoro et al. 2000; Cordeiro et al. 2011; Walter & Proctor 2013).

Muitas espécies de ácaros são específicas de um hospedeiro ou de hospedeiros filogeneticamente ou ecologicamente próximos (Eickwort 1994; Klimov et al. 2007; Hass et al.

2019). Estas interações específicas podem ser devido às adaptações para foresia, coexistência com o hospedeiro ou mesmo evolução de mecanismos fisiológicos (Eickwort 1990). Ácaros de 29 famílias e 90 gêneros são reportados associados a abelhas em geral, sendo apenas 17 gêneros registrados em abelhas sem ferrão (Klimov et al. 2016).

Várias espécies acarinas foram relatadas como especialistas em abelhas sem ferrão, com destaque para as espécies do gênero *Melissotydeus*, Gaudiellidae, Laelapidae e Meliponocoptidae (OConnor 2009; Okabe 2013). Poucas informações sobre os ácaros associados a meliponíneos são conhecidas, mas alguns estudos sugerem dois tipos de associação: ácaros controlando outras espécies acarinas e outros com capacidade de remover patógenos das colônias (Okabe 2013). *Proctotydaeus (Neotydeolus) therapeutikos* Flechtmann & Camargo se alimenta de fungos presentes em ninhos de *Scaptotrigona postica* Latreille (Flechtmann & Camargo 1974).

A criação e o manejo de colmeias de abelhas sem ferrão no Brasil (e outras partes tropicais do mundo) é uma atividade tradicional e tem crescido nos últimos anos, com isso, o transporte de colmeias de diferentes espécies de abelhas sem ferrão para outras localidades, mesmo que dentro de sua área de ocorrência, é comum (Cortopassi-Laurino et al. 2006; Freitas et al. 2009; Contrera et al. 2011; Jaffé et al. 2015; Jaffé et al. 2016). Diante do contexto apresentado, é preciso conhecer a composição de ácaros que vivem dentro das colmeias para se conhecer o potencial impacto do transporte de colmeias ou aquisição de enxames provenientes de localidades distintas sobre a comunidade desses organismos.

Portanto, este trabalho objetiva analisar a comunidade acarina associada a colônias de abelhas sem ferrão para testar se a composição da comunidade de ácaros é determinada pela espécie de abelha. Desta forma, nós predizemos que a comunidade acarina é específica em cada espécie de abelha hospedeira.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### *2.1 Áreas de estudo*

O estudo foi conduzido em meliponários de sete localidades situadas no Bioma Mata Atlântica (seis pontos amostrais) e Pampa (um ponto amostral) no Rio Grande do Sul, Brasil (Figura 1). A Mata Atlântica brasileira é considerada um *hotspot* de biodiversidade e um dos mais importantes biomas brasileiros, até mesmo, da Região Tropical (Myers et al. 2000). Já o Pampa encontra-se em Zona Temperada e possui climas subtropicais e temperados, com estações bem definidas (Roesch et al. 2009), sendo caracterizado pelos campos naturais com

arbustos esparso e as formações florestais são encontradas em áreas de transição com a Mata Atlântica e florestas de galeria (Roesch et al. 2009).

Os meliponários avaliados se encontravam em áreas urbanas e rurais, com presença de lavouras cultivadas com soja, milho e frutíferas, além de remanescentes de florestas nativas no entorno. As amostragens ocorreram no período de primavera e verão (setembro de 2018 - fevereiro 2019).

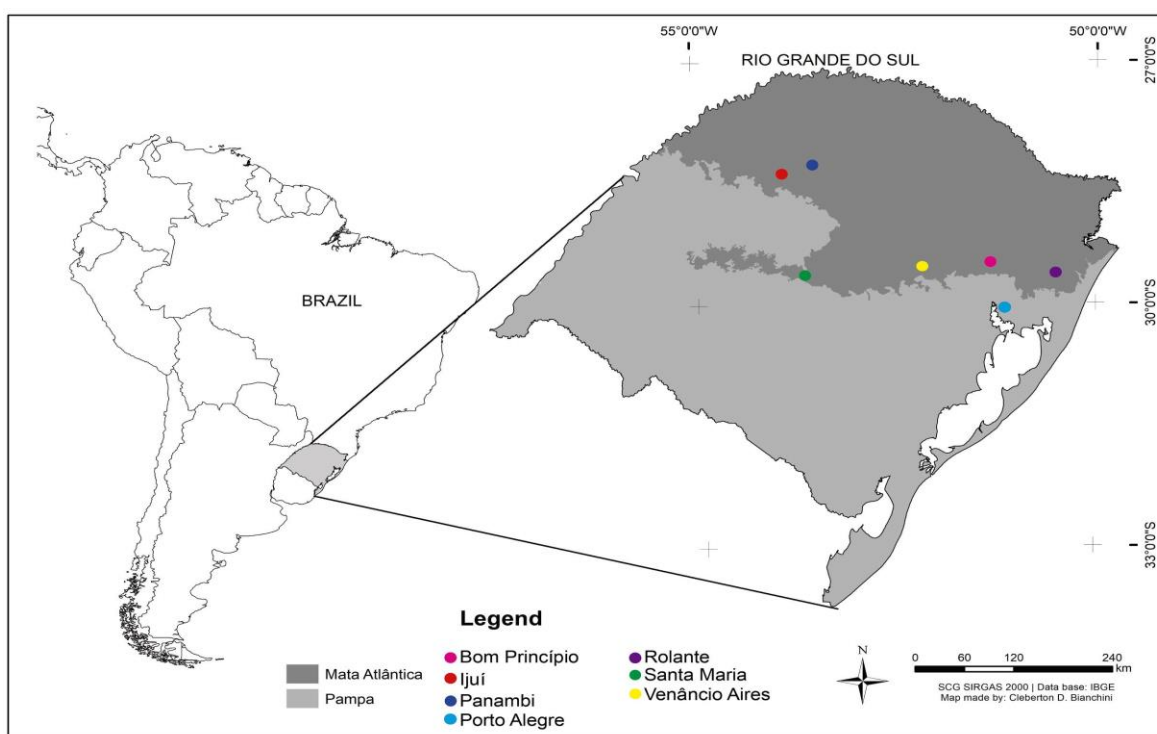


Figura 1: Mapa esquemático com representação do Estado do Rio Grande do Sul, ilustrando os pontos de amostragem das colônias de abelhas sem ferrão: Bom Princípio, Ijuí, Panambi, Porto Alegre, Rolante, Santa Maria e Venâncio Aires. As cores representam as delimitações dos biomas encontrados no Estado do Rio Grande do Sul, Cinza escuro: Mata Atlântica; Cinza claro: Pampa.

## 2.2 Amostragem

Para as amostragens de ácaros foram selecionadas três espécies de abelhas sem ferrão, *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lepeletier, *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier) e *Tetragonisca fiebrigi* (Schwarz). Estas espécies foram escolhidas devido a representatividade no estado e no país. Em cada localidade foram selecionadas três colônias de cada espécie de abelhas, totalizando 21 colônias/espécie, exceto para *S. bipunctata* que foram analisadas somente 16 colônias (ausência de três colônias em Ijuí e duas colônias em Panambi). As

colônias se encontravam em colmeias de madeira e estavam distribuídas por espécies em suportes individuais.

Buscando uma análise ampla de cada colônia foi coletado material proveniente de diversas partes da colmeia. O procedimento de coleta direta de ácaros foi com uso de pincel embebido em álcool 70% que contemplou: 1) o tubo de entrada; 2) parede interna da colmeia e os 3) 1-3 potes de mel (parte externa). Além disso, foram coletados materiais para exame em laboratório, sendo eles: 4) aproximadamente 20 cm<sup>2</sup> de invólucro de cerume; 5) 1-10g de pólen; 6) 20 alvéolos de cria e 7) 10 abelhas adultas forrageiras. Todo o material coletado foi observado em microscópio estereoscópio binocular (Leica S6E) e os ácaros foram retirados com o auxílio de pincel de ponta fina e montados em lâminas de microscopia em meio de Hoyer (Jeppson et al. 1975) e mantidas em estufa entre 50-60°C por cerca de sete dias, para fixação, distensão e clarificação dos espécimes e secagem do meio.

Os espécimes de abelhas coletados neste estudo foram depositados na Coleção de Abelhas do Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Os espécimes de ácaros foram depositados no Laboratório de Acarologia da Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado, Rio Grande do Sul.

### 2.3 Análise de dados

Primeiramente, nós estimamos o número total de espécies de ácaros não observados a partir da equação de Chao (Chao et al. 2014) usando a função ‘specpool’ do pacote *vegan*. Após isso, nós avaliamos se o nosso esforço amostral foi suficiente para amostrarmos toda a riqueza de ácaros que vivem dentro das colmeias de espécies de abelhas sem ferrão selecionadas. Assim, realizamos uma curva de rarefação das espécies de ácaros calculando a interpolação/extrapolação de acordo com a quantidade de indivíduos amostrados.

Após isso, realizamos um perfil de diversidade usando a ordem de diversidade da série de Hill (Hill 1973). Esse enfoque permite comparar a diversidade de ácaros de uma forma dinâmica ao longo dos parâmetros na escala (diversidade de Rényi) entre diferentes comunidades (Chao et al. 2014). Assim, por exemplo, se os valores nessa escala forem todos maiores para uma comunidade específica, então, ela é considerada a mais diversa dentre todas as aquelas analisadas (Tóthmérész 1995). Para gerar estas estimativas, utilizamos uma matriz de ácaros associados às colônias das três espécies de abelhas sem ferrão estudadas, construindo o perfil de diversidade usando a função ‘renyi’ do pacote *vegan* (Oksanen et al. 2018).

A composição da comunidade de ácaros associados às três espécies de abelhas sem ferrão foi avaliada por meio de uma análise de ordenamento denominada Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS). Esse método foi utilizado para observar a dissimilaridade na composição de ácaros relacionados às espécies de abelhas (*M. quadrifasciata*, *S. bipunctata* e *T. fiebrigi*). Aplicamos o índice de dissimilaridade de Bray-Curtis (matriz de abundância) utilizando duas funções do pacote *vegan* ('metaMDS' e 'stressplot') para realizar a análise e avaliar a qualidade do ordenamento gerado, respectivamente. Posteriormente, testamos se a composição da comunidade de ácaros era diferente de acordo com o ninho das espécies de abelha hospedeira.

Portanto, realizamos ANOVA com permutações (Permanova, tipo II) usando a função 'Adonis.II' do pacote *RVAideMemoire* para testar as diferenças entre os grupos (Hervé 2019). Se significativo, realizamos comparações pareadas utilizando a função 'pairwise.perm.manova' do mesmo pacote. Finalmente, fizemos uma análise de percentual de similaridade (Simper) para avaliar quais espécies contribuíram para a dissimilaridade da composição de espécies de ácaros. Essa análise foi feita utilizando a função 'simper' do pacote *vegan* (Oksanen et al. 2016). Todas as análises foram realizadas no R (R Core Team, 2019).

As interações entre os ácaros e as suas respectivas abelhas hospedeiras foram analisadas utilizando a análise de rede ecológica por meio da função 'networklevel' do pacote *Bipartite*, a qual calcula diversos índices que descrevem a estrutura da rede (Dormann et al. 2019). Neste estudo avaliamos a conectância, que expressa a proporção de todas as interações possíveis que são realizadas entre as espécies de ácaros com as abelhas sem ferrão (Dunne et al. 2002; Blüthgen et al. 2006). Para visualização da rede de interação, nós utilizamos a função 'plotweb' do pacote *bipartite* (Dormann et al. 2019).

### 3. RESULTADOS

No total foram coletados 1.458 ácaros associados a *M. quadrifasciata*, *S. bipunctata* e *T. fiebrigi*, com a ocorrência de 18 espécies/morfoespécies, pertencentes a 14 gêneros e dez famílias (Material suplementar 1), sendo reconhecidas cinco são novas espécies. A espécie de abelha que apresentou maior abundância de ácaros foi *M. quadrifasciata* (938), seguido de *S. bipunctata* (408) e *T. fiebrigi* (112). A maior abundância de ácaros foi encontrada na parede interna da colmeia (769), seguido do invólucro (504), potes de mel (67) e alvéolos de cria (64).

As espécies mais abundantes foram *Hypoaspis alfabetica* Berlese (Laelapidae) (773 espécimes), *Melissotydeus bipunctata* Da-Costa et al. (Tydeidae) (363), *Lorryia meliponarum*

Da-Costa et al. (Tydeidae) (127) e *Tyrophagus putrescentiae* Schrank (Acaridae) (47). As espécies mais abundantes em *M. quadrifasciata* foram *H. alfabetica* (773) e *L. meliponarum* (61), em *S. bipunctata* foram *M. bipunctata* (363) e *Proctotydeus* (*Neotydeolus*) sp. nova (21) e em *T. fiebrigi* as espécies mais abundantes foram *L. meliponarum* (66) e *T. putrescentiae* (16).

Embora tenhamos encontrado 18 espécies/morfoespécies acarinas associadas a abelhas sem ferrão no sul do Brasil, o estimador Chao sugere que, se mais colônias fossem amostradas, haveria maior probabilidade de encontrarmos mais espécies de ácaros (Chao =  $22 \pm 5$ ) (Figura 2). De acordo com nossa análise do esforço amostral, nós temos evidências de que *M. quadrifasciata* foi otimamente amostrada visto que por volta de 1.000 ácaros coletados não aumenta a probabilidade de amostrarmos mais espécies de ácaros. Entretanto, as curvas de rarefação para *S. bipunctata* e *T. fiebrigi* sugerem que a riqueza de ácaros deve ser maior do que a encontrada aqui.



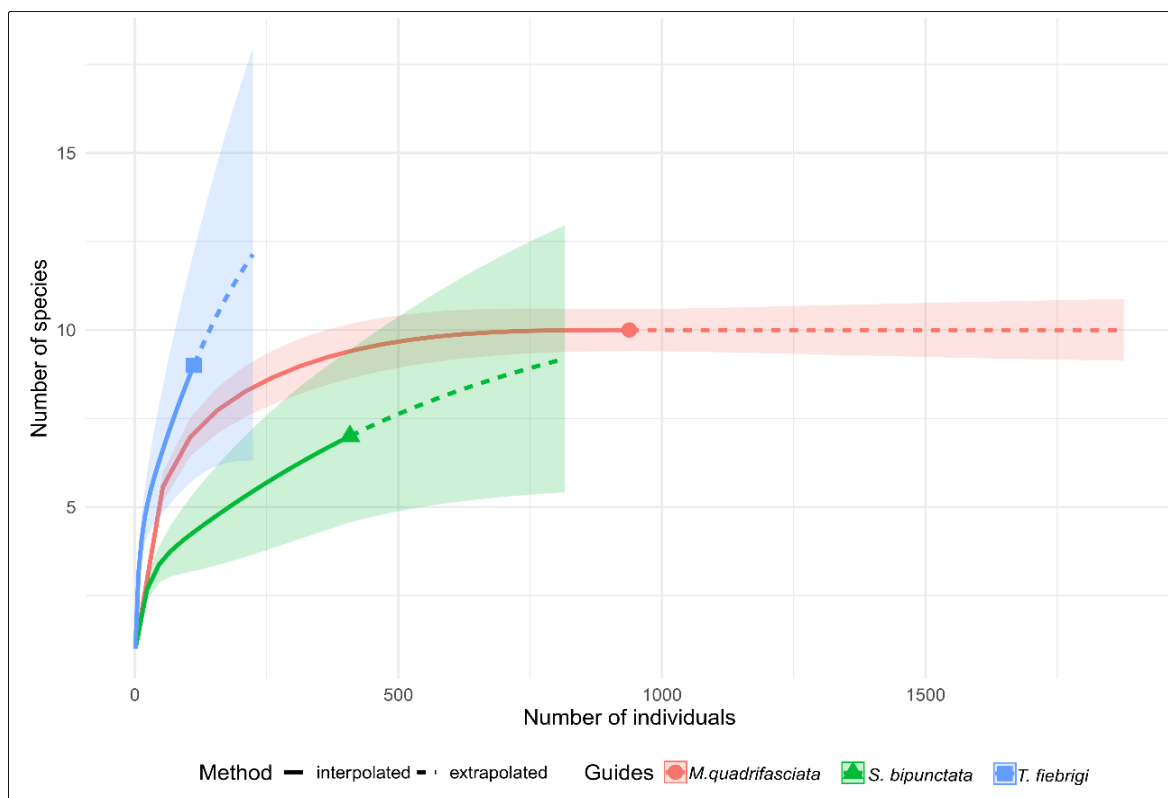


Figura 2: Curva de rarefação de espécies, com o respectivo número de espécies acarinas encontradas e o número de espécies esperadas, nas três espécies de abelhas sem ferrão analisadas. Interpolação (linhas sólidas) e extrapolação (linhas tracejadas).

O perfil de diversidade de Hill demonstra que a riqueza acarina é mais alta em *M. quadrifasciata* do que em *S. bipunctata* e *T. fiebrigi*. Quando observado o índice de Shannon-Weiner, *T. fiebrigi* mostra-se superior neste índice de diversidade, sugerindo a presença de espécies raras, enquanto *S. bipunctata* permanece subsequente. Quando analisado o índice de Simpson, o índice de dominância é maior em *T. fiebrigi* do que em *M. quadrifasciata* e *S. bipunctata*. Estes resultados sugerem que *M. quadrifasciata* apresenta maior riqueza de espécies, mas para os demais índices que utilizam valores de abundância *T. fiebrigi* apresenta maior diversidade que os outros dois táxons (Figura 3).

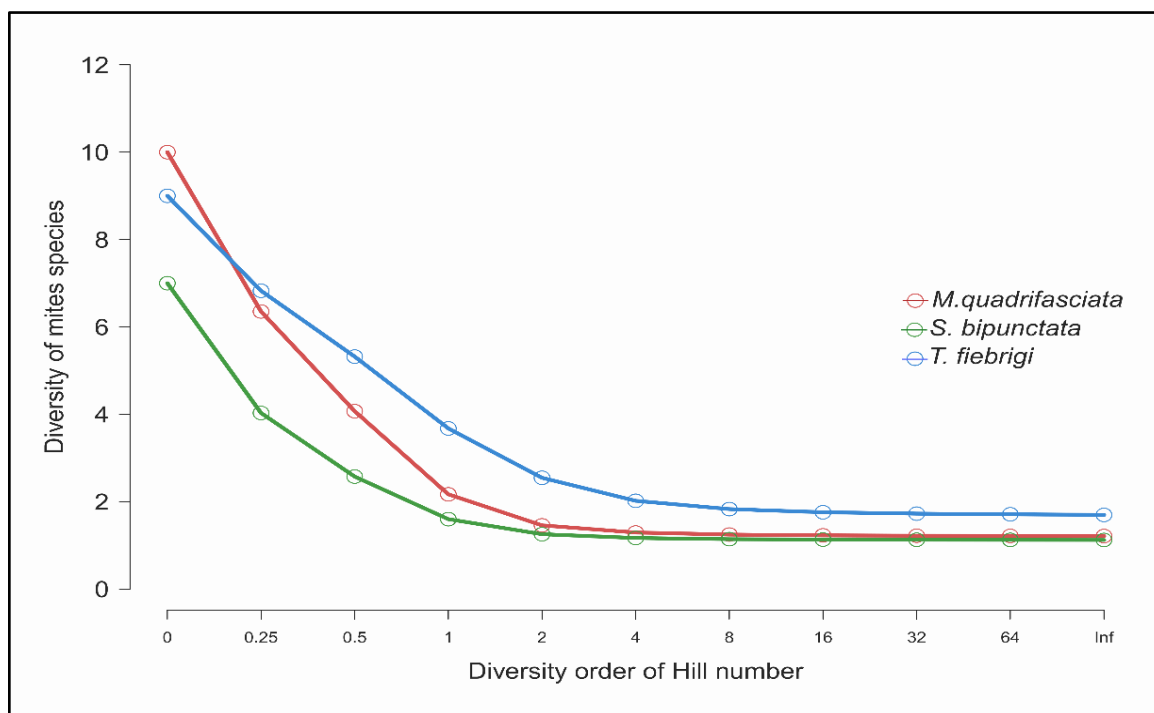


Figura 3: Perfil de diversidade de Hill, diversidade de ácaros em três espécies de abelhas sem ferrão no Sul do Brasil. No eixo horizontal (esquerda) as espécies raras se tornam mais importantes, enquanto para o lado oposto (direita) há mais equitabilidade das proporções. Alguns índices podem ser observados no eixo horizontal: 0 = riqueza de espécies; 1 = índice de Shannon; 2= Índice de Simpson; Inf = índice de Berger-Parker.

A qualidade da nossa análise de ordenação (NMDS) foi considerada boa visto o baixo valor do stress (0,0011). Nós podemos afirmar que as três espécies de abelhas sem ferrão são compostas por uma comunidade de ácaros discreta (Permanova,  $F_{(2,87)} = 14,65$ ;  $R^2=0,25$ ;  $p < 0,001$ ) (Figura 4; Tabela 1). Utilizando somente a matriz de abundância das espécies de ácaros, sem incluir nenhuma outra variável, o ordenamento gerado explica 1/4 da diferença na composição da comunidade de ácaros em relação às espécies de abelhas sem ferrão estudadas. Assim, mesmo havendo alguma sobreposição na comunidade de ácaros em relação às espécies de abelhas, elas estão associadas a comunidades de ácaros distintas. Na análise pareada todas as três espécies de abelhas sem ferrão diferem entre si (Permanova, análise pareada  $p < 0,001$ ).

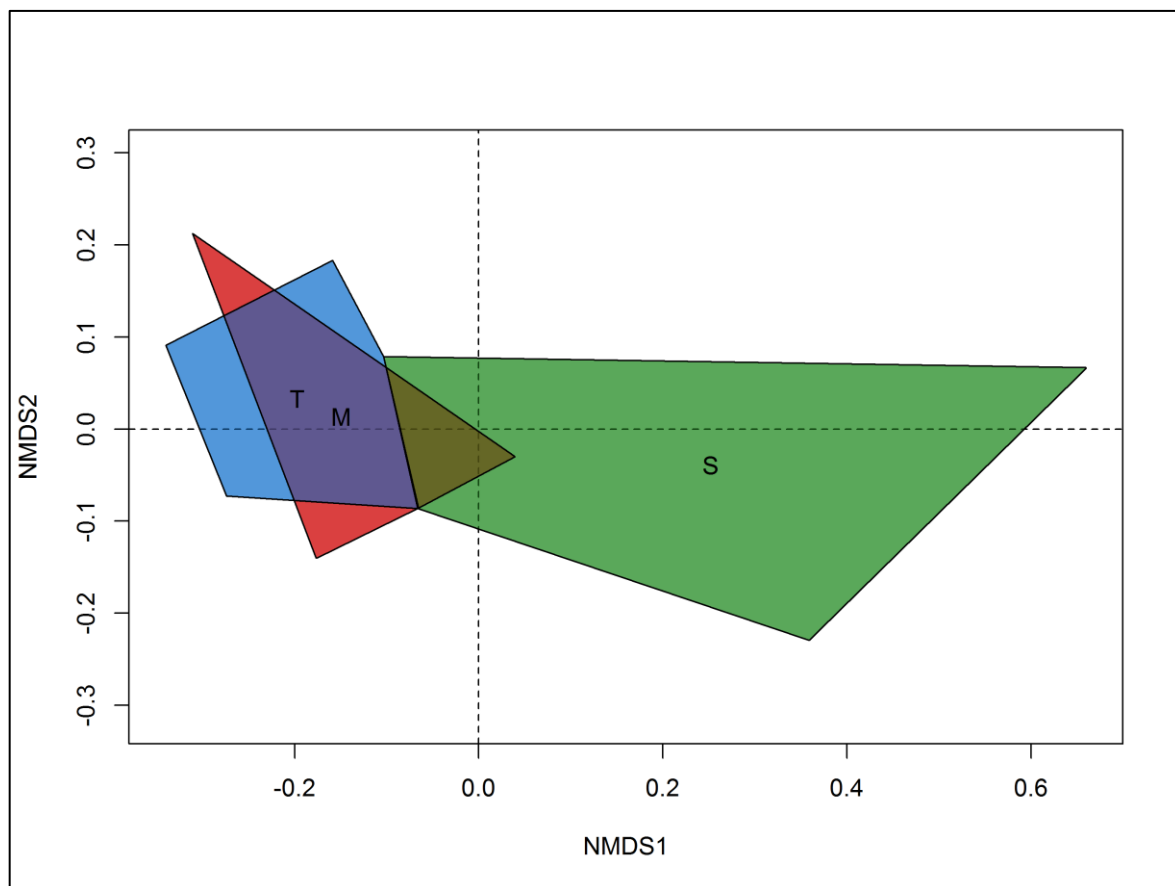


Figura 4: Escalonamento multidimensional não métrico (distância de Bray-Curtis) representando as espécies de ácaros encontrados em colônias de abelhas sem ferrão no sul do Brasil. Letras dentro dos polígonos indicam as espécies de abelhas. M = *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*; S = *Scaptotrigona bipunctata*; T = *Tetragonisca fiebrigi*. (PERMANOVA,  $p < 0,001$ ).

Tabela 1. Contribuições acumulativas da comunidade de ácaros associados a colônias de abelhas sem ferrão no Sul do Brasil. M = *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*; S = *Scaptotrigona bipunctata*; T = *Tetragonisca fiebrigi*.

Teste de Permanova tipo II					
	Df	Sum Fsqs	R2	F	p
<b>Sp.</b>	2	9,52	0,25	14,65	0,001
<b>Residual</b>	87	28,27	0,75		
	89	37,80	1,00		
Comparações entre a comunidade de ácaros nas espécies de abelhas sem ferrão (p-valores)					
	M	S			
<b>S</b>	0,001	-			
<b>T</b>	0,001	0,001			

Na análise de Simper as espécies mais influentes para a diferenciação da comunidade acarina entre *M. quadrifasciata* e *S. bipunctata* foram *T. putrescentiae* (0,75), *H. alfabetica* (0,68) e *M. bipunctata* (0,38). Para a diferenciação entre *M. quadrifasciata* e *T. fiebrigi* as espécies que mais contribuíram foram *Proctotydeus (Oriolella)* sp. nova 1 (0,70), *Platyglyphus* sp. (0,62) e *T. putrescentiae* (0,54). Já para dissimilaridade entre *S. bipunctata* e *T. fiebrigi* as espécies acarinas mais influentes foram *Proctotydeus (Neotydeolus)* sp. nova (0,75), *T. putrescentiae* (0,65) e *M. bipunctata* (0,49). As seis espécies acarinas listadas pela análise de Simper determinaram mais de 70% da dissimilaridade entre as espécies de abelhas.

A análise de rede de interação apresentou uma proporção de interações ecológicas realizadas vs. possíveis (conectância) de 0,48, que representa uma conectância baixa, indicada pela presença de espécies generalistas na rede, destacando-se *Forcellinia* sp. e *T. putrescentiae* presentes nas três espécies de abelhas (Figura 5). A única espécie compartilhada entre *S. bipunctata* e *T. fiebrigi* foi *Tarsonemus (Tarsonemus)* sp. e em *M. quadrifasciata* e *T. fiebrigi* as espécies compartilhadas foram *Cheletomimus (Hemicheyletia) gracilis* Fain, Bochkov & Corpuz-Raros, *L. meliponarum* e *Lorryia reticulata* (Oudemans).

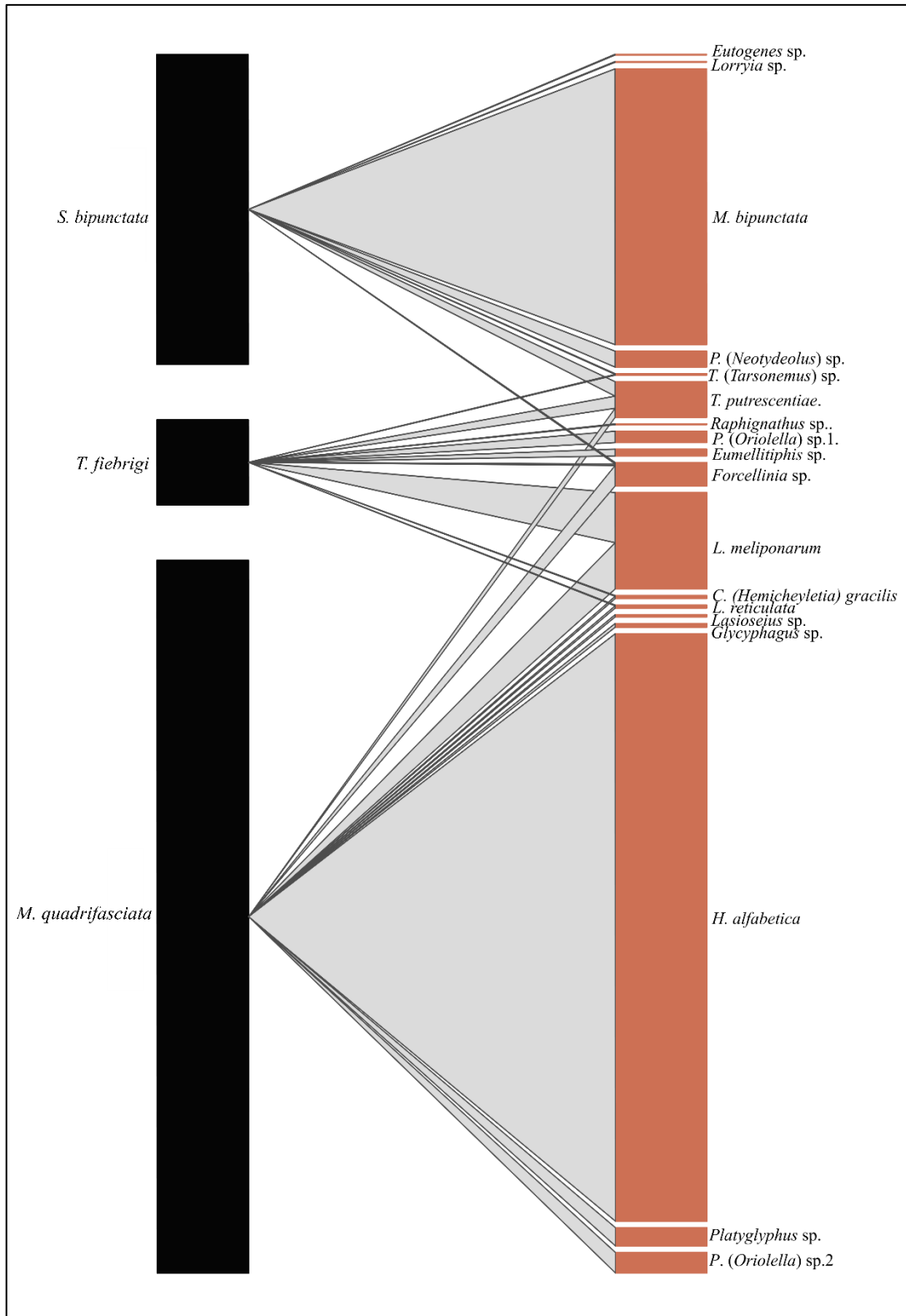


Figura 5: Rede ecológica bipartida representando as interações entre ácaros (nível superior) e abelhas sem ferrão (nível inferior) no Rio Grande do Sul.

#### 4. DISCUSSÃO

Nossa expectativa inicial de que a comunidade de ácaros fosse diferente em cada espécie de abelha foi corroborada, pois a comunidade acarina se diferenciou nas espécies de abelhas analisadas. As interações entre ácaros-abelhas apresentaram especificidade, apesar de algumas espécies serem compartilhadas entre as três espécies de abelhas. Nossos resultados mostraram que as abelhas sem ferrão abrigam uma alta diversidade de ácaros e o número de espécies associadas pode aumentar de acordo com as amostragens e com as espécies de abelhas analisadas.

Encontramos 14 gêneros e 18 espécies/morfoespécies, sendo já registrados anteriormente cerca de 17 gêneros em abelhas sem ferrão (Klimov et al. 2016), das 18 espécies encontradas, cinco foram reconhecidas como novas espécies (Da-Costa et al. 2019). Neste estudo não foi observado nenhuma espécie com comportamento parasita no corpo das abelhas analisadas. A comunidade de ácaros foi diferente em cada espécie de abelha hospedeira, sugerindo que a estruturação e a composição dos ninhos destas abelhas, e possivelmente algumas características biológicas (e.g. comportamento), determinam a comunidade de espécies de ácaros. Estes organismos encontram um nicho ecológico adequado e específico para colonizarem, além disso fatores externos podem auxiliar na diferenciação da comunidade, como também nidificação e tamanho corporal (Hass et al. 2019).

A predominância de *H. alfabetica* em *M. quadrifasciata* pode estar relacionada à alta diversidade de habitats já registrados para representantes desta família. Laelapidae apresenta uma grande diversidade de espécies que podem ser parasitas de invertebrados e vertebrados e predadores, habitando solo e ninhos de vertebrados e artrópodes (Faraji & Halliday 2009; Joharchi & Shahedi 2016). Esta espécie foi encontrada somente em associação com *M. quadrifasciata*, demonstrando aparentemente uma especificidade nesta espécie de abelha. Esta informação reforça a forte associação entre estes dois grupos, ajudando a corroborar com a suspeita de que vários gêneros de Laelapidae são especialistas em abelhas sem ferrão (Okabe 2013).

Os tideídeos, *L. meliponarum* e *M. bipunctata*, também foram um grupo abundante nas colônias de abelhas, podendo estarem relacionados à presença de fungos nos ninhos de abelhas sem ferrão. Sabe-se que determinados fungos se proliferam nos ninhos e beneficiam as abelhas, como é o caso *Zygosaccharomyces* sp. que é fonte de esterol e ajuda no desenvolvimento larval de *Scaptotrigona depilis* (Moure) (Paludo et al. 2018). Os tideídeos apresentam hábito alimentar variado, mas na sua maioria são fungívoros (Silva et al. 2014; Silva et al. 2016). Acredita-se

que estes organismos sejam benéficos para o hospedeiro no controle da proliferação de fungos (Eickwort, 1994; Oconnor & Klimov 2019).

No Brasil são relatadas duas espécies de *Melissotydeus* associados a abelhas: *M. bipunctata* e *M. macrosolenus* (André 1985; Da-Costa et al. 2019), sendo aceito que este gênero seja mutualístico (Eickwort, 1994). *Tyrophagus putrescentiae* foi encontrado nas três espécies de abelhas, isto pode estar relacionada ao seu hábito generalista, pois se alimenta de fungos, detritos de pólen e nematoides (Klimov et al. 2016). Esta espécie já foi encontrada infestando colmeias de *A. mellifera* no Brasil (Texeira et al. 2014). Neste estudo ele esteve presente nas três espécies de abelhas avaliadas, em populações relativamente baixas, e não foram percebidos danos nas colônias.

Os Iolinidae também foram abundantes nos ninhos e a espécie mais representativa desta família foi *Proctotydaeus (Oriolella) sp. nova 2*, presente somente em colônias de *M. quadrifasciata*. Membros desta família podem ser encontrados em plantas, solo e associados a ninhos de insetos, *P. (Neotydeoulus) therapeutikos* possivelmente se alimenta de fungos em ninhos de *S. postica* (Flechtmann & Camargo 1974; Theron et al. 2012). Flechtmann & Camargo (1974) destacaram perdas de 50% em células de cria de *S. postica* sem presença de ácaros, devido a uma doença fúngica que se desenvolvia rapidamente nas células de cria, após a introdução de *P. (N.) therapeutikos* observaram uma diminuição do nível de mortalidade para cerca de 3%.

A rede de interação foi construída com todas as espécies de ácaros encontradas, partindo da hipótese que nenhuma das espécies apresentam interações desarmônicas com o hospedeiro. Esta análise demonstrou baixa conectância, o que pode ser devido principalmente a *Forcellinia sp.* e *T. putrescentiae* que são espécies generalistas. Já algumas espécies apresentaram fortes associações com o hospedeiro, corroborando com informações que espécies de Laelapidae, Gaudiellidae e *Melissotydeus* são especialistas em abelhas sem ferrão (Okabe 2013).

Existem poucas informações ecológicas sobre ácaros associados a Meliponini, mas em síntese demonstramos que a composição da comunidade de ácaros é determinada pela espécie de abelha. Nas três espécies de abelhas sem ferrão estudadas os ácaros apresentaram alta diversidade e abundância, com representação de ácaros detritívoros, saprófagos e predadores. Isso sugere que a presença destes organismos nos ninhos pode auxiliar na sanidade das colônias, através do controle de proliferação de fungos, bem como de outros ácaros e insetos que possam ser danosos às abelhas.

Portanto, é possível que a acarofauna contribua – em níveis populacionais adequados – com o bem-estar das colônias das abelhas nativas, porém mais estudos são necessários para ampliar o conhecimento sobre estas associações. Finalmente, nós concluímos que as espécies de abelhas sem ferrão estão associadas a múltiplas espécies de ácaros, formado por comunidades específicas.

## 5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Guilherme Liberato da Silva e Pedro Maria Abreu Ferreira pelas sugestões durante o desenvolvimento deste estudo. Os autores agradecem a Universidade do Vale do Taquari - Univates por fornecer o material necessário durante o estudo, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de produtividade concedida ao BB e NJF. Este estudo foi parcialmente financiado pelo Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. CFS é grato à bolsa do Programa Nacional de Pós-Doutorado, PNPd CAPES.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- André HM (1985) Acari domum meliponinarum brasiliensium habitantes. 10. *Melissotydeus macrosolenus* gen. n., sp. n. (Acari: Tydeidae). Bull Ann Soc R Belge d'entomologie, 121:43–246.
- Bishop JA (1994) Bumble bees (*Bombus hypnorum*) collect aphid honeydew on stone pine (*Pinus pumila*) in the Russian Far East. J Kansas Entomol Soc 67:220–222.
- Blüthgen N, Menzel F, Blüthgen N (2006) Measuring specialization in species interaction networks. BMC Ecology 6:1-12. <https://doi.org/10.1186/1472-6785-6-9>
- Chao A, Gotelli NJ, Hsieh TC, Sander E, Ma KH, Colwell RK, Ellison AM (2014) Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. Ecol Monogr 84:45–67. <https://doi.org/10.1890/13-0133.1>
- Contrera FAL, Menezes C, Venturieri GC (2011). New horizons on stingless beekeeping (apidae, Meliponini). R Bras Zootec 40:48-51.



- Cordeiro GD, Taniguchi M, Flechtmann CHW, Alves-dos-Santos I (2011) Phoretic mites (Acari: Chaetodactylidae) associated with the solitary bee *Tetrapedia diversipes* (Apidae: Tetrapediini). *Apidologie* 42:128-139. <https://doi.org/10.1051/apido/2010044>
- Cortopassi-Laurino M, Imperatriz-Fonseca VL, Roubik DW, Dollin A, Heard T, Aguilar I, Nogueira-Neto P (2006) Global meliponiculture: challenges and opportunities. *Apidologie* 37: 275-292. <https://doi.org/10.1051/apido:2006027>
- Da-Costa T, Rodighero LF, Silva GL, Ferla, NJ, Blochtein, B (2019) Two new species of Tydeidae (Acari: Prostigmata) associated with stingless bees. *Zootaxa* 4652:101-112. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4652.1.4>
- Dimou M, Thrasyvoulou A (2007) Collection of wax scale (*Ceroplastes* sp.) by the honey bee *Apis mellifera*. *J Apicult Res*, 46:129-129.
- Dormann CF, Fruend J, Gruber B (2019) Visualising Bipartite Networks and Calculating Some (Ecological) Indices. <https://cran.r-project.org/web/packages/bipartite/bipartite.pdf>. Acessado 04 de novembro de 2019.
- Dunne JA, Williams RJ, Martinez ND (2002) Food-web structure and network theory: The role of connectance and size. *PNAS*, 99:12917–12922. <https://doi.org/10.1073/pnas.192407699>
- Eickwort G (1990) Associations of mites with social insects. *Ann Rev Entomol* 35:469-488. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.35.010190.002345>
- Eickwort G (1994) Evolution and life-history patterns of mites associates with bee. In: Houck M. (ed.) *Mites: Ecological & evolutionary analyses of life-history patterns*. Springer, pp 218-251
- Faraji F, Halliday B (2009) Five new species of mites (Acari: Laelapidae) associated with large Australian cockroaches (Blattodea: Blaberidae). *Int J Acarol* 35:245-264. <https://doi.org/10.1080/01647950903059445>
- Flechtmann CHW, Camargo CA (1974) Acari associated with stingless bees (Meliponidae, Hymenoptera) from Brazil. *Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Congress of Acarology* 315-319.

- Fontaine C, Guimarães Jr PR, Kéfi S, Loeuille N, Memmott J, van der Putten WH, van Veen FJF, Thébault E (2011) The ecological and evolutionary implications of merging different types of networks. *Ecol Lett* 14:1170-1181. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01688.x>
- Freitas BM, Imperatriz-Fonseca VL, Medina LM, Kleinert ADMP, Galetto L, Nates-Parra G, Quezada-Euán JGG (2009) Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. *Apidologie* 40:332-346. <https://doi.org/10.1051/apido/2009012>
- Genersch E (2010) Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Appl Microbiol Biotechnol* 87:87-97. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2573-8>
- Haas SM, Cardinal S, Beaulieu F, Forrest JRK (2019) Mite-y bees: bumble bees (*Bombus* spp., Hymenoptera: Apidae) host a relatively homogeneous mite (Acari) community, shaped by bee species identity but not by geographic proximity. *Ecol Entomol* 1:1-14. <https://doi.org/10.1111/een.12706>
- Hervé M (2019) Package ‘RVAideMemoire’. <https://cran.r-project.org/web/packages/RVAideMemoire/RVAideMemoire.pdf>. Acessado 05 de janeiro de 2020.
- Hill MO (1973) Diversity and evenness: A unifying notation and its consequences. *Ecology* 54:427– 432.
- Jaffé R, Pope N, Carvalho AT, Maia UM, Blochtein B, Carvalho CAL, Carvalho-Zilse GA, Freitas BM, Menezes C, Ribeiro MF, Venturieri C, Imperatriz-Fonseca VL (2015) Bees for Development: Brazilian Survey Reveals How to Optimize Stingless Beekeeping. *Plos One* 10:1-21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121157>
- Jaffé R, Pope N, Acosta AL, Alves DA, Arias MC, De la Rúa, P, Tavares, MG (2016) Beekeeping practices and geographic distance not land use, drive gene flow across tropical bees. *Mol Ecol* 25:5345-5358. <https://doi.org/10.1111/mec.13852>
- Jeppson LR, Keifer HH, Baker EW (1975) Mites injurious to economic plants. 295 Berkeley, University of California Press, pp 614.

- Joharchi O, Shahedi A (2016) A new species of *Hypoaspis* Canestrini (Acari, Mesostigmata, Laelapidae) associated with *Oryctes* sp. (Coleoptera, Scarabaeidae) in Iran. *ZooKeys* 574:105-112. <https://doi.org/10.3897/zookeys.574.7767>
- Klimov PB, Bradleigh S, OConnor BM (2007) Acarinaria in associations of apid bees (Hymenoptera) and chaetodactylid mites (Acari). *Invertebra Syst* 21:109–136. <https://doi.org/10.1071/IS06019>
- Klimov PB, OConnor B, Ochoa R, Bauchan GR, Scher J (2016) Bee mite ID: Bee-associated mite genera of the world. In *Secondary Bee mite ID: Bee-associated mite genera of the world*. USDAAPHIS Identification Technology Program (ITP), Fort Collins, CO, <http://idtools.org/id/mites/beemites/index.php>. Acessado 04 de setembro de 2019.
- Miranda JR, Genersch E (2010) Deformed wing virus. *J Invertebra Pathol* 103:48-61. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.012>
- Mitchell RJ, Irwin RE, Flanagan RJ, Karron JD (2009) Ecology and evolution of plant–pollinator interactions. *Ann Bot* 103:1355-1363. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp122>
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- OConnor BM (2009) Cohort Astigmata. In: Krantz GW, Walter DE (eds) *A Manual of Acarology*. Texas Tech University Press, Lubbock, TX, pp 565–657.
- OConnor BM, Klimov P (2019) North American Bee-Associated Mites – Potential threats to native and introduced pollinators. <http://insects.ummz.lsa.umich.edu/beemites/index.html#>. Acessado 10 de dezembro de 2019.
- Okabe K (2013) Ecological characteristics of insects that affect symbiotic relationships with mites. *Entomol Sci* 16:363–378. <https://doi.org/10.1111/ens.12050>
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O’Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Henry M, Stevens H, Szoecs E, Wagner H (2016) *Community Ecology Package*. Package ‘vegan’. <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf>. Acessado 04 de novembro de 2019.

- Paludo CR, Menezes C, Silva-Junior EA, Vollet-Neto A, Andrade-Dominguez A, Pishchany G, Khadempour L, Nascimento FS, Currie CR, Kolter R, Clardy J, Pupo MT (2018) Stingless bee larvae require fungal steroid to pupate. *Sci Rep* 8:1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19583-9>
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna, Austria: The R Foundation for Statistical Computing. <http://https://www.r-project.org/>.
- Ramsey SD, Ochoa R, Bauchan G, Gulbranson C, Mowery J D, Cohen A, Hawthorne D (2019) *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *P Natl A Sci* 116:1792-1801.
- Roesch LFW, Vierira FCB, Pereira VA, Schünemann AL, Texeira IF, Senna AJ, Stefenon VM (2009) The Brazilian Pampa: A Fragile Biome. *Diversity* 1:1182-198. <https://doi.org/10.3390/d1020182>
- Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol* 103:96-115. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>
- Sammataro D, Gerson U, Needham G (2000) Parasitic mites of honey bees: life history, implications, and impact. *Annu Ver Entomol* 45:519-548. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45,1.519>
- Santos CF, Halinski R, Santos PDS, Almeida EA, Blochtein B (2019) Looking beyond the flowers: associations of stingless bees with sap-sucking insects. *Sci Nat* 106:1-9. <https://doi.org/10.1007/s00114-019-1608-y>.
- Silva GL, Cunha US, Ferla NJ (2014) Life cycle of *Tydeus californicus* (Acari: Tydeidae) on leaves of *Inga marginata* with and without pollen of *Typha angustifolia* under laboratory conditions. *Int J Acarol* 40:509–512. <http://doi.org/10.1080/01647954.2014.953999>
- Silva GL, Metzelthin MH, Silva OS, Ferla NJ (2016) Catalogue of the mite family Tydeidae (Acari: Prostigmata) with the world key to the species. *Zootaxa* 4135:11–068. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4135.1.1>

- Texeira EW, Santos LG, Matioli AL, Message D, Alves MLTMF (2014) First report in Brazil of *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Acari: Acaridae) in colonies of Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.). *Interciencia* 39:742-744.
- Theron N, Roets F, Dreyer LL, Esler KJ, Ueckermann EA (2012) A new genus and eight new species of Tydeoidea (Acari: Trombidiformes) from *Protea* species in South Africa. *Int J of Acarol* 38:257-273. <https://doi.org/10.1080/01647954.2011.619576>
- Thompson JN (2005) *The geographic mosaic of coevolution*. University of Chicago Press p.400.
- Tóthmérész B (1995) Comparison of different methods for diversity ordering. *J Veg Sci* 6:283-290.
- Walter DE, Proctor HC (2013) *Mites: ecology, evolution & behaviour*. Springer, 2ed, pp. 494.

Material Suplementar 1. Lista de espécies de ácaros encontrados nas colônias das três espécies de abelhas sem ferrão no Sul do Brasil.

Espécies		<i>Melipona</i> <i>quadrifasciata</i> <i>quadrifasciata</i>	<i>Scaptotrigona</i> <i>bipunctata</i>	<i>Tetragonisca</i> <i>fiebrigi</i>
<b>Superorder Parasitiformes</b>				
<b>Order Mesostigmata</b>				
Blattisociidae	<i>Lasioseius</i> sp.	3	0	0
Laelapidae	<i>Eumellitiphis</i> sp.	0	0	9
	<i>Hypoaspis alfabetica</i> Berlese	773	0	0
<b>Superorder Acariformes</b>				
<b>Order Trombidiformes</b>				
Cheyletidae	<i>Cheletomimus (Hemicheyletia) gracilis</i>	3	0	1
	Fain, Bochkov & Corpuz-Raros			
	<i>Eutogenes</i> sp.	0	1	0
Iolinidae	<i>Proctotydeus (Oriolella)</i> sp. nova 1	0	0	15
	<i>Proctotydeus (Oriolella)</i> sp. nova 2	27	0	0
	<i>Proctotydeus (Neotydeolus)</i> sp. nova	0	21	0
Raphignathidae	<i>Raphignathus</i> sp.	0	0	1
Tarsonemidae	<i>Tarsonemus (Tarsonemus)</i> sp.	0	1	1
	<i>Lorryia meliponarum</i> Da-Costa et al.	61	0	66
	<i>Lorryia</i> sp.	0	1	0
Tydeidae	<i>Lorryia reticulata</i> (Oudemans)	3	0	1
	<i>Melissotydeus bipunctata</i> Da-Costa et al.	0	363	0
<b>Order Sarcoptiformes</b>				
Acaridae	<i>Forcellinia</i> sp.	27	2	2
	<i>Tyrophagus putrescentiae</i> (Schrank)	12	19	16
Gaudiellidae	<i>Platyglyphus</i> sp.	24	0	0
Glycyphagidae	<i>Glycyphagus</i> sp.	5	0	0
<b>Total</b>		<b>938</b>	<b>408</b>	<b>112</b>

**CAPÍTULO II**  
**MANUSCRITO CIENTÍFICO**

**THREE NEW SPECIES OF THE GENUS *Proctotydaeus* (ACARI:  
IOLINIDAE) ASSOCIATED WITH BRAZILIAN STINGLESS BEES\***

\*Manuscrito submetido para o periódico *Systematic and Applied Acarology*

## Three new species of the genus *Proctotydaeus* (Acari: Iolinidae) associated with Brazilian stingless bees

TAIRIS DA-COSTA<sup>1,2\*</sup>, LUANA FABRINA RODIGHERO<sup>2</sup>, GUILHERME LIBERATO DA SILVA<sup>2</sup>, JOSE IRVING MONJARÁS-BARRERA<sup>3</sup>, BETINA BLOCHTEIN<sup>1</sup> & NOELI JUAREZ FERLA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Laboratório de Entomologia, Escola de Ciências da Saúde e da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.*

<sup>2</sup>*Laboratório de Acarologia, Tecnovates, Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado, RS, Brasil.*

<sup>3</sup>*Universidad Autónoma de Tamaulipas, Instituto de Ecología Aplicada, División del Golfo 356, Colonia Libertad, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México.*

\*Corresponding author: [tairiscosta@gmail.com](mailto:tairiscosta@gmail.com)

### Abstract

*Proctotydaeus* (Acari: Iolinidae) species live in bird nests, insects, plants and barn straw, and comprise 17 species belonging to four subgenera. Here, we report three new species of *Proctotydaeus* mites living inside stingless bees colonies in Brazil. *Proctotydaeus* (*Neotydeolus*) sp. nov. Da-Costa, Rodighero & Ferla, *Proctotydaeus* (*Oriolella*) sp. nov. 1 Da-Costa, Rodighero & Ferla and *Proctotydaeus* (*Oriolella*) sp. nov. 2 Da-Costa, Rodighero & Ferla **sp. nov.** are described and illustrated based on specimens collected from three species of stingless bees in the state of Rio Grande do Sul, Brazil.

**Keywords:** Meliponini; *Neotydeolus*; nests; *Oriolella*; Pronematinae

### Introduction

Mites of the superfamily Tydeoidea are cosmopolitan organisms, which can be fungivorous, phytophagous, predators and scavengers (Gerson *et al.* 2003; Sadeghi *et al.* 2012). Tydeoidea was organized by André & Fain (2000) into four families: Ereyneidae Oudemans, 1931, Iolinidae Pritchard, 1956, Triophtydeidae André, 1980 and Tydeidae Kramer, 1877. Iolinid



mites can be found in soil, on plants and in association with insects, comprising 37 genera and 132 species (Zhang *et al.* 2011; Theron *et al.* 2012; Ahmad-Hosseini *et al.* 2017). Through cladistic analysis, Iolinidae include three subfamilies: Iolininae Pritchard, 1956, Pronematinae André, 1980 and Tydaeolinae Pritchard, 1956 (André & Fain 2000).

Iolinidae includes *Proctotydaeus* Berlese, 1911, which was originally described in Tydeidae, later transferred to Iolinidae (Baker 1965) and then returned to Tydeidae (André 1979; 1980). Pritchard (1956) erected the new superfamily Iolinoidea but Krantz (1978) reconsidered *Proctotydaeus* as a member of Tydeoidea. Species of this genus live in bird nests, with insects, on plants and on barn straw but the associations are not clear (Kaźmierski 1998; Gerson *et al.* 2003). This genus contains 17 species belonging to four subgenera: *Neotydeolus* Flechtmann & Camargo, 1974, *Oriolella* Baker, 1968, *Proctotydaeus* Berlese, 1911 and *Proctotydulus* Kaźmierski, 1998.

Three species of the subgenus *Neotydeolus* are known to be associated with bees: *Proctotydaeus* (*N.*) *alveari* Rosa, André & Flechtmann, 1985 has been reported in the nests of *Melipona pernigra* Moure & Kerr; *Proctotydaeus* (*N.*) *partamonae* Rosa & Flechtmann, 1983 has been found in the nests of *Partamona* (*Partamona*) sp. and *Melipona lateralis* Erichson, and *Proctotydaeus* (*N.*) *therapeutikos* Flechtmann & Camargo, 1974 has been reported in the nests of *Scaptotrigona postica* Latreille.

Four species of the subgenus *Proctotydaeus* are known associated with the thoracic region and wings of Acrididae: *Proctotydaeus* (*P.*) *galapagosensis* Fain & Evans, 1966 on *Schistocerca melanocera* Stål; *Proctotydaeus* (*P.*) *lineata* Price, 1972 on *Schistocerca* sp.; *Proctotydaeus* (*P.*) *viator* Berlese, 1911 on *Acridias parvulos* and *Proctotydaeus* (*P.*) *schistocerae* Fain & Evans, 1966 on *Schistocerca melanocera* Stål.

The subgenus *Proctotydulus* includes six species: *Proctotydaeus* (*P.*) *oblongus* Kuznetzov, 1973 found on the Greek nut tree; *Proctotydaeus* (*P.*) *pteroni* Ueckermann & Meyer, 1988 on *Pteronia paniculata* Thunb; *Proctotydaeus* (*P.*) *pyrrohippeus* Treat, 1961 on *Acronycta* sp., *Amphipyra* sp., *Apamea* sp.; *Proctotydaeus* (*P.*) *rusticus* Meyer & Rodrigues, 1966 on *Gossypium* sp.; *Proctotydaeus* (*P.*) *hypobori* Khaustov, 1997 on bark beetles and *Proctotydaeus* (*P.*) *longitrichus* Khaustov, 1997 on straw.

Four species of the subgenus *Oriolella* are known: *Proctotydaeus* (*O.*) *polonicus* Kaźmierski, 1998, reported on sweepings of barn straw; *Proctotydaeus* (*O.*) *lindquisti* Kaźmierski, 1998 in nests of *Otus asio* Linnaeus; *Proctotydaeus* (*O.*) *sinhai* Momen, 1990 on *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Proctotydaeus* (*O.*) *farbae* Baker, 1968 has been

found in bark-beetle tunnels (Polyphaga: Ipidae). In this study, three new species of *Proctotydaeus* belonging to the subgenera *Neotydeolus* and *Oriolella* are described and illustrated based on specimens collected from nests of stingless bees in the state of Rio Grande do Sul, Brazil.

## Material and methods

Mite specimens were taken from the hives of the native stingless bees *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lepeletier (Fig. 1A), *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier) (Fig. 1B) and *Tetragonisca fiebrigi* (Schwarz) (Fig. 1C). The hives were in the municipalities of Bom Princípio, Ijuí, Porto Alegre, Rolante and Santa Maria from the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil (Fig. 1D). The specimens were observed under a binocular microscope (Leica S6E) and mounted on glass slides in Hoyer's medium. The prepared specimens were examined with a phase-contrast microscope (Axio Scope. A1-Zeiss) and the drawings were made using camera lucida and finalized in CorelDraw X8®.

The nomenclature of the idiosomal chaetotaxy follows Kaźmierski (1998) and Panou *et al.* (2000). The specimens were checked using the key of Kaźmierski (1998) and all descriptions of the genus. All measurements are shown in micrometers ( $\mu\text{m}$ ) and the measurements of the holotypes are followed by the ranges of the paratypes in the parentheses.

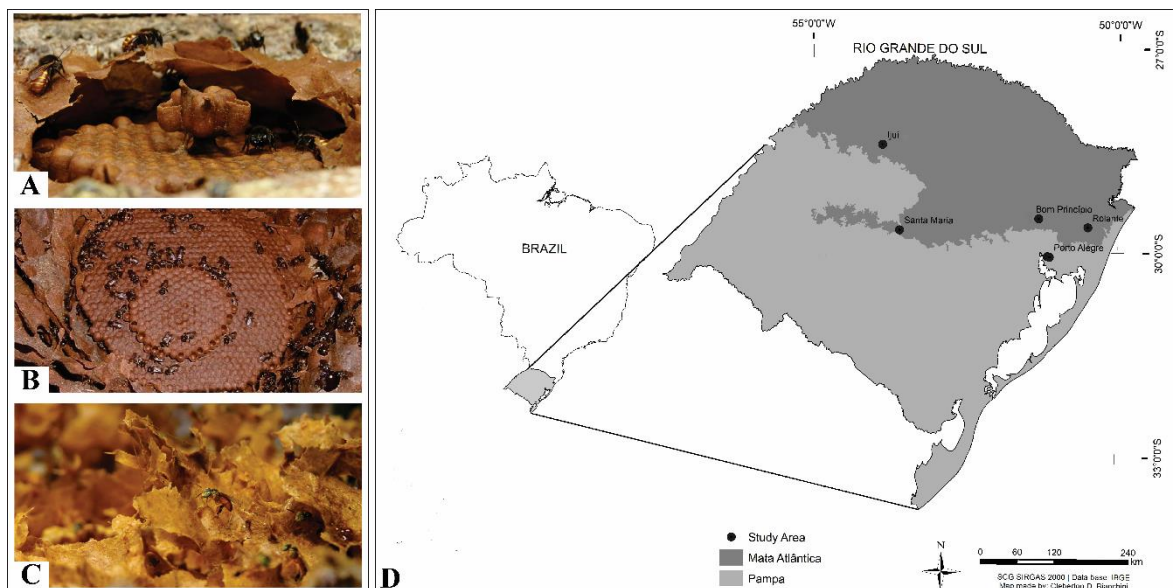


Figure 1: (A) Nest of *M. quadrifasciata*; (B) Nest of *S. bipunctata*; (C) Adult individual of *T. fiebrigi*; (D) Map showing the location of sampling sites in Rio Grande do Sul State, Brazil.

## Systematics

Family **Iolinidae** Pritchard, 1956

Subfamily **Pronematinae** André, 1980

Genus ***Proctotydaeus*** Berlese, 1911

**Diagnosis of genus.** Prodorsum procurved; setae *ro* situated behind the *la-la*; palp chaetotaxy: 6(+1 ω)-1-2); chaetotaxy of legs I-IV: I: 8-3+1-3-3-1; II: 7-2-3-3-1; III: 7-2-2-2-1 and IV: 7-2-1-(1-1)-0 or 7-2-1-2-0 (Każmierski, 1998).

Subgenus ***Neotydeolus*** Flechtmann & Camargo, 1974

**Diagnosis of the subgenus.** Bothridial setae club-like; setae *ps2* absent or present; Paraproctal suckers poorly developed and papilla absent; *tc*ζ on tarsus I of medium size (about the double length of the segment); spurs absent (Flechtmann & Camargo, 1974; Kaźmierski, 1998).

***Proctotydaeus (Neotydeolus) sp. nov. Da-Costa, Rodighero & Ferla***

(Figs 2-6)

**Diagnosis.** Prodorsum procurved, dorsum and venter with serrated setae. Dorsal and ventral ornamentation entirely striated. Bothridial setae clublike, setae *la* small, setae *ps1*, *ps2* and *ps3* present. Palptarsus with eupathidium ρζ distally semilunar and setae κ bifurcate.

**Description.** Adult female (n = 5) – Body of medium size, oval. Length of idiosoma 212 (195-213), width 115 (110-125).

**Dorsum** (Fig. 2) – Dorsum with 13 pairs of setae (*ro*, *la*, *bo*, *ex*, *c1*, *c2*, *d1*, *e1*, *f1*, *f2*, *h1*, *h2* and *ps1*) (Fig. 6A). Eyes absent. Dorsum completely covered with dotted striations; prodorsum procurved with irregular longitudinal striae between *ro* and *la*; striation between *c1* transverse; striation between *d1* longitudinal; striation between *f1* and *f2* transverse; striation between *h1*, *h2* and *ps1* longitudinal. All dorsal setae serrate; bothridial setae (*bo*) club-like (Fig. 6B). Lyrifissures *ia* located between setae *c1* and *d1*, *im* situated close to *e1*

and *ip* situated close to *f2*. Lengths of dorsal setae: *ro* 13 (11-13); *la* 5; *bo* 21 (21-22); *ex* 16 (14-16); *c1* 12 (11-12); *c2* 12 (11-12); *d1* 14 (13-15); *e1* 16 (14-16); *f1* 16 (15-16); *f2* 19 (18-19); *h1* 16 (14-16); *h2* 21 (19-21); *ps1* 12 (9-12). Distances between dorsal setae: *ro-ro* 14 (13-15); *la-la* 35 (35-36); *bo-bo* 36 (31-36); *c1-c1* 34 (33-37); *c2-c2* 86 (79-87); *d1-d1* 26 (25-27); *e1-e1* 24 (22-24); *f1-f1* 20 (19-23); *f2-f2* 45 (40-45); *h1-h1* 23 (22-25); *h2-h2* 49 (43-49); *ro-la* 18 (15-20); *c1-d1* 47 (47-52); *d1-e1* 29 (27-29); *e1-f1* 21 (21-24); *f1-f2* 15 (12-15); *h1-h2* 14 (12-14).

*Venter* (Fig. 3) – All ventral setae serrated (excluding *ps3*) and completely striated. Ventral setae similar in shape to dorsal setae. Longitudinal striae between *pt*, *mt $\alpha$*  and *mt $\beta$* . Lyrifissures *ih* located posteroventrally. Epimeral formula: 3-1-4-2. Measurements of setae: *pt* 10 (9-10); *mt $\alpha$*  10 (8-10) and *mt $\beta$*  10 (9-10). Four pairs of aggenital setae (*ag1*, *ag2*, *ag3* and *ag4*) and two pairs of pseudanal setae (*ps2* and *ps3*). Setal lengths: *ag1* 8 (7-9); *ag2* 8; *ag3* 9 (7-9); *ag4* 10 (8-10); *ps2* 12 (10-16) (Fig. 6C) and *ps3* 8 (6-9).

*Gnathosoma* (Fig. 4A-B) – Length 51 (49-51), width 36 (35-38). Gnathosoma visible from above. Subcapitulum with longitudinal striae behind *sc1* and *sc2*. Infracapitular setae simple. Setal lengths: *sc1* 14 (12-14); *sc2* 14 (12-14) (Fig. 4A). Palp 33 (32-34) long, setation 6(+1  $\omega$ )-1-2. Palptarsus with eupathidium  $\rho\zeta$  distally semilunar (Fig. 4B), *ba* and  $\omega$  very small. Cheliceral stilettos 13 (11-13) long.

*Legs* (Fig. 5A-D) – All leg I setae serrated (except *u'* and *u''*). Tarsi I without apotele and claws, tarsi II-IV with two claws and hairy empodium. Setae *u'* and *u''* in tarsus I bifurcate and minute, setae  $\kappa$  bifurcate (Fig. 6D). Chaetotaxy of legs I-IV (tarsus to trochanter): I: 8(+1  $\omega$ )-3(+1  $\phi$  +1  $\kappa$ )-3-3-1 (Fig. 5A); II: 7(+1  $\omega$ )-2-3-3-1 (Fig. 5B); III: 7-2-2-2-1 (Fig. 5C) and IV: 7-2-1-2-0 (Fig. 5D). Length of leg I 131 (110-131); leg II 136 (115-136); leg III 133 (112-133) and leg IV 141 (106-141). Length of tarsus I 17 (16-18) and 10 width; length of solenidion  $\omega I$  4; length *tc'* $\zeta$  29 (27-30); *tc''* $\zeta$  30 (24-30); length of seta *k* 3 (2-3).

**Type material.** Female holotype and four female paratypes collected in brood cells of *S. bipunctata*, as follows: Holotype, Bom Princípio, Rio Grande do Sul, Brazil, October 10, 2018, T. Da-Costa. Four paratype females, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, January 22, 2019, T. Da-Costa. Female holotype deposited at the Departamento de Entomologia e

Acarologia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba, São Paulo, Brazil. One paratype female deposited at the Technological Science Museum of the Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Other paratypes deposited at the Natural Science Museum (ZAUMCN) of the University of Vale do Taquari – Univates, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brazil.

Male. not found.

**Remarks.** This new species resembles *Proctotydaeus (Neotydeolus) therapeutikos* Flechtmann & Camargo, 1974, with trichobothria clublike, setae *la* small and dorsal setae serrated. Nevertheless, it can be differentiated by the presence of *ps2* instead of absence, dorsum covered with dotted striations instead of continuous striations and chaetotaxy of trochanter as 1-1-1-0 instead of 1-0-1-0.

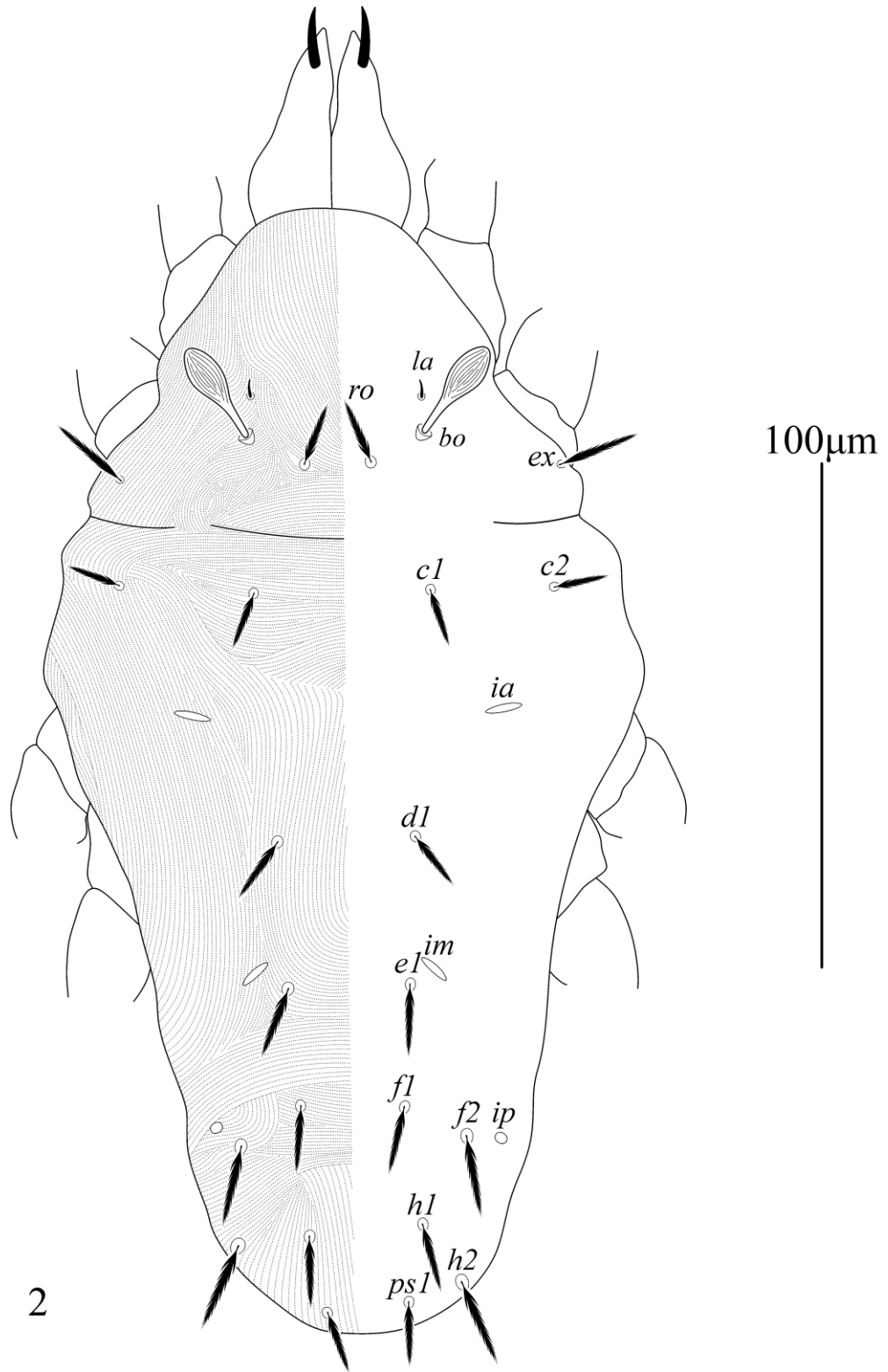


Figure 2: *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov., female (holotype) in dorsal view.

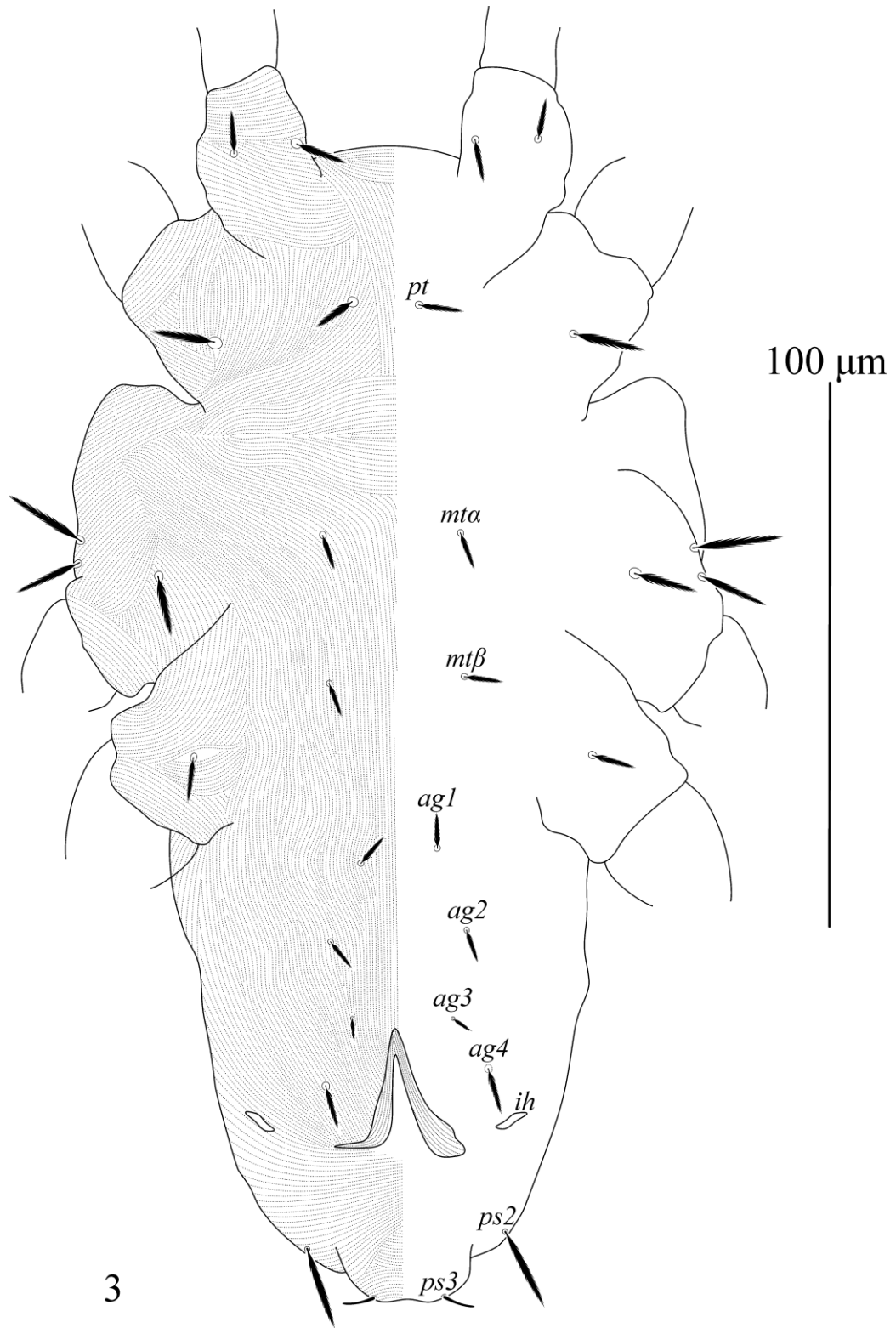


Figure 3: *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov., female (holotype) in ventral view.

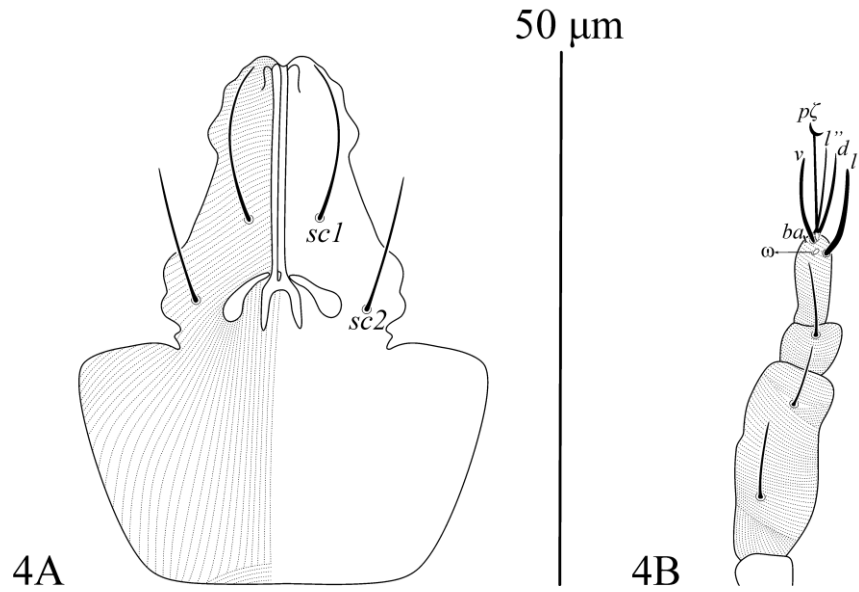


Figure 4: *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov., female (holotype). (A) Gnathosoma in ventral view. (B) Palptarsus.

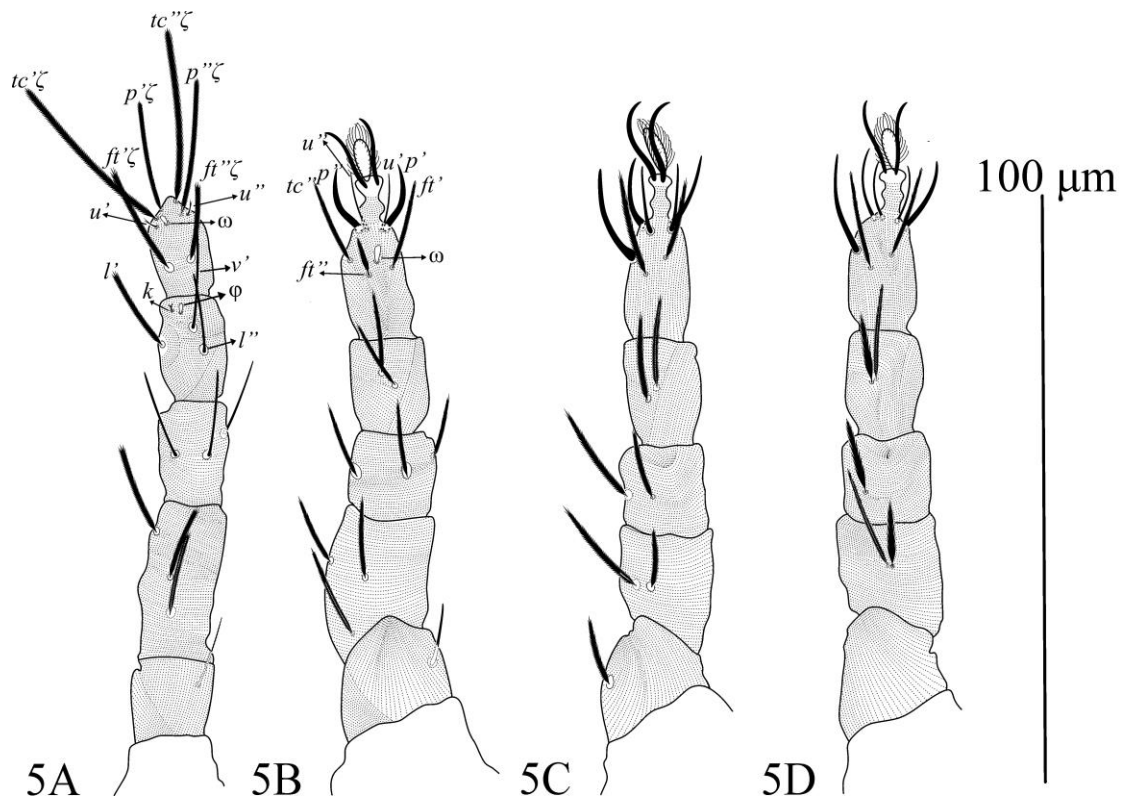


Figure 5: *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov., female (holotype). (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.



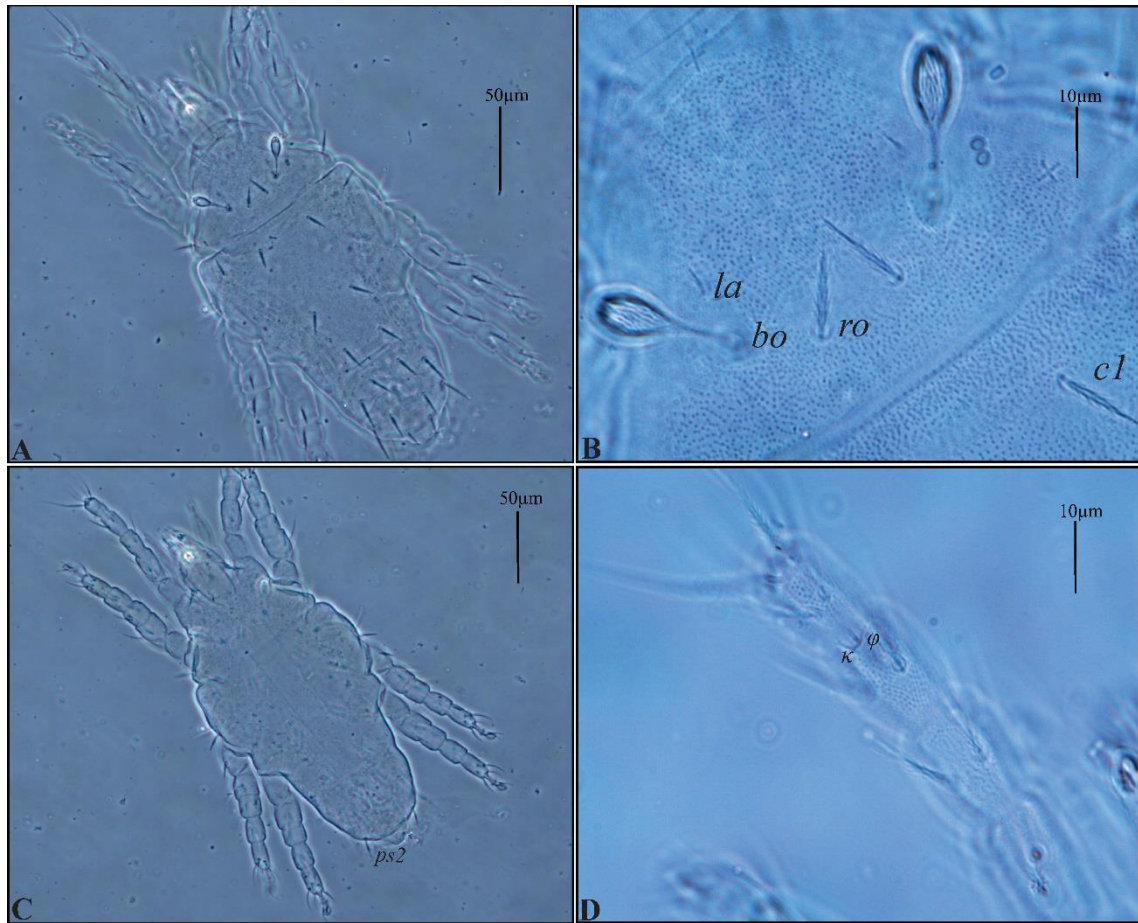


Figure 6: *Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nov. (A) Dorsum. (B) Ornamentation between *la*, *bo* and *ro*. (C) Setae *ps2* in ventral view. (D) Setae  $\kappa$  bifurcate.

Subgenus *Oriolella* Baker, 1968

**Diagnosis of the subgenus.** Bothridial setae whip-like; setae *ps2* present; Paraproctal suckers poorly developed and papilla absent; *tc*ζ on tarsus I long (longer than twice the length of segment); setae *u* very small and bifurcate and femur IV not divided (Kaźmierski, 1998).

***Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1 Da-Costa, Rodighero & Ferla**

(Figs 7-11)

**Diagnosis.** Prodorsum procurved, dorsal shield reticulated and striated. Striations around dorsal shield and between *ro* and *c1*, *e1* and *f1*, *f2* and *ps1*. Dorsum and venter with serrated setae. Ventral ornamentation entirely striated. Bothridial setae (*bo*) strongly serrated with a

slight expansion distally. Apophysis in shape of spur in femur IV and palptarsus with eupathidium  $\rho\zeta$  distally semilunar.

**Description.** Adult female (n = 5) – Body of medium size, oval. Length of idiosoma 169 (169-187), width 86 (86-102).

*Dorsum* (Fig. 7) – Dorsum with 13 pairs of setae (*ro*, *la*, *bo*, *ex*, *c1*, *c2*, *d1*, *e1*, *f1*, *f2*, *h1*, *h2* and *ps1*) (Fig. 11A). Eyes absent. Dorsum with striae and reticulated; longitudinal striations around dorsal shield; striation between *ro* and *c1*, *e1* and *f1* and *ps1* transverse; reticulation between *la*, *bo* and *ro*, *c1*, *c2*, *d1*, *e1* and *f1*; reticulations formed by pores (Fig. 11B). All dorsal setae strongly serrate, *f1*, *f2*, *h1* and *h2* reach setae in next rows. Bothridial setae (*bo*) strongly serrated with a slight expansion posteriorly. Lyrifissures *ia* located between setae *c1* and *d1*, *im* situated close to *d1* and *e1*, *ip* between setae *e1* and *f1*. Lengths of dorsal setae: *ro* 8 (6-8); *la* 6 (4-6); *bo* 24 (23-26); *ex* 19 (12-19); *c1* 10 (8-10); *c2* 9 (7-10); *d1* 10 (8-10); *e1* 10 (9-10); *f1* 13 (11-13); *f2* 22 (14-22); *h1* 10 (10-12); *h2* 15; *ps1* 8 (6-9). Distances between dorsal setae: *ro-ro* 17 (17-20); *la-la* 31 (31-35); *bo-bo* 33 (33-36); *c1-c1* 27 (27-35); *c2-c2* 79 (79-92); *d1-d1* 26 (26-33); *e1-e1* 26 (26-33); *f1-f1* 15 (15-18); *f2-f2* 30 (30-38); *h1-h1* 14 (14-18); *h2-h2* 26 (26-40); *ro-la* 18 (18-21); *c1-d1* 41 (41-49); *d1-e1* 19 (19-25); *e1-f1* 20 (16-22); *f1-f2* 8 (8-11); *h1-h2* 5 (5-13).

*Venter* (Fig. 8) – All ventral setae serrated (excluding *ps3* and *ps2*, which are terminally smooth) and completely striated. Ventral setae similar in shape to dorsal setae. Longitudinal striae between *pt*, *mta* and *mtb*. Lyrifissures *ih* located posteroventrally. Epimeral formula: 3-1-4-2. Measurements of setae: *pt* 7 (7-9); *mta* 6 (6-7) and *mtb* 8 (7-10). Four pairs of aggenital setae (*ag1*, *ag2*, *ag3* and *ag4*) and two pairs of pseudanal setae (*ps2* and *ps3*). Setal lengths: *ag1* 6 (4-6); *ag2* 7 (4-7); *ag3* 8 (7-8); *ag4* 9 (7-10); *ps2* 16 (15-18) and *ps3* 5 (5-6).

*Gnathosoma* (Fig. 9A-B) – Length 46 (46-47), width 42 (36-42). Gnathosoma visible from above. Subcapitulum with longitudinal striae behind *sc1* and *sc2*. Infracapitular setae simple. Setal lengths: *sc1* 6 (5-10); *sc2* 11 (11-15) (Fig. 9a). Palp 38 (30-40) long, setation 6(+1  $\omega$ )-1-2. Palptarsus with eupathidium  $\rho\zeta$  distally semilunar (Fig. 9b), *ba* and  $\omega$  very small. Cheliceral stilettos 16 (10-16) long.

*Legs* (Fig. 10A-D) – All leg I setae serrated, setae of tarsus II-IV smooth. Tarsi I without apotele and claws, tarsi II-IV with two claws and hairy empodium. Setae *u'*, *u''* in tarsus I bifurcate and minute, apophysis in shape of spur in femur IV. Chaetotaxy of legs I-IV (tarsus to trochanter): I: 8(+1  $\omega$ )-3(+1  $\phi$  +1  $\kappa$ )-3-3-1 (Fig. 10a); II: 7(+1  $\omega$ )-2-3-3-1 (Fig. 10b); III: 7-2-2-2-1 (Fig. 10c) and IV: 7-2-1-2-0 (Fig. 10d). Length of leg I 145 (105-145); leg II 119 (90-119); leg III 117 (104-123) and leg IV 105 (96-120). Length of tarsus I 19 (12-19) and 9 (8-9) width; length of solenidion  $\omega I$  7 (6-8); length  $tc'\zeta$  51 (33-51);  $tc''\zeta$  50 (32-50); length of seta *k* 1 (1-3).

**Type material.** Female holotype and four female paratypes collected in nests of *T. fiebrigi*, as follows: Holotype, Bom Princípio, Rio Grande do Sul, Brazil, October 09, 2018, L. Rodighero. One paratype female, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, September 19, 2018, T. Da-Costa. One paratype female, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, September 21, 2018, T. Da-Costa. One paratype female, Rolante, Rio Grande do Sul, Brazil, October 17, 2018, L. Rodighero. One paratype female, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, January 22, 2019, L. Rodighero. Female holotype deposited at the Departamento de Entomologia e Acarologia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba, São Paulo, Brazil. One paratype female deposited at the Technological Science Museum of the Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Others paratypes were deposited at the Natural Science Museum (ZAUMCN) of the University of Vale do Taquari – Univates, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brazil.

Male. not found.

**Remarks.** This new species resembles *Proctotydaeus (Oriolella) lindquisti* Kazmierski, 1998, with dorsal setae serrated, apophysis in femur IV and setae *u* minute. However, it differs by having a dorsal shield reticulated instead of totally striated. Seta *c1* and *d1* short (10 and 10, respectively) instead of long (30 and 31). In addition, bothridial setae (*bo*) are strongly serrated with a slight distal expansion instead of whip-like and eupathidium  $\rho\zeta$  is distally semilunar instead of cleft.

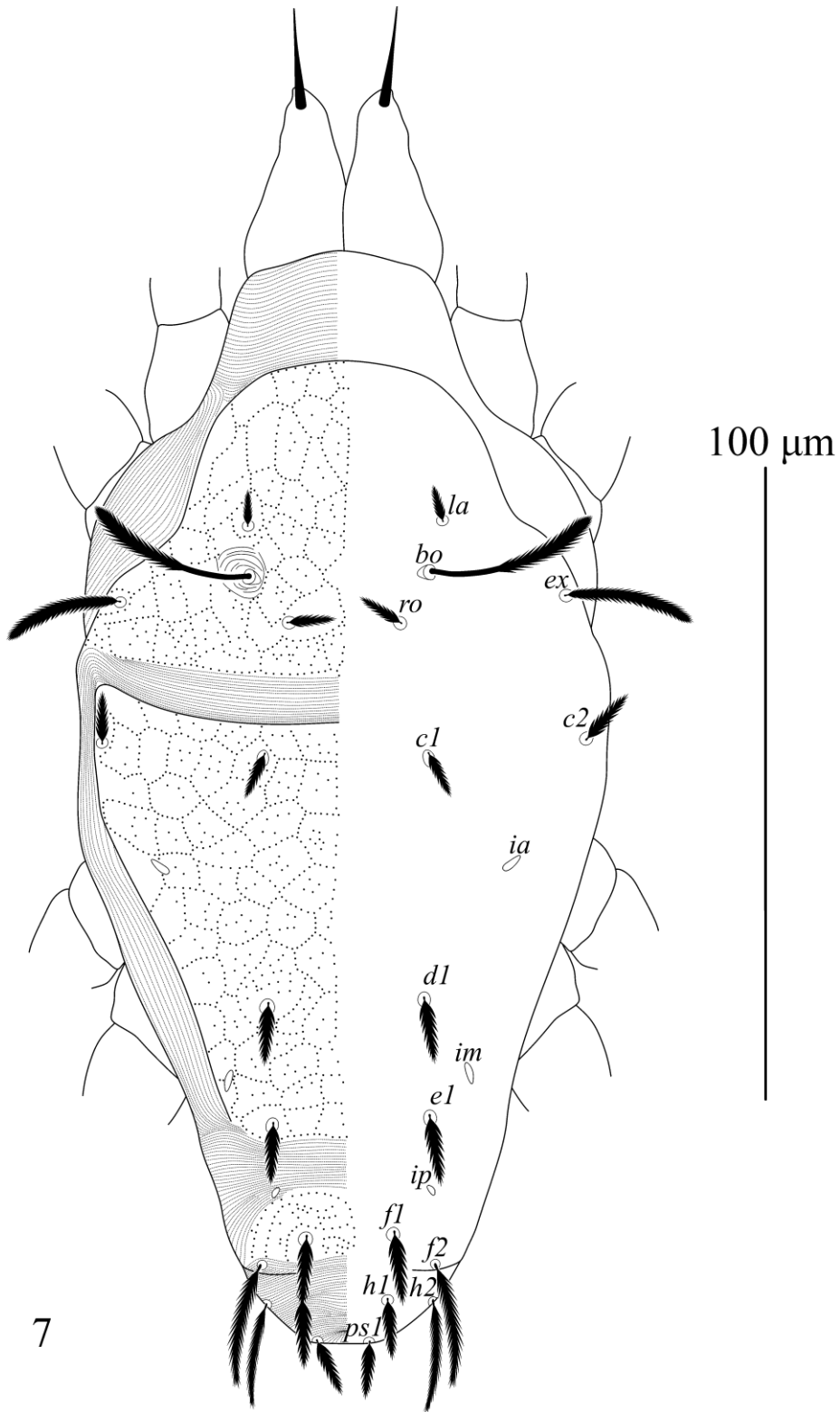


Figure 7: *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1, female (holotype) in dorsal view.

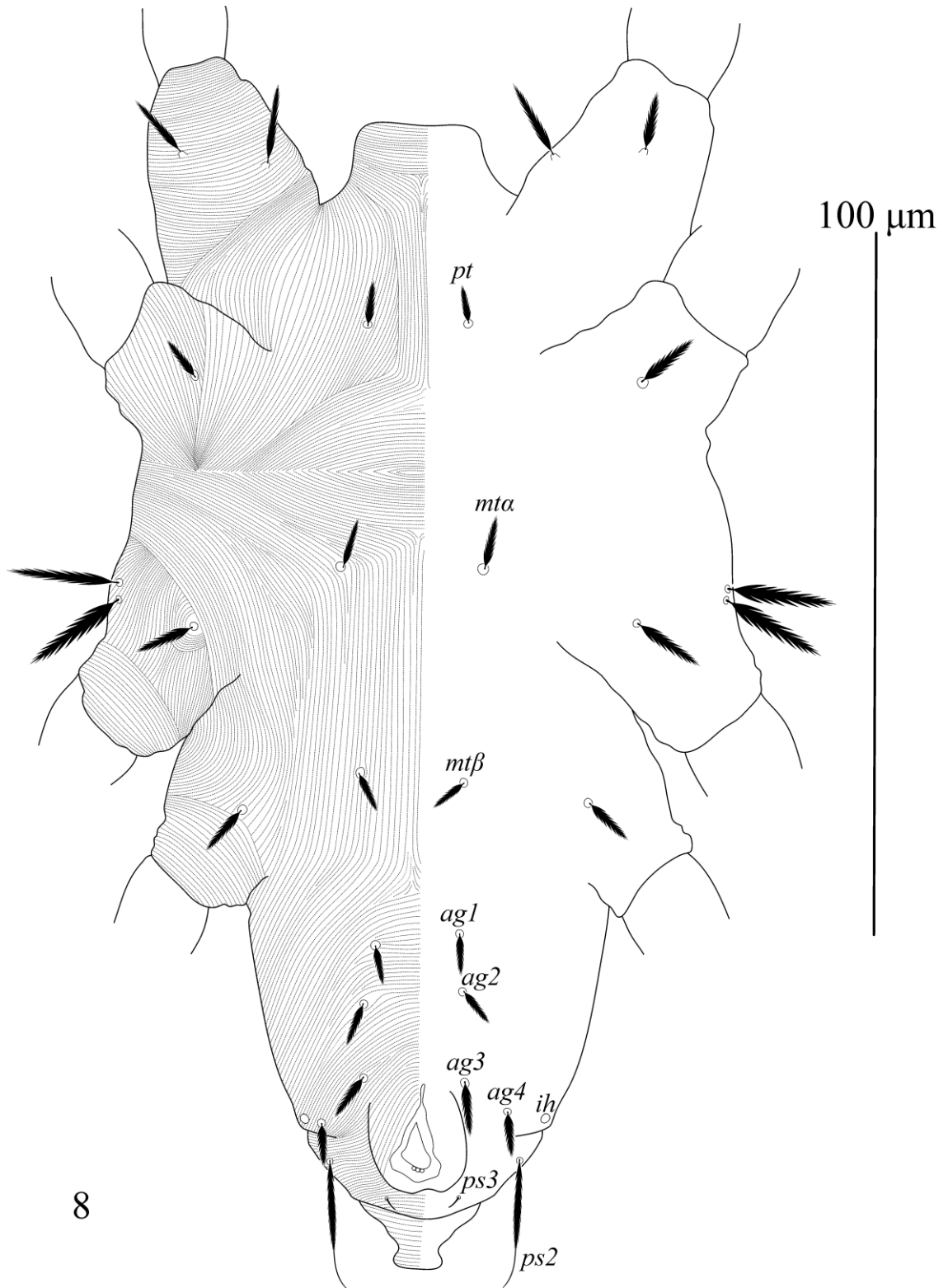


Figure 8: *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1, female (holotype) in ventral view.

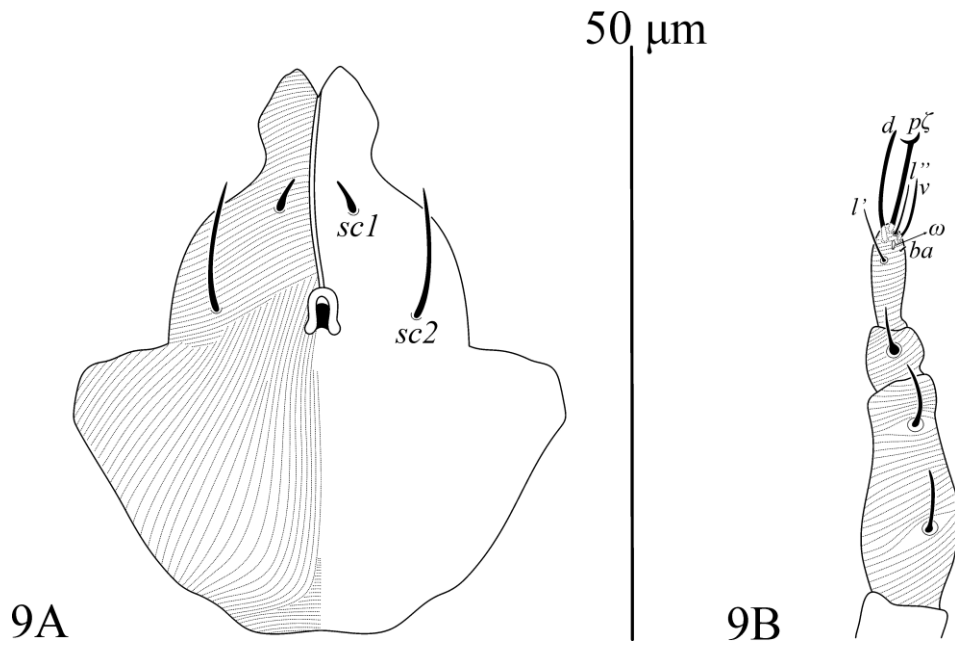


Figure 9: *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1, female (holotype). (A) Gnathosoma in ventral view. (B) Palptarsus.

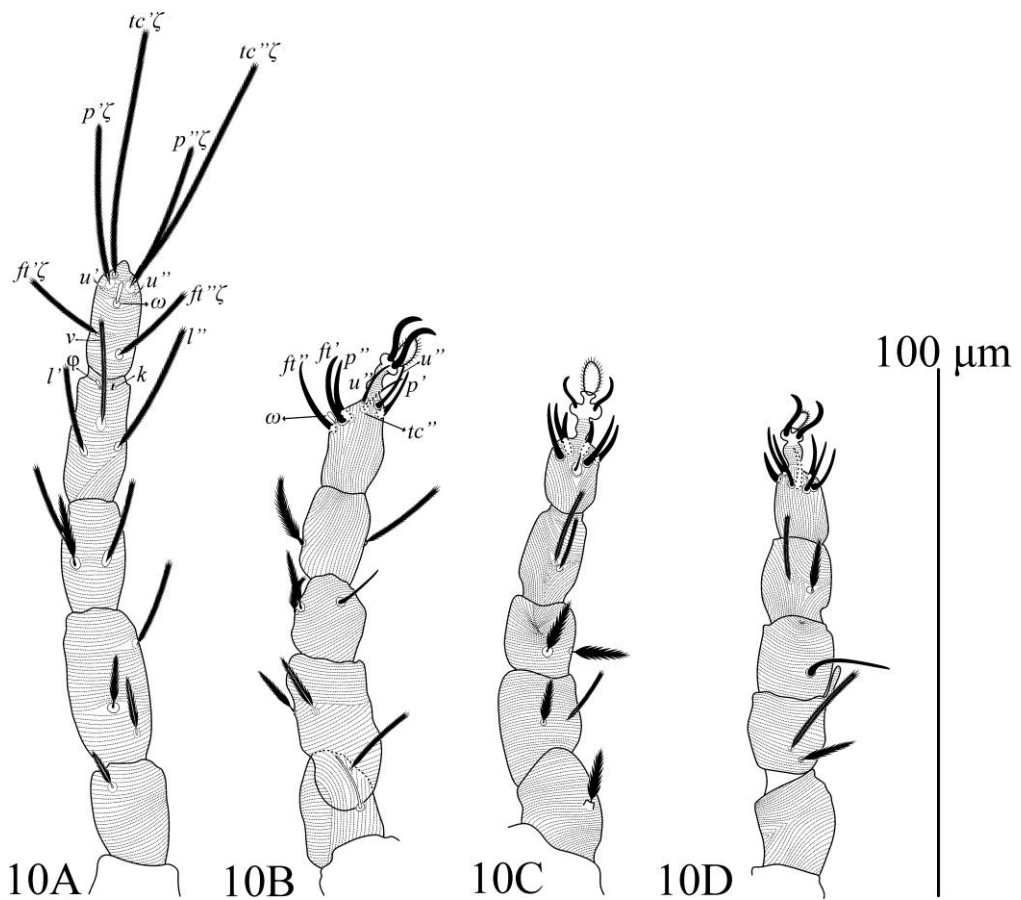


Figure 10: *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1, female (holotype). (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.

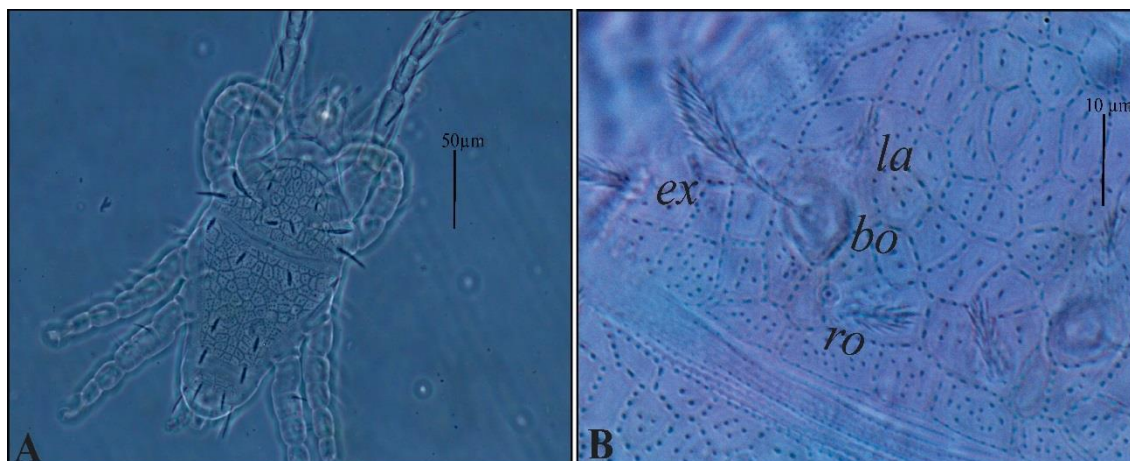


Figure 11: *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 1. (A) Dorsum. (B) Reticulation between *la*, *bo*, *ro* and *ex*.

***Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov.2 Da-Costa, Rodighero & Ferla**

(Figs 12-15)

**Diagnosis.** Prodorsum procurved, dorsum and venter with serrated setae. Dorsal and ventral ornamentation entirely striated. Trichobothria serrated and setae *la* small. Palptarsus with eupathidium  $\rho\zeta$  distally semilunar.

**Description.** Adult female (n = 4) – Body of medium size, oval. Length of idiosoma 245 (210-252), width 125 (113-125).

*Dorsum* (Fig. 12) – Dorsum with 13 pairs of setae (*ro*, *la*, *bo*, *ex*, *c1*, *c2*, *d1*, *e1*, *f1*, *f2*, *h1*, *h2* and *ps1*). Eyes absent. Dorsum completely covered with striae; prodorsum procurved with irregular longitudinal striae between *la*, *bo* and *ro*; striation between *ro*, *c1*, *d1*, *e1*, *f1* and *f2* transverse; striation between *c2*, *h1*, *h2* and *ps1* longitudinal. All dorsal setae serrate. Bothridial setae (*bo*) distally serrated. Lyrifissures *ia* located between setae *c1* and *d1*, *im* situated between setae *e1* and *f1*, *ip* situated close to *f1*. Lengths of dorsal setae: *ro* 9 (9-11); *la* 5; *bo* 33 (31-46); *ex* 14 (14-18); *c1* 10 (10-16); *c2* 19 (15-19); *d1* 11 (11-16); *e1* 16 (13-17); *f1* 13 (11-16); *f2* 18 (18-21); *h1* 13 (13-15); *h2* 17 (17-18); *ps1* 12. Distances between dorsal setae: *ro-ro* 20 (17-20); *la-la* 34 (31-37); *bo-bo* 36 (34-39); *c1-c1* 44 (34-44); *c2-c2* 125 (102-125); *d1-d1* 33 (30-34); *e1-e1* 46 (35-46); *f1-f1* 38 (28-38); *f2-f2* 60 (48-60); *h1-h1* 34 (23-34); *h2-h2* 49 (37-49); *ro-la* 22 (21-22); *c1-d1* 55 (51-55); *d1-e1* 38 (31-38); *e1-f1* 25 (25-32); *f1-f2* 16 (16-21); *h1-h2* 11 (8-11).

*Venter* (Fig. 13) – All ventral setae serrated (excluding *ps3*) and completely striated. Ventral setae similar in shape to dorsal setae. Longitudinal striae between *pt*, *mt $\alpha$*  and *mt $\beta$* . Lyrifissures *ih* located posteroventrally. Epimeral formula: 3-1-4-2. Measurements of setae: *pt* 10 (8-10); *mt $\alpha$*  11 (10-11) and *mt $\beta$*  12 (10-12). Four pairs of aggenital setae (*ag1*, *ag2*, *ag3* and *ag4*) and two pairs of pseudanal setae (*ps2* and *ps3*). Setal lengths: *ag1* 8 (8-9); *ag2* 9 (8-10); *ag3* 8 (8-10); *ag4* 9 (9-10); *ps2* 17 (16-20) and *ps3* 7 (7-8).

*Gnathosoma* (Fig. 14A-B) – Length 54 (49-54), width 41 (37-41). Gnathosoma visible from above. Subcapitulum with transverse striae between *sc1* and longitudinal striae behind *sc2*. Infracapitular setae simple. Setal lengths: *sc1* 9; *sc2* 12 (11-12) (Fig. 14a). Palp 37 (29-37) long, setation 6(+1  $\omega$ )-1-2. Palptarsus with eupathidium  $\rho\zeta$  distally semilunar (Fig. 14b), *ba* and  $\omega$  very small. Cheliceral stilettos 14 long.

*Legs* (Fig. 15A-D) – Tarsi I without apotele and claws, tarsi II-IV with two claws and hairy empodium. Setae *u'*, *u''* in tarsus I bifurcate and setae  $\kappa$  bifurcate. Chaetotaxy of legs I-IV (tarsus to trochanter): I: 8(+1  $\omega$ )-3(+1  $\phi$  +1  $\kappa$ )-3-3-1 (Fig. 15a); II: 7(+1  $\omega$ )-2-3-3-1 (Fig. 15b); III: 7-2-2-2-1 (Fig. 15c) and IV: 7-2-1-2-0 (Fig. 15d). Length of leg 133 (114-136); leg II 155 (121-158); leg III 137 (133-147) and leg IV 149 (127-152). Length of tarsus I 17 (14-17) and 11 (10-11) width; length of solenidion  $\omega I$  5 (4-6); length *tc' $\zeta$*  27 (27-31); *tc'' $\zeta$*  29 (27-30); length of seta *k* 1 (1-2).

**Type material.** Female holotype and three female paratypes collected in brood cells of *M. quadrifasciata*, as follows: Holotype, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, September 28, 2018, L. Rodighero. Three paratype females, Ijuí, Rio Grande do Sul, Brazil, March 01, 2019, T. Da-Costa. Female holotype deposited at the Departamento de Entomologia e Acarologia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba, São Paulo, Brazil. One paratype female deposited at the Technological Science Museum of the Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Other paratypes were deposited at the Natural Science Museum (ZAUMCN) of the University of Vale do Taquari – Univates, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brazil.

Male. not found.



**Remarks.** This new species resembles *Proctotydaeus (Oriolella) polonicus* Kaźmierski, 1998, with dorsal setae serrated and dorsal shield striated. Nevertheless, it differs because bothridial setae (*bo*) are distally serrated and short (33) instead of whip-like and long (76). Setae *ro*, *c1* and *h2* short (9, 10 and 17, respectively) instead of long (26, 31 and 64, respectively). In addition, eupathidium  $\rho\zeta$  is distally semilunar instead of cleft.

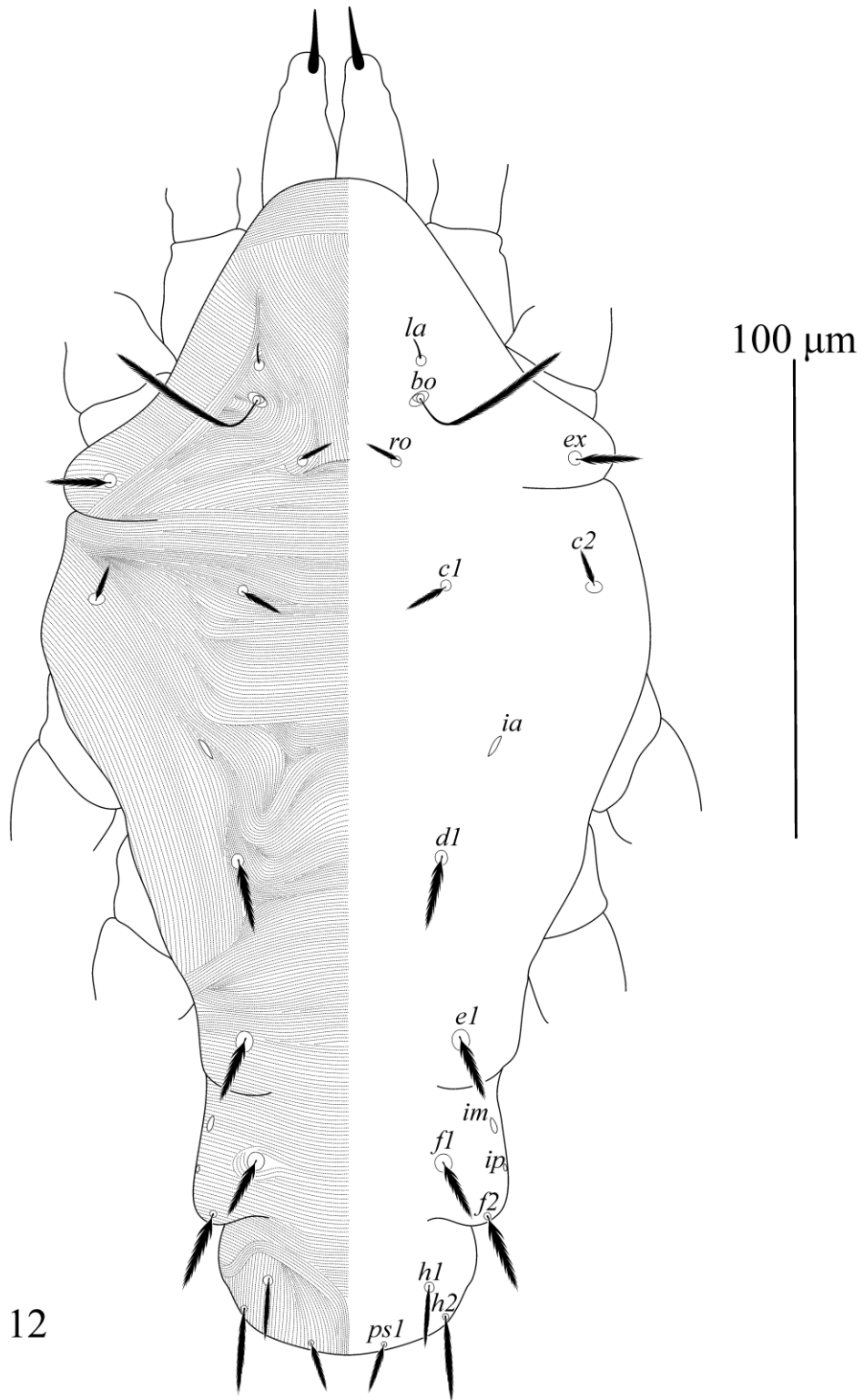


Figure 12: *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 2, female (holotype) in dorsal view.

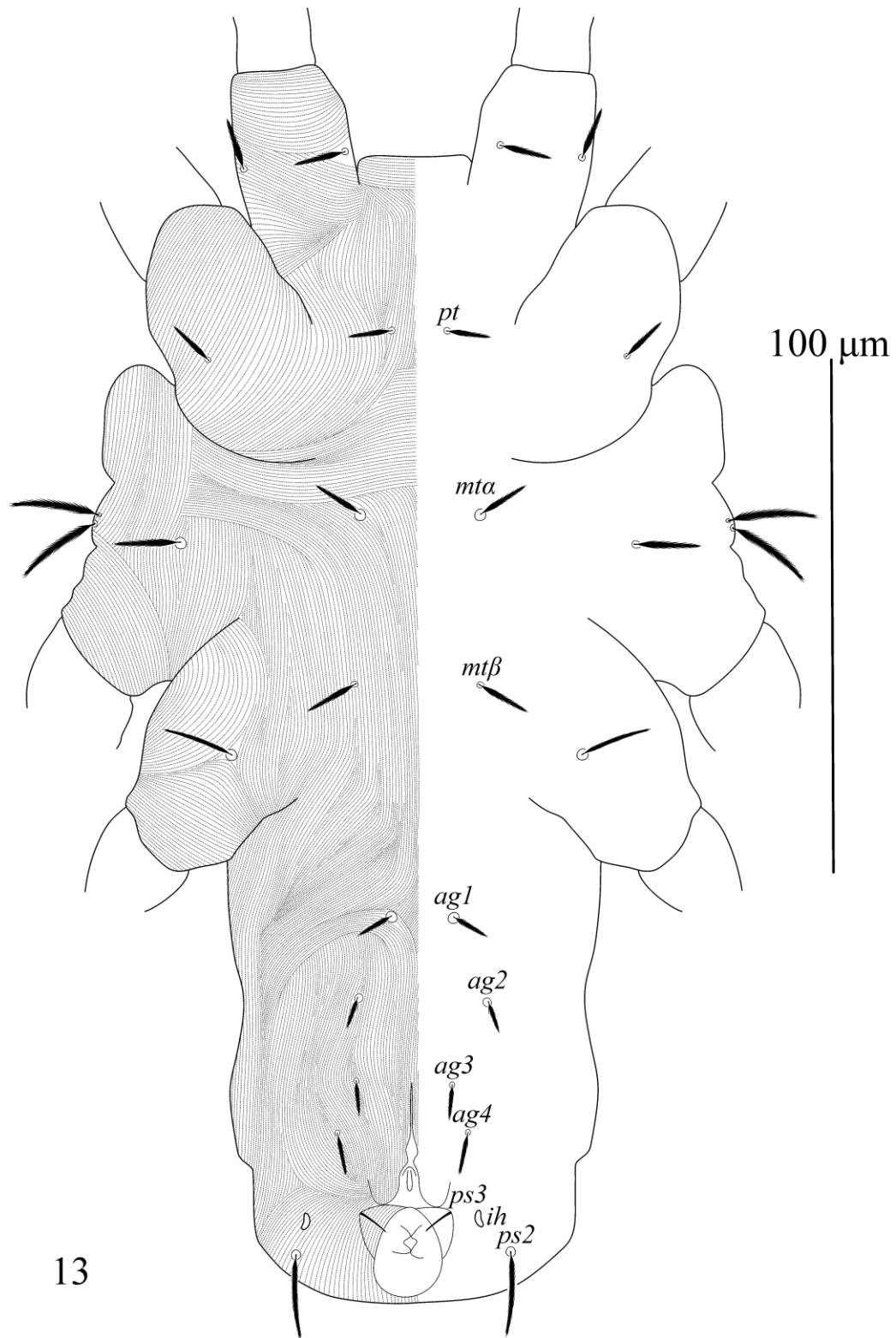


Figure 13: *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 2, female (holotype) in ventral view.

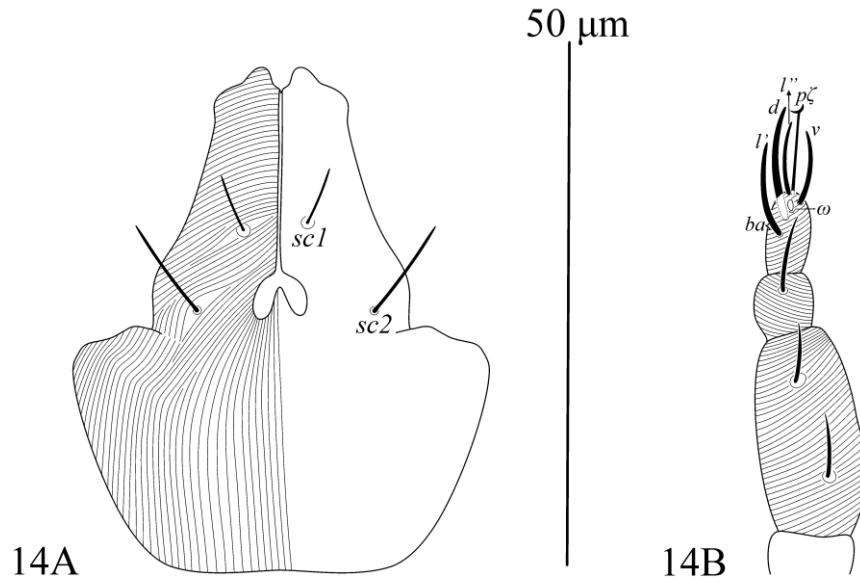


Figure 14: *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 2, female (holotype). (A) Gnathosoma in ventral view. (B) Palptarsus.

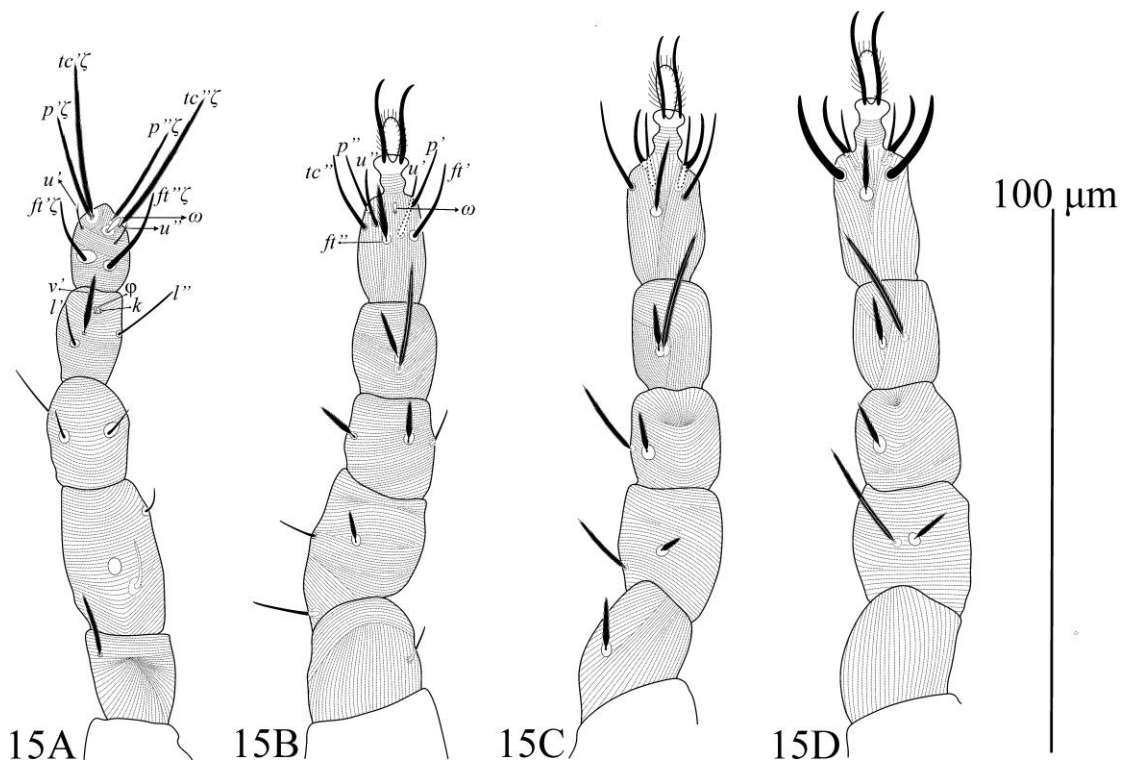


Figure 15: *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nov. 2, female (holotype). (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.

## Discussion

Iolinidae presents a high diversity of characters based on dorsal chaetotaxy, palp, legs and epimeral formula (Ripka *et al.* 2013; Darbemamieh *et al.* 2015; Ahmad-Hosseini *et al.* 2017). Other morphological characteristics, such as dorsal ornamentation, shape and size of dorsal setae, are also important characters for species differentiation.

Kaźmierski (1998) revised *Proctotydaeus*, distinguishing it as the largest genus within Pronematinae and differentiated it by the presence of bothridial setae club-like and whip-like, femur IV divided or not, presence or absence of *ps2*. The same author highlighted important morphological characteristics for the classification of each subgenus. However, in this study, we observed some limitations for the subgenus *Proctotydaeus*. Our species showed distinct characteristics, never described for the genus, such as the presence of *ps2* in the subgenus *Neotydeolus*, reticulation in the dorsal shield and different shapes of bothridial setae in subgenus *Oriollela*.

From these observed characteristics, we classified these species according to subgenus due to the larger number of characters that resembled them. André (1980) comments that *Proctotydaeus* presents evolutionary variations in the chaetotaxy, and the absence of *ps2* in the subgenus *Neotydeolus* makes it identical to the genus *Naudea*. The other characteristics (reticulation of prodorsal shield and shape of bothridial setae) observed in these species may be a result of their life history and habit, as Iolinidae is characterized by a high evolutionary rate and low diversification (André & Fain 2000). Therefore, the description of three new species of *Proctotydaeus* aims to better understand the distribution, taxonomy and ecological niches of these mites.

## Acknowledgments

The authors are grateful to University of Vale do Taquari – Univates for providing all the necessary material during the study and for the scholarship awarded to LFR. The authors are grateful to the Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the research productivity scholarship given to BB and NJF. This study was partly financed by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

## References

- Ahmad-Hosseini, M., Khanjani, M. & Karamian, R. (2017) A new species of *Neopronematus* and a re-description of *Pronematus rykei* Meyer & Rodrigues (Acari: Iolinidae) from Iran. *Zootaxa*, 4337, 493-508. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4337.4.2>
- André, H.M. (1979) A generic revision of the family Tydeidae (Acari: Actinedida). I. Introduction, paradigms and general classification. *Annales de la Societe royale Zoologique de Belgique*, 108, 189-208.
- André, H.M. (1980) A generic revision of the family Tydeidae (Acari: Actinedida). IV. Generic descriptions, keys and conclusions. *Annales de la Societe royale Zoologique de Belgique*, 116, 103-168.
- André, H.M. & Fain, A. (2000) Phylogeny, ontogeny and adaptive radiation in the superfamily Tydeoidea (Acari: Actinedida), with a reappraisal of morphological characters. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 130, 405–448. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2000.tb01636.x>
- Baker, E.W. (1965). A review of the genera of the family Tydeidae (Acarina). *Advances in Acarology*, 2, 95-133.
- Baker, E.W. (1968) Two new genera of Tydeidae (Acarina). *Annals of the Entomological Society of America*, 61, 968-970.
- Berlese, A. (1911) Acarorum species novae quindecim. Gen. *Proctotydaeus* n. gen. *Redia*, 7: 430-431.
- Darbemamieh, M., Hajiqanbar, H., Khanjani, M. & Kaźmierski, A. (2015) New species and records of *Neopronematus* (Acari: Iolinidae) from Iran with a key to world species. *Zootaxa*, 3990, 235-246. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3990.2.4>
- Fain, A. & Evans, G.O. (1966) The genus *Proctotydaeus* Berl. (Acari: Iolinidae) with descriptions of two new species. *Annals and Magazine of Natural History*, 9, 149-157.
- Flechtmann, C.H. & Camargo, C.A. (1974) Acari associated with stingless bees (Meliponidae, Hymenoptera) from Brazil. *Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Congress of Acarology*, 315-319.
- Gerson, U., Smiley, R.L. & Ochoa, R. (2003) *Mites (Acari) for pest control*. Blackwell Science, 540pp.
- Kaźmierski, A. (1998) A review of the genus *Proctotydaeus* Berlese (Actinedida: Tydeidae: Pronematinae). *Acarologia* 39, 33-47.
- Khaustov, A.A (1997). Two new species of mites of the genus *Proctotydaeus* (Acariformes, Tydeidae) from Crimea and North Eastern Ukraine. *Vestnil Zoologii* 90-93. In Russian.
- Kramer, P. (1877) Grundzuge zur Systematik der Milben. *Arch. Naturgesch*, 2, 215-247.

- Krantz, G.W. (1978) *A Manual of Acarology*, 2nd ed. Corvallis: Oregon State University.
- Kuznetsov, N.N. & Livshitz, L.Z. (1973) Some new Tydeid species (Acariformes, Tydeidae) of Crimean fauna. *Nauchnye Doklady Vysshei Shkoly Biologicheskije Nauki*, 8, 13-18.
- Meyer, M.K.P. & Rodrigues, M.C. (1966) Acari associated with cotton in Southern Africa (reference to other plants). *Garcia de Orta*, 13, 1-33.
- Momen, F. (1990) A new species of tydeid mite (Acari: Tydeidae) associated with rusty grain beetle on dried wheat. *Entomologische Mitteilungen aus dem Zoologischen Staatsinstitut und Zoologischen Museum Hamburg*, 10, 19-24.
- Oudemans, A.C. (1931) Acarologisches aantekeningen CVIII. *Entomologisches Berichten*, 8, 251–263.
- Panou, H., Emmanouel, N.G. & Kazmierski, A. (2000) *Neopronematus*, a new genus of the subfamily Pronematinae (Acari: Prostigmata: Tydeidae) and a new species from Greece. *Acarologia*, 41, 321-325.
- Price, D.W. (1972) A new iolinid mite from the Galapagos Islands (Acarina: Iolinidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 65, 793-796.
- Pritchard, A.E. (1956) A new superfamily of trombidiform mites with the description of a new family, genus and species (Acarina: Iolinoidea: Iolinidae: *Iolina nana*). *Annals of the Entomological Society of America*, 49, 204–206.
- Ripka, G., Laniecka, I. & Kazmierski, A. (2013) On the arboreal acarofauna of Hungary: Some new and rare species of prostigmatic mites (Acari: Prostigmata: Tydeidae, Iolinidae and Stigmaeidae). *Zootaxa*, 3702, 1-50. <http://doi.org/10.11646/zootaxa.3702.1.1>
- Rosa, A.E. & Flechtmann, C.H.W. (1983) Acari domum meliponinarum brasiliensis habitantes. III. *Proctotydaeus partamonae*, sp. n. (Acari: Acariformes, Tydeidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 43, 273-276.
- Rosa, A.E., André, H. & Flechtmann, C.H.W. (1985) Acari domun meliponirarum brasiliensium habitantes. 8. *Proctotydaeus alvearii* sp. n. (Acari: Acariformes: Tydeidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 45, 79-83.
- Sadeghi, H., Laniecka, I & Kazmierski, A. (2012) Tydeoid mites (Acari: Triophtydeidae, Iolinidae, Tydeidae) of Razavi Khorasan province, Iran, with description of three new species. *Annales Zoologici*, 62, 99-114. <https://doi.org/10.3161/000345412X633685>
- Theron, N., Roets, F., Dreyer, L.L., Esler, K.J. & Ueckermann, E.A. (2012) A new genus and eight new species of Tydeoidea (Acari: Trombidiformes) from *Protea* species in South Africa. *International Journal of Acarology*, 38, 257-273. <https://doi.org/10.1080/01647954.2011.619576>
- Treat, A.E. (1961) Two tydeid mites from the ears of noctuid moths. *Acarologia*, 2426pp.

Ueckermann, E.A. & Meyer, M.K.P.S. (1988) South African Acari. IV. Some mites of the Addo Elephant National Park. *Koedoe*, 31, 31-51.

Zhang, Z.Q., Fan, Q.H., Pesic, V., Smit, H., Bochkov, A.V., Khaustov, A.A., Baker, A. Wohltmann, A., Wen, T., Amrine, J.W., Beron, P., Lin, J., Gabryś, G. & Husband, R. (2011) Order Trombidiformes Reuter, 1909. *In*: Zhang, Z.Q. (Ed.), *Animal Biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. *Zootaxa*, 3148, 129–138.



**CAPÍTULO III**  
**MANUSCRITO CIENTÍFICO**

**TWO NEW SPECIES OF TYDEIDAE (ACARI: PROSTIGMATA)  
ASSOCIATED WITH STINGLESS BEES\***

\*Este artigo foi publicado em 07/08/19 no periódico *Zootaxa*, 4652(1):101-112.

## Two new species of Tydeidae (Acari: Prostigmata) associated with stingless bees

TAIRIS DA-COSTA<sup>1,2,3</sup>, LUANA FABRINA RODIGHERO<sup>2</sup>, GUILHERME LIBERATO DA SILVA<sup>2</sup>, NOELI JUAREZ FERLA<sup>2</sup> & BETINA BLOCHTEIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Entomologia, Escola de Ciências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Acarologia, Tecnovates, Universidade do Vale do Taquari - Univates, Lajeado, RS, Brasil.

<sup>3</sup>Corresponding author. E-mail: [tairiscosta@gmail.com](mailto:tairiscosta@gmail.com)

### Abstract

Tydeid mites have a cosmopolitan distribution and are associated with diverse substrates such as soil, plants, stored products, and animals like vertebrates and insects. Here we report two new species of tydeid mites living inside stingless bee colonies in Brazil. *Lorryia meliponarum* n. sp. and *Melissotydeus bipunctata* n. sp. are described and illustrated, and in addition a key to the species of *Melissotydeus* is presented.

**Key words:** *Lorryia*, Meliponini, *Melissotydeus*, mite, Tydeinae

### Introduction

Members of the Tydeidae family live on plants, soil, lichens, mosses and stored products and some live with birds, mammals and insects (English-Loeb *et al.* 1999; Gerson *et al.* 2003; Walter *et al.* 2009; Silva *et al.* 2014). This family contains 335 species belonging to 30 genera. Its largest subfamily is the Tydeinae, containing about 318 species classified into 25 genera (André & Fain 2000; Silva *et al.* 2016a; Mondin *et al.* 2016; Kaźmierski *et al.* 2018). The genus *Lorryia* contains 207 described species and consequently has the highest species richness of Tydeidae (Silva *et al.* 2016a). Five species of this genus have been reported in Brazil: *Lorryia formosa* (Cooreman, 1958) is found on citrus plants; *L. lorenzata* Silva & Ferla in Silva *et al.* 2016b (originally described as *Brachytydeus lorenzatus*) lives on the plants *Morus nigra*, L., *Piper amalago* L. and *Acalypha multicaulis* L.; *L. podocarpa* (Baker, 1968a)

is associated with *Vitis labrusca* L.; *L. schusteri* (André & Naudo, 1965) lives on rocks and; *L. scutata* (Silva, Rocha & Ferla, 2013) (originally described as *B. scutatus*) is found on *Vernonia* sp. (Mondin *et al.* 2016). Other species have been recorded in the nests of birds, mammals and insects: *Lorryia funki* (Baker, 1968a); *L. reticulata* (Oudemans, 1928); *L. superba* Oudemans, 1925; *L. woolleyi* (Baker, 1968b); *L. zaheri* (Baker, 1968b); *Melissotydeus macrosolenus* André, 1985 and; *Nudilorryia paraferula* Kaźmierski, 1996 (Kaźmierski 1998; Silva *et al.* 2016a).

Regarding the genus *Melissotydeus* André, 1985, only two species have been described worldwide. Within Brazil, *Melissotydeus macrosolenus* André, 1985 has been reported in the nests of certain bee species such as *Partamona (Partamona) mourei* Camargo, and *Frieseomelitta modesta* Posey (André 1985). In Peru *M. incarum* Kaźmierski, 1998 has been found on bamboo debris (Kaźmierski 1998).

In the present study we describe two new mite species of *Lorryia* and *Melissotydeus*, and provide a key to the species of *Melissotydeus*.

## Material and methods

Mite specimens were taken from the hives of the native stingless bees *Tetragonisca fiebrigi* (Schwarz), *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier) and *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lepeletier. The hives were located in the municipalities of Bom Princípio (29°30'25.18'' S 51°19'11.01'' W) and Porto Alegre (30°3'38.71'' S 51°10'32.26'' W) from the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. Mites were separated under a binocular microscope (Leica S6E) and mounted on glass slides in Hoyer's medium. The prepared specimens were examined with a phase contrast microscope (Axio Scope. A1-Zeiss) and the drawings were proceed using camera lucida and finalized in CorelDRAW X8®. Images were taken using the scanning electron microscope at the Central Laboratory of Microscopy and Microanalysis (LabCEMM) of the Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS).

The nomenclature of the idiosomal chaetotaxy used follows Kaźmierski (1989, 1998), and the nomenclature of the leg setae are used as proposed by André (1981). The specimens were checked using the keys of Kaźmierski (1998) and Silva *et al.* (2016a). All measurements are shown in micrometers ( $\mu\text{m}$ ) and the measurements of the holotypes are followed by the ranges of the paratypes in parentheses.

## Results

### *Lorryia* Oudemans, 1925

#### *Lorryia meliponarum* n. sp.

(Figs. 1–7)

**Diagnosis.** Dorsal and ventral shields with serrated setae, including trichobothria. Serrated setae on legs I–IV (except *tc'*, *tc''* and *ft'* of leg I). Setae *d* bifurcated. Dorsal ornamentation mostly striated, type *Tydeus*, with longitudinal striae between *ro*, *la* and *bo*. Empodial hooks absent.

**Description.** Adult female (n = 9)—Body of medium size, oval (Fig. 1). Length of idiosoma 223 (216–268), width 139 (122–151).

**Dorsum** (Fig. 1). Dorsum with 13 pairs of setae (*ro*, *la*, *bo*, *ex*, *c1*, *c2*, *d*, *e*, *f1*, *f2*, *h1*, *h2* and *ps1*). Dorsum completely covered with striae; prodorsum with longitudinal striae between *ro*, *la* and *bo* (Fig. 2A–C). Striation between setae *d* transverse in the form of a “U” (Fig. 2D). Striation between *f1*, *f2*, *h1* and *h2* transverse (Fig. 2E). Eyes absent. All dorsal setae serrate, not reaching setae in next row (excluding *bo*). Bothridial setae (*bo*) filiform. Lyrifissures *ia* located between setae *c1* and *d*, *im* situated close to *d* and *e*. Lengths of dorsal setae: *ro* 9 (7–12); *la* 7 (6–9); *bo* 42 (35–45); *ex* 12 (8–18); *c1* 9 (7–12); *c2* 12 (7–16); *d* 9 (7–14); *e* 11 (9–15); *f1* 12 (10–15); *f2* 13 (11–18); *h1* 12 (11–18); *h2* 13 (12–20); *ps1* 12 (10–16). Distances between dorsal setae: *ro-ro* 18 (18–28); *la-la* 54 (42–73); *bobo* 43 (43–58); *c1-c1* 43 (42–60); *c2-c2* 108 (100–147); *d-d* 33 (29–47); *e-e* 68 (68–99); *f1-f1* 21 (19–32); *f2-f2* 52 (49–69); *h1-h1* 19 (12–24); *h2-h2* 52 (49–71); *ro-la* 25 (21–31); *c1-d* 38 (37–55); *d-e* 29 (28–40); *e-f1* 29 (29–43); *f1-f2* 24 (20–24); *h1-h2* 21 (17–23).

**Venter** (Fig. 3). All ventral setae serrated and completely striated. Longitudinal striae between *pt* setae, transverse striae between *pt*, *mt $\alpha$*  and *mt $\beta$* . Lyrifissures *ih* located posteroventrally. Measurements of setae: *pt* 9 (8–15); *mt $\alpha$*  10 (9–15) and; *mt $\beta$*  10 (8–13). Four pairs of aggenital setae (*ag1*, *ag2*, *ag3* and *ag4*) and one pair of pseudanal setae (*ps2*). Setal lengths: *ag1* 7 (5–8); *ag2* 8 (6–12); *ag3* 5 (5–8); *ag4* 9 (8–12); *g1* 4 (3–6); *g2* 4 (3–7); *g3* 4 (3–5); *g4* 3 (1–6); *g5* 4 (2–6); *g6* 4 (1–5) and; *ps2* 12 (8–15) (Fig. 4A). Shape of *cg* organ elliptical (Fig. 3).

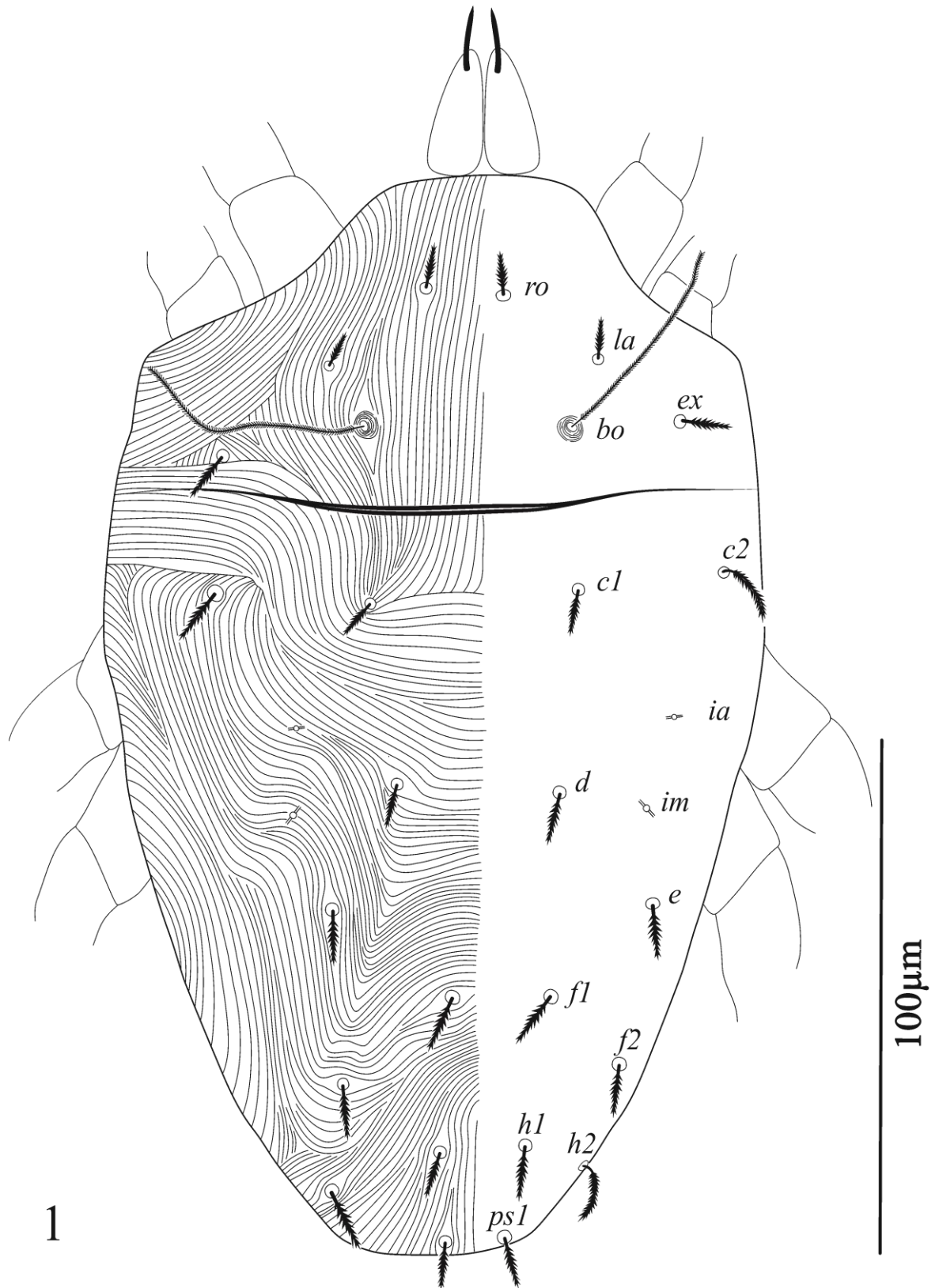
**Gnathosoma** (Fig. 5). Length 49 (49–59), width 42 (40–49). Gnathosoma visible from above. Subcapitulum with longitudinal striae behind *sc1* and *sc2*. Infracapitular setae simple. Setal

lengths: *sc1* 3 (3–6), *sc2* 7 (6–12). Palp 48 (46–59) long, setation 5(+1 $\omega$ )-2-2 (Fig. 6), setae *d* bifurcate. Palp tarsus with eupathidium  $\rho\zeta$  semilunar distally (Fig. 4B). Palptarsus significantly longer than cheliceral digits. Cheliceral stilettos 17 (10–17) long.

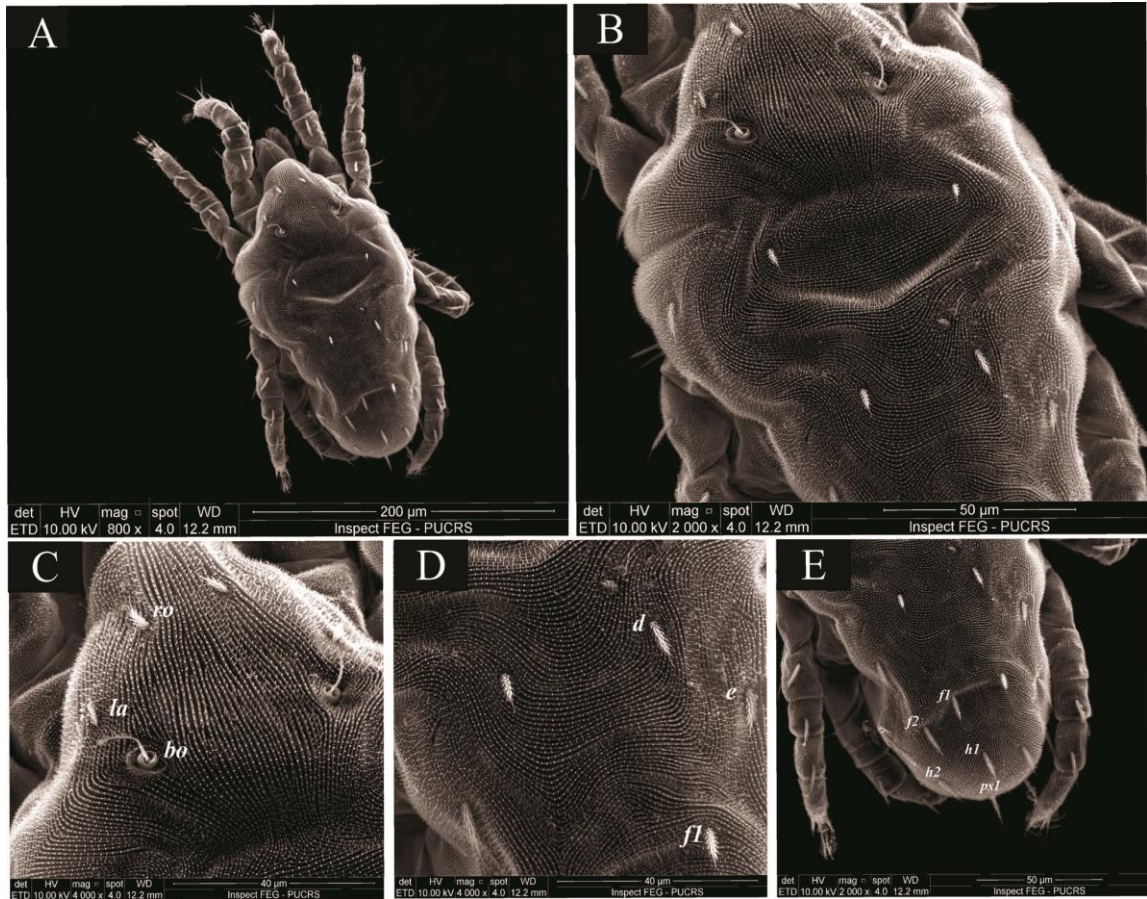
**Legs** (Fig. 7A-D). All leg setae serrated (except *tc'*, *tc''* and *ft'* of leg I). Tarsi I-IV with two claws and hairy empodium but empodial hooks (*om*) are absent. Chaetotaxy of legs I–IV (tarsus to trochanter): I: 8(+1 $\omega$ )-3(+1 $\kappa$ )-33-1 (Fig. 7A); II: 6(+1 $\omega$ )-2-2-3-1 (Fig. 7B); III: 5-2-1-2-1 (Fig. 7C) and; IV: 5-2-1-1-0 Fig. 7D). Length of leg I 147 (147–203); leg II 114 (114–165); leg III 135 (115–195) and; leg IV 147 (122–196).

Length of tarsus + apotele I 42 (39–54) and 11 (11–14) width; length of solenidion  $\omega I$  7 (6–8); length of seta *ft'* 15 (11–16); *ft''* 9 (9–11); length of seta *k* 3 (2–3); length of  $\omega II$  4 (3–5).

**Type material.** Female holotype, eight female paratypes, as follows: Holotype, six paratypes, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, from nests of *T. fiebrigi*, September 21, 2018, T. Da-Costa. Two paratype females, Bom Princípio, Rio Grande do Sul, Brazil, from nest of *M. quadrifasciata*, October 10, 2018, T. Da-Costa. Female holotype and a female paratype deposited at the Departamento de Entomologia e Acarologia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba, state of São Paulo, Brazil. Two paratypes were deposited at the Museu de Ciências e Tecnologia, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Other paratypes were deposited at the Museu de Ciências Naturais (ZAUMCN), Universidade do Vale do Taquari—Univates, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brazil.



**FIGURE 1.** *Lorryia meliponarum* n. sp., female (holotype), idiosoma in dorsal view.



**FIGURE 2.** *Lorryia meliponarum* n. sp. (A) Dorsum. (B) Ornamentation in dorsal view. (C) Ornamentation between *ro* and *bo*. (D) Ornamentation between *d* and *fl*. (E) Opisthosomal setae.

Male. not found.

**Etymology.** The name *meliponarum* derives from the name of the stingless bee tribe Meliponini.

**Remarks.** This new species resembles *L. obnoxia* (Kuznetzov & Zapletina, in Livshitz *et al.* 1972), which has short dorsal setae, no empodial hooks and *Tydeus* striations. Nevertheless, it differs as its dorsal setae are serrated instead of lanceolate, its trichobothria (*bo*) are serrated instead of smooth and setae *d* are bifurcated. This new species is also similar to *L. oregonensis* (Baker, 1970) as its dorsal setae are serrated and it has *Tydeus* striations. Nonetheless, it differs because its dorsal setae are short (*fl* and *fl*2 do not reach the bases of *h*1 and *h*2, respectively) instead of long (*fl* and *fl*2 reach the bases of *h*1 and *h*2, respectively). In addition, its leg setae are serrated (except *tc*' , *tc*'' and *ft*' on leg I) instead of smooth, its empodium has claws instead of without claws, it has transverse striae between the ventral setae *mt* $\alpha$  and *mt* $\beta$  instead of in

a V-pattern, and solenidion  $\omega$ I is distinctly less than  $\frac{1}{2}$  the width of tarsus I instead of being longer than  $\frac{1}{2}$  the width of tarsus I.

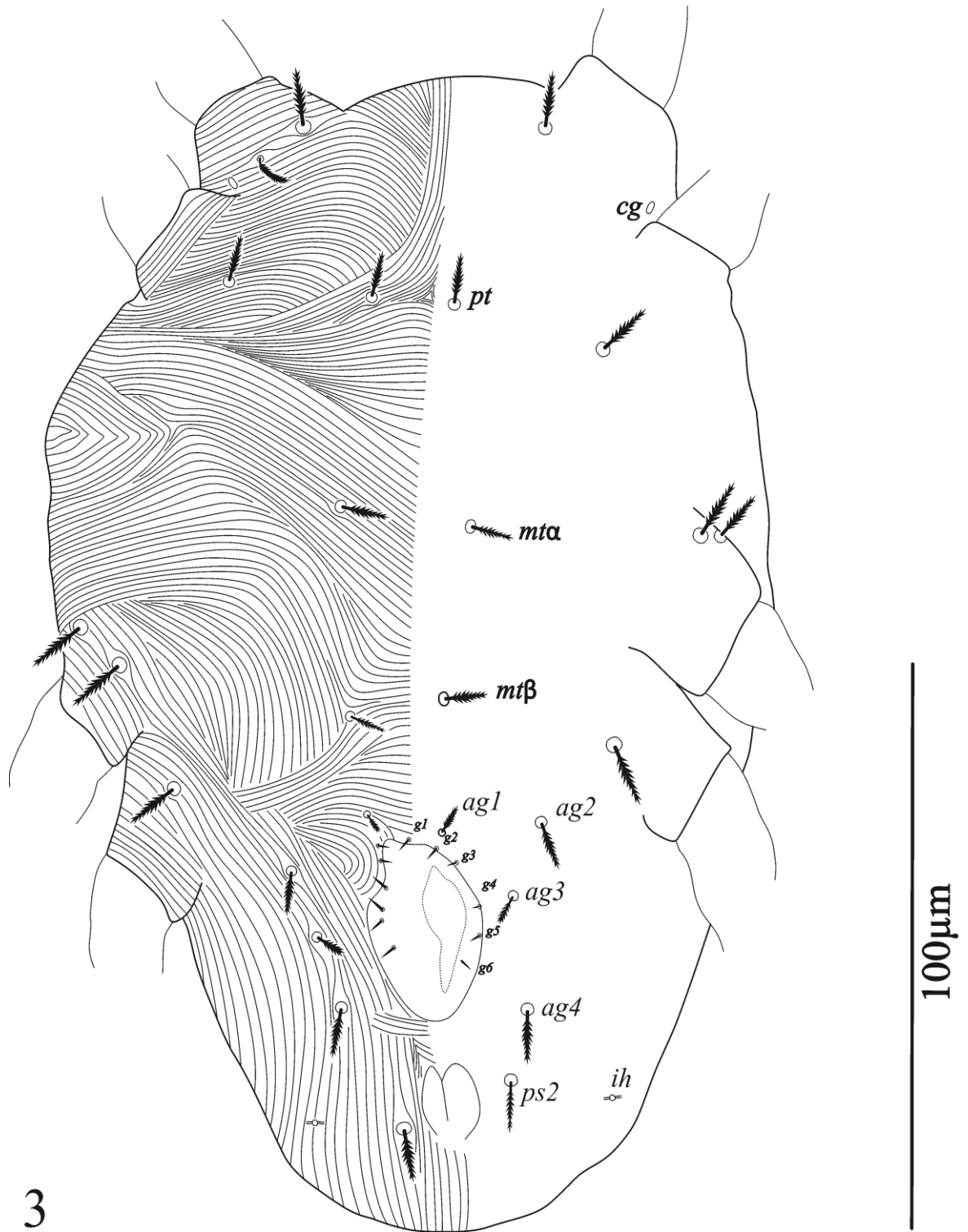
***Melissotydeus* André, 1985**

***Melissotydeus bipunctata* n. sp.**

(Figs. 8–13)

**Diagnosis.** Strongly striated with reticulated dorsal shield between *bo* setae, setae *la* very small, *ro* longer than *la* and serrate, and *bo* very long (30–41) and serrate. Female chaetotaxy of leg I 8(+1  $\omega$ )-3(+1  $\kappa$ )-3-3-1, leg II 6(+1  $\omega$ )-2-2-3-0; palp setation 6(+1 $\omega$ )-2-2. Palp tarsus with eupathidium  $\rho\zeta$  semilunar distally.



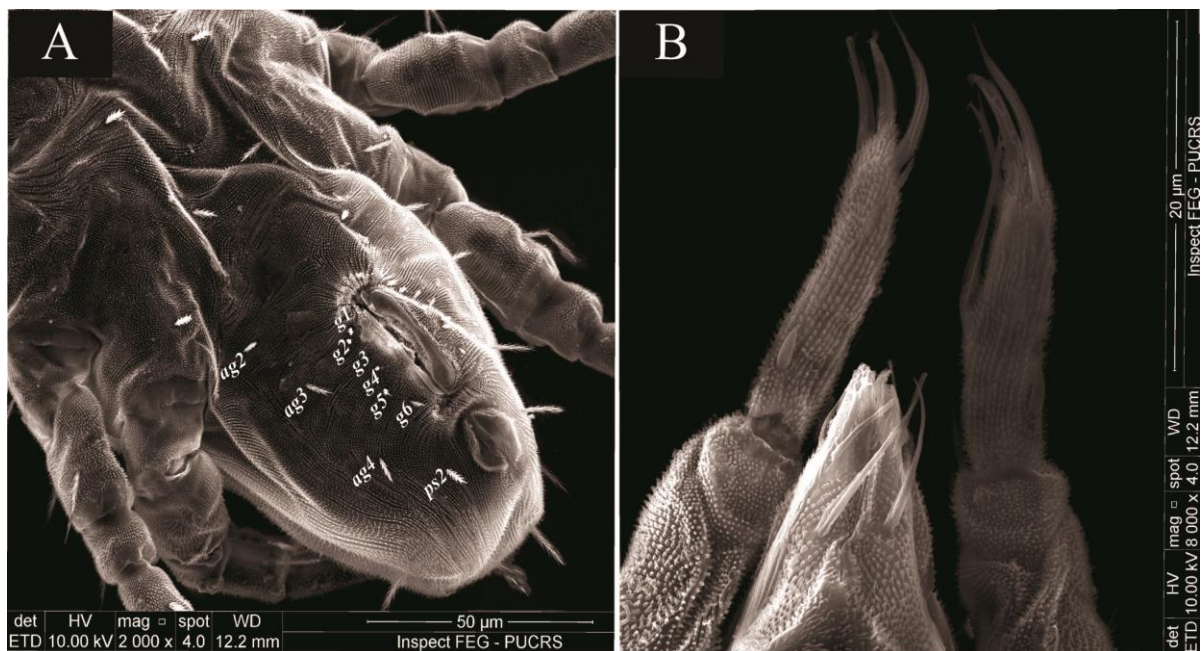


**FIGURE 3.** *Lorryia meliponarum* n. sp., female (holotype), in ventral view.

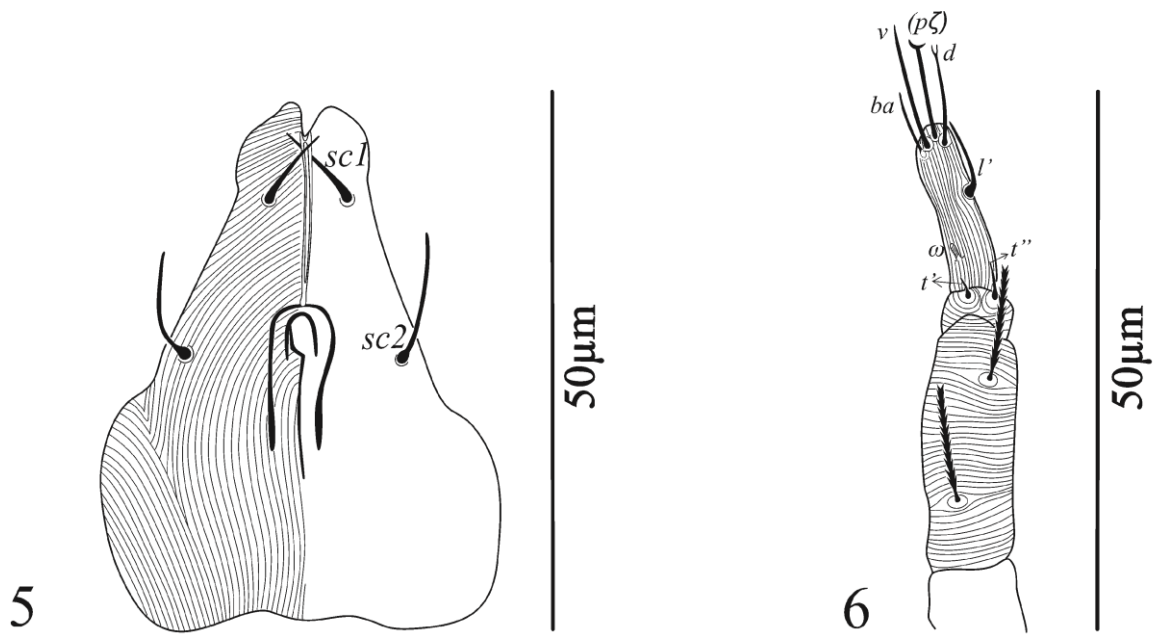
**Description.** Adult female (n = 6)—Body of medium size (Fig. 8). Length of idiosoma 174 (158–174), width 125 (120–139).

**Dorsum** (Fig. 8). Dorsum with 10 pairs of setae (*ro*, *la*, *bo*, *c1*, *c2*, *d*, *e*, *f1*, *f2*, *h1* and *h2*).

Dorsal ornamentation: Ornamentation type *Tydeus*, dorsum with strong striations and irregular reticulation (Fig. 9A). Prodorsum reticulated between *ro*, *la* and *bo* (Fig. 9B). Setae *ex* absent. Opisthosoma transversely striate between *c1*, *c2*; also transverse striae between setae *d*, *e* and *f1*, encircled with striae to form an oval (Fig. 9C), transverse striae between *f2*, *h1* and *h2*. Cross-ties on striae “x”- shaped. Eyes absent. All dorsal setae very short and serrated (including *bo*) except *ro*, *f2*, and *h1-2* which are slightly longer, but still do not reach setae in next row (excluding *bo*). Lyrifissures *ia* located between setae *c1* and *d*, *im* situated close to *e*. Lengths of dorsal setae: *ro* 7 (6–7); *la* 4 (4–5); *bo* 37 (30–41); *c1* 3 (3–4); *c2* 3 (3–5); *d* 3 (3–4); *e* 5 (3–6); *f1* 6 (3–6); *f2* 7 (6–8); *h1* 9 (7–9) and; *h2* 9 (7–9). Distances between dorsal setae: *ro-ro* 23 (17–23); *la-la* 52 (49–54); *bo-bo* 51 (50–52); *c1-c1* 49 (44–49); *c2-c2* 89 (82–89); *d-d* 24 (22–24); *e-e* 65 (50–65); *f1-f1* 17 (16–17); *f2-f2* 39 (32–39); *h1-h1* 9 (9–12); *h2-h2* 28 (28–31); *ro-la* 23 (21–26); *c1-d* 30 (22–30); *d-e* 30 (21–30); *e-f1* 40 (32–40); *f1-f2* 13 (8–13) and; *h1-h2* 10 (7–12).

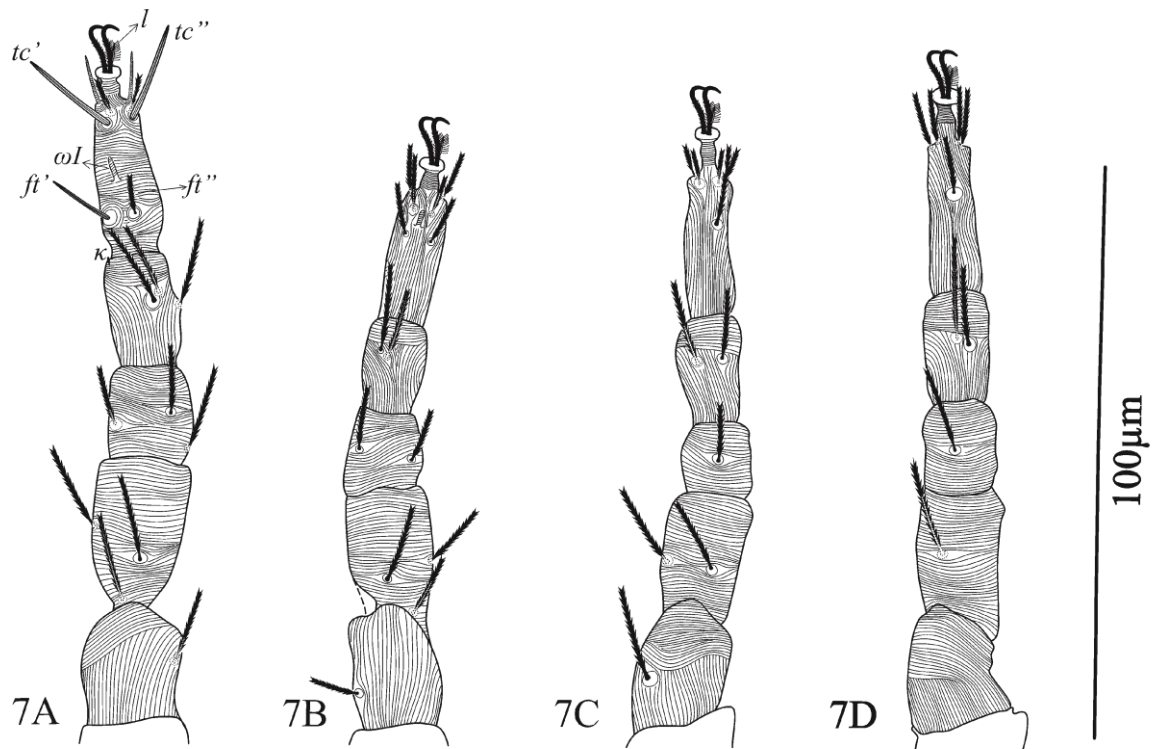


**FIGURE 4.** *Lorryia meliponarum* n. sp. (A) Genital area. (B) Palptarsus.



**FIGURES 5–6. FIGURE 5.** *Lorryia meliponarum* **n. sp.**, female (holotype), gnathosoma in ventral view. **FIGURE 6.** *Lorryia meliponarum* **n. sp.**, female (holotype), palptarsus.

**Venter** (Fig. 10). Faintly striated with longitudinal striae between setae *pt*, and transverse striae between *mtα* and *mtβ*. Ventral setae very short and serrated. Lyrifissures *ih* located posteroventrally. Measurements of setae: *pt* 8 (8–9); *mtα* 12 (5–12); *mtβ* 7 (4–8). Four pairs of aggenital setae (*ag1*, *ag2*, *ag3* and *ag4*). Setal lengths: *ag1* 7 (6–8); *ag2* 6 (6–8); *ag3* 7 (6–9); *ag4* 9 (5–9); *g1* 5 (4–5); *g2* 5 (4–6); *g3* 6 (4–7); *g4* 6 (4–8); *g5* 10 (5–10); *g6* 8 (6–10); *ps1* 15 (11–15) and; *ps2* 13 (Fig. 9D). Shape of *cg* organ elliptical (Fig.10).



**FIGURE 7.** *Lorryia meliponarum* n. sp., female (holotype), (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.

**Gnathosoma** (Fig. 11). Length 44 (43–48), width 39 (36–40). Gnathosoma visible from above. Subcapitulum with transverse striae behind *sc1* and *sc2*. Infracapitular setae simple. Setal lengths: *sc1* 9 (7–11), *sc2* 7 (7–15). Palp setation 6(+1 $\omega$ )-2-2, palp 38 (34–45) long (Fig. 12). Setae *d* simple. Palp tarsus with eupathidium  $\rho\zeta$  semilunar distally. Cheliceral stiletos 15 (13–18). Palptarsus significantly longer than cheliceral digits.

**Legs** (Fig. 13). All leg setae serrated. Tarsi I–IV with two claws and hairy empodium but empodial hooks (*om*) are absent. Chaetotaxy of legs I–IV (tarsus to trochanter): I: 8(+1 $\omega$ )-3(+1 $\kappa$ )-3-3-1 (Fig. 13A); II: 6(+1 $\omega$ )-2-2-3-0 (Fig. 13B); III: 5-2-1-2-1 (Fig. 13C); IV: 5-2-1-2-0 (Fig. 13D). Length of leg I 129 (109–140); leg II 108 (85–113); leg III 107 (92–112); leg IV 109 (96–114).

Length of tarsus + apotele I 34 (33–36), width 15 (13–17); length of solenidion  $\omega I$  5 (4–7); length of seta *ft'* 21 (14–21); *ft''* 12 (12–13); length of seta *k* 4 (4); length of  $\omega II$  4 (4–7).

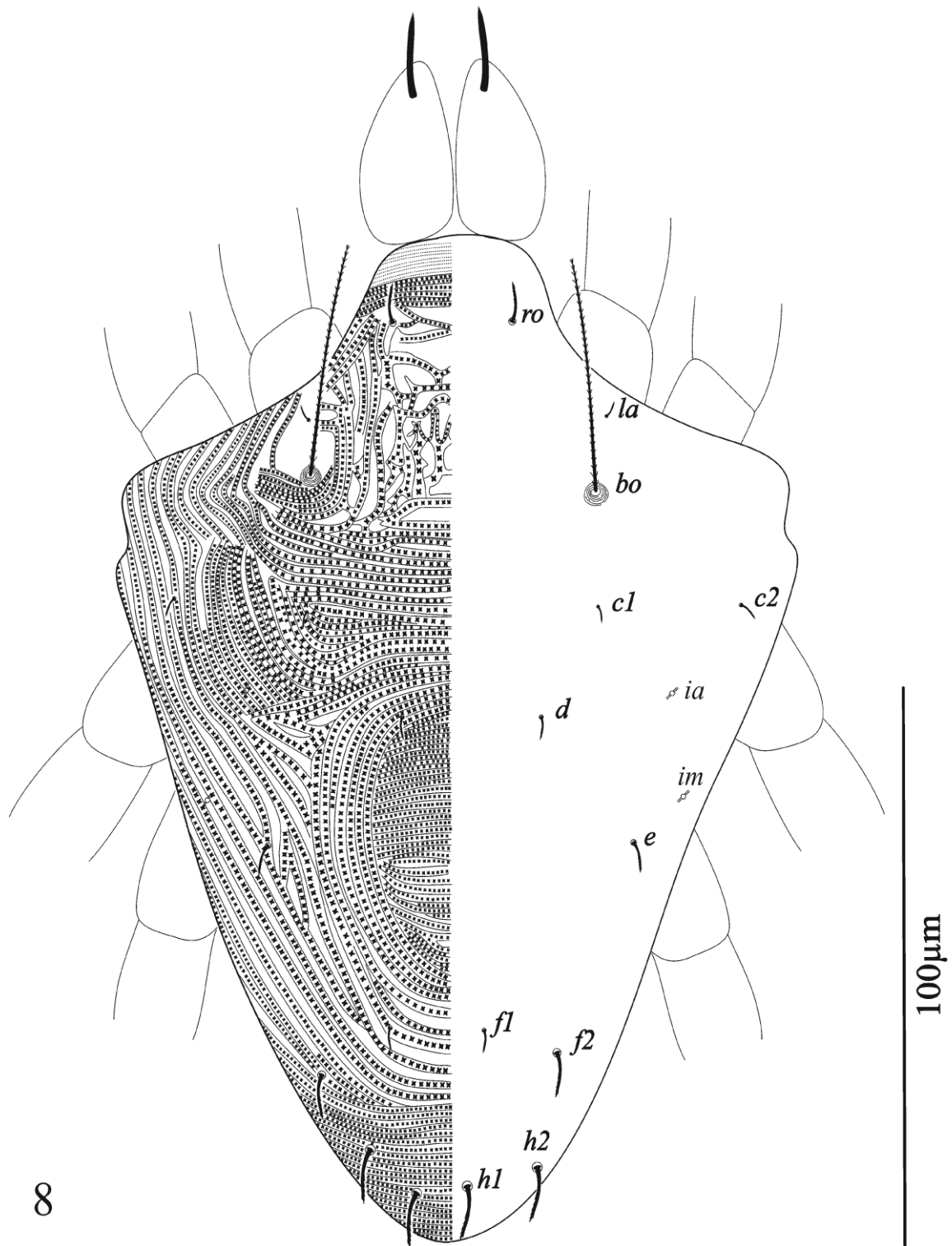
**Type material.** Female holotype and five female paratypes, as follows: Female holotype, two paratypes, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, from nests of *S. bipunctata*, April 03, 2018, T. Da-Costa. Three female paratypes, same data March 22, 2018. The female holotype

and a female paratype were deposited at the Departamento de Entomologia e Acarologia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba, state of São Paulo, Brazil. Two paratypes were deposited at the Museu de Ciências e Tecnologia, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil. Other paratypes were deposited at the Museu de Ciências Naturais (ZAUMCN), Universidade do Vale do Taquari—Univates, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brazil.

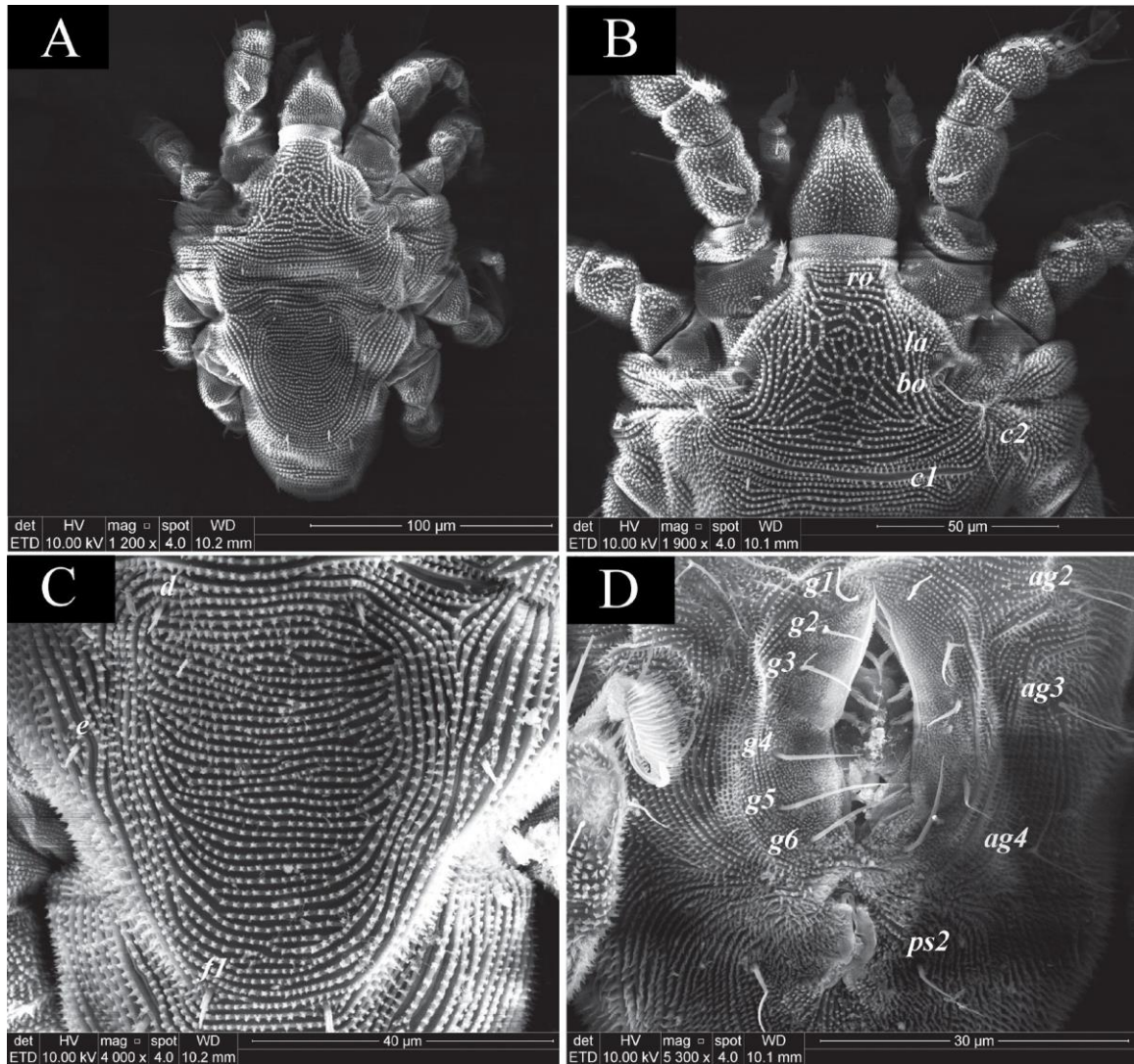
Male. not found.

**Etymology.** The name *bipunctata* originated from the name of its stingless host species *S. bipunctata*.

**Remarks.** This new species resembles *M. macrosolenus* for having small dorsal setae and strong striae on its idiosoma. It differs from this species as it has serrated trichobothria (*bo*) instead of plumose trichobothria (*bo*) and it has an irregular reticulated prodorsum (reticulation absent in *M. macrosolenus*).



**FIGURE 8.** *Melissotydeus bipunctata* n. sp., female (holotype), idiosoma in dorsal view.



**FIGURE 9.** *Melissotydeus bipunctata* n. sp. (A) Dorsum. (B) Ornamentation between *ro* and *c1*, reticulated area. (C) Transverse striation between *d*, *e* and *fl*, encircled with striae to form an oval. (D) Genital area.

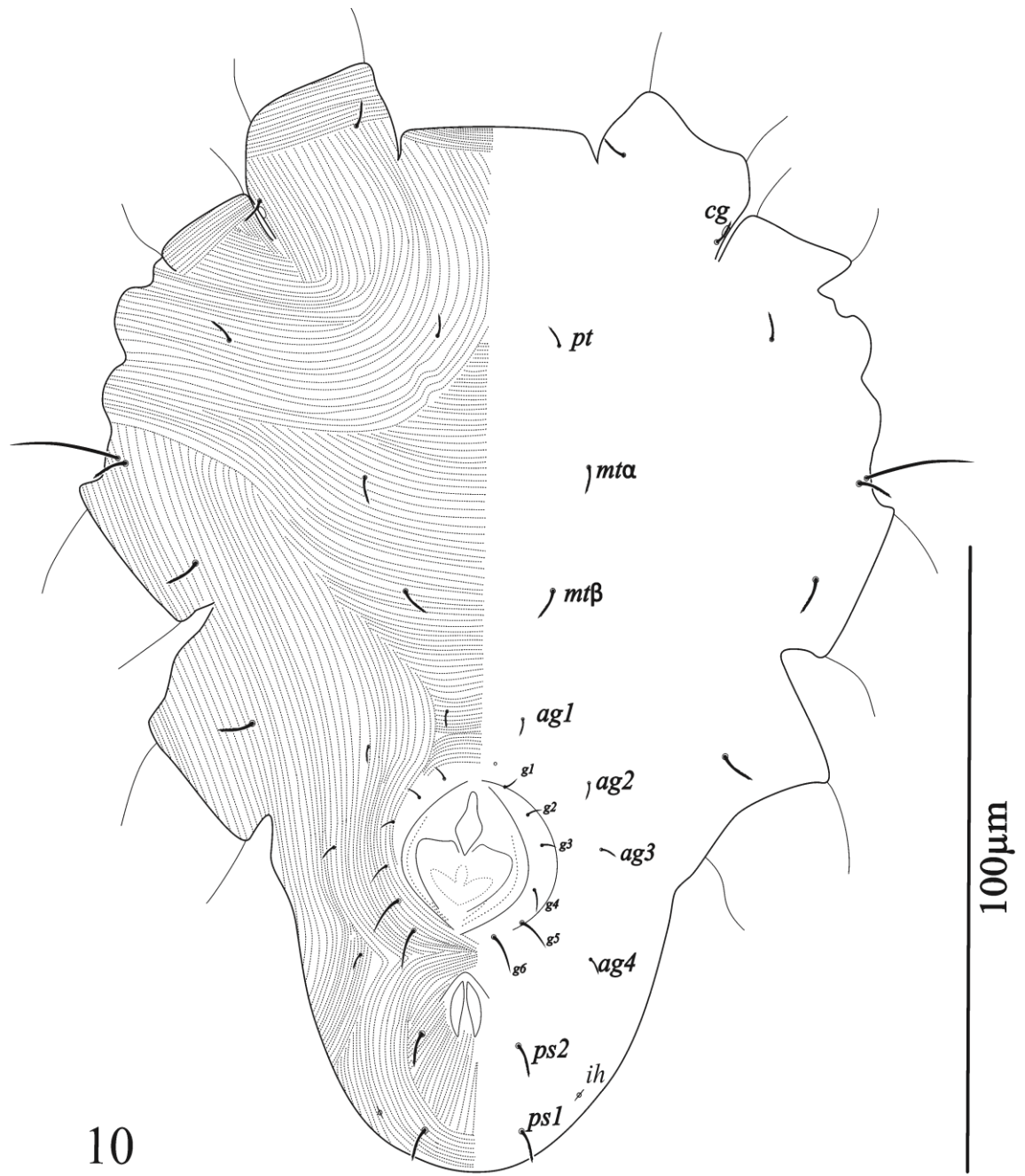
**Key to adult *Melissotydeus* females of the world** (Based on Kaźmierski, 1998 and Silva *et al.*, 2016).

- 1 Ornamentation type *Paralorryia*; dorsal idiosomal setae very long and distinctly serrated.....*M. incarum* Kaźmierski
- Ornamentation type *Tydeus*; dorsal idiosomal setae short and distinctly serrated.....2
- 2 Setae *bo* plumose; palp tarsus eupathidium  $\rho\zeta$  rod-like; prodorsum not reticulated.....*M. macrosolenus* André
- Setae *bo* serrated; palp tarsus eupathidium  $\rho\zeta$  semilunar distally; prodorsum reticulated.....*M. bipunctata* sp. nov. Da-Costa *et al.*

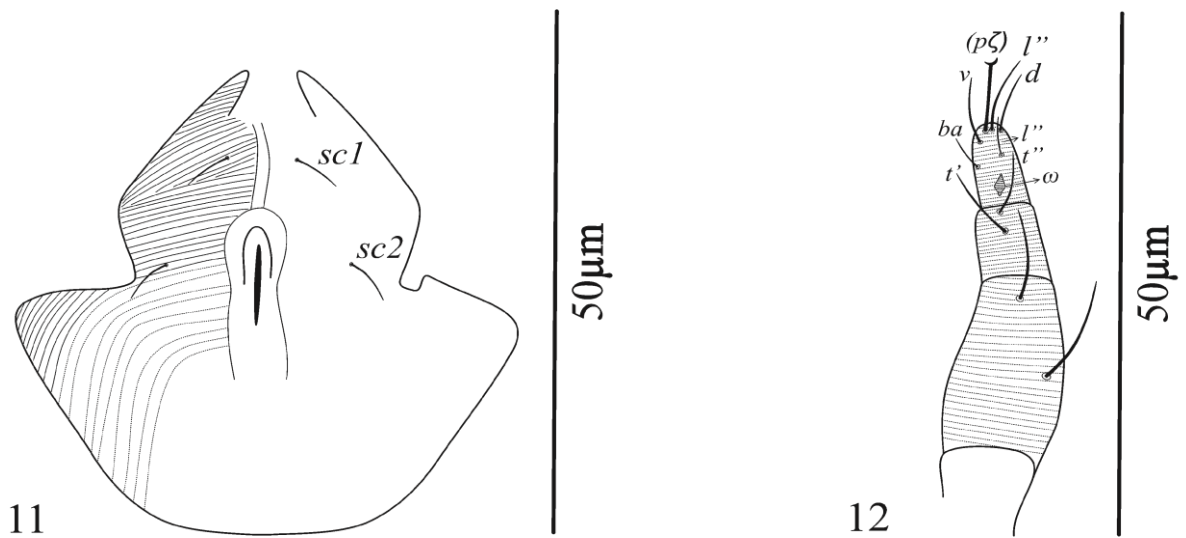
### **Acknowledgements**

The authors are grateful to Jose Irving Monjarás-Barrera for his suggestions during our study. Thanks is given to the Universidade do Vale do Taquari—Univates for the scholarship awarded to LFR and for providing all the necessary material during the study. The authors are grateful to the Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the research productivity scholarship given to BB and NJF. This study was partly financed by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES)—Finance Code 001.

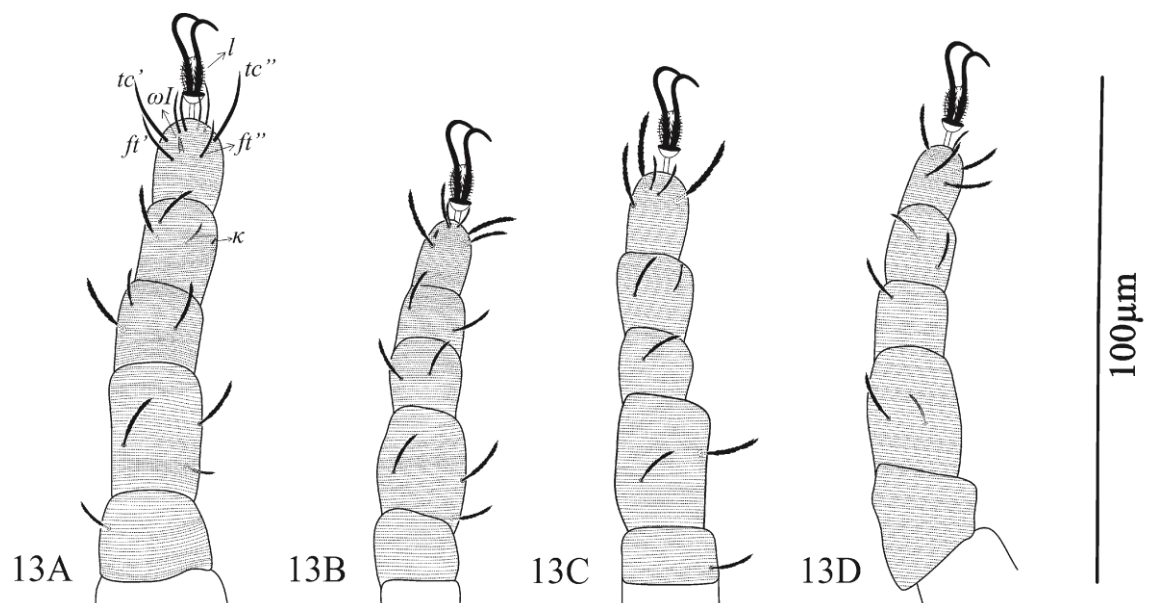




**FIGURE 10.** *Melissotydeus bipunctata* n. sp., female (holotype), in ventral view.



**FIGURES 11–12. FIGURE 11.** *Melissotydeus bipunctata* n. sp., female (holotype), gnathosoma in ventral view. **FIGURE 12.** *Melissotydeus bipunctata* n. sp., female (holotype), palptarsus.



**FIGURE 13.** *Melissotydeus bipunctata* n. sp., female (holotype), (A) leg I. (B) leg II. (C) leg III. (D) leg IV.

## References

- André, H.M. & Naudó, M.H. (1965) *Pretydeus schusteri*, n. sgen., n. sp., nouveau *Tydeus* a griffe pulvillaire (Tydeidae). *Acarologia*, 7, 673–682.
- André, H.M. (1981) A generic revision of the family Tydeidae (Acari: Prostigmata). III. Organotaxy of the legs. *Acarologia*, 22, 165–178.

- André, H.M. (1985) Acari domum meliponinarum brasiliensium habitantes. 10. *Melissotydeus macrosolenus* gen. n., sp. n. (Acari: Tydeidae). *Bulletin & Annales de la Societe Royale Belge d'Entomologie*, 21, 243–246.
- André, H.M. & Fain, A. (2000) Phylogeny, ontogeny and adaptive radiation in the superfamily Tydeoidea (Acari: Actinedida), with a reappraisal of morphological characters. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 130, 405–448. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2000.tb01636.x>
- Baker, E.W. (1968a) The genus *Lorryia*. *Annals of the Entomological Society of America*, 61, 986–1008. <https://doi.org/10.1093/aesa/61.4.986>
- Baker, E.W. (1968b) The genus *Paralorryia*. *Annals of the Entomological Society of America*, 61, 1097–1106. <https://doi.org/10.1093/aesa/61.5.1097>
- Baker, E.W. (1970) The genus *Tydeus*: subgenera and species groups with descriptions of new species (Acarina: Tydeidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 63, 163–177. <https://doi.org/10.1093/aesa/63.1.163>
- Cooreman, J. (1958) Notes et observations sur les acariens. VII. *Photia gracca* n. sp. (Acaridiae, Canestriniidae) et *Lorryia formosa* n. sp. (Stomatostigmata, Tydeidae). *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique Entomologie*, 34, 1–10.
- English-Loeb, G., Norton, A.P., Gadoury, D.M., Seem, R.C. & Wilcox, W.F. (1999) Control of powdery mildew in wild and cultivated grapes by a tydeid mite. *Biological Control*, 14, 97–103. <http://doi.org/10.1006/bcon.1998.0681>
- Gerson, U., Smiley, R.L. & Ochoa, R. (2003) *Mites (Acari) for pest control*. Blackwell Science, Oxford, 556 pp.
- Kaźmierski, A. (1989) Morphological studies on Tydeidae (Actinedida; Acari). I. Remarks about the segmentation, chaetotaxy and poroidotaxy of idiosoma. *Acta Zoologica Cracoviensia*, 32, 69–83.
- Kaźmierski, A. (1996) A revision of the subfamilies Pretydeinae and Tydeinae (Acari, Actinedida: Tydeidae). Part III. Seven new genera and some new species of the Tydeinae, with a generic key. *Mitteilungen Hamburgisches Zoologisches Museum und Institut*, 93, 199–227.
- Kaźmierski, A. (1998) Tydeinae of the world: generic relationships, new and redescribed taxa and keys to all species. A revision of the subfamilies Pretydeinae and Tydeinae (Acari: Actinedida: Tydeidae)—part IV. *Acta zoologica cracoviensia*, 41, 283–455.
- Kaźmierski, A., Marciniak, M. & Sikora, B. (2018) Tydeinae mites (Acariformes: Prostigmata: Tydeidae) from bird nests with description of three new species. *Systematic and Applied Acarology*, 23, 803–823. <https://doi.org/10.11158/saa.23.5>
- Livshitz, I.Z., Kuznetzov, N.N. & Zapletina, V.P. (1972) New species of the family Tydeidae (Acariformes) from Crimea and Azerbaijan. *Zoologicheskii Zhurnal*, 51, 1578–1580.

- Mondin, A.S., Nuvoloni, F.M. & Feres, R.J.F. (2016) Four new species of *Lorryia* (Acari: Tydeidae) associated with *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. (Euphorbiaceae) in Brazil. *Zootaxa*, 4158 (4), 473–490. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4158.4.2>
- Oudemans, A.C. (1925) Acarologische Aanteekeningen LXXIX. *Entomologische Berichten*, 7, 26–34.
- Oudemans, A.C. (1928) Acarologische Aanteekeningen XCIV. *Entomologische Berichten*, 7, 374–382.
- Silva, G.L., Rocha, M.S., Reichert, M.B. & Ferla, N.J. (2013) A new species of the genus *Brachytydeus* Thor, 1931 sensu André, 2005 (Acari: Tydeidae) from Rio Grande do Sul State, Brazil, with a key to the species in the Americas. *International Journal of Acarology*, 39, 620–624. <https://doi.org/10.1080/01647954.2013.861510>
- Silva, G.L., Cunha, U.S. & Ferla, N.J. (2014) Life cycle of *Tydeus californicus* (Acari: Tydeidae) on leaves of *Inga marginata* with and without pollen of *Typha angustifolia* under laboratory conditions. *International Journal of Acarology*, 40, 509–512. <http://doi.org/10.1080/01647954.2014.953999>
- Silva, G.L., Metzelthin, M.H., Silva, O.S. & Ferla, N.J. (2016a) Catalogue of the mite family Tydeidae (Acari: Prostigmata) with the world key to the species. *Zootaxa*, 4135 (1), 1–068. <http://doi.org/10.11646/zootaxa.4135.1.1>
- Silva, G.L., Radaelli, T.F.S., Metzelthin, M.H., Ferla, J.J. & Ferla, N.J. (2016b) Two new species of Tydeidae (Acari: Prostigmata) records of species of this family and Triophtydeidae from Brazil. *Zoologia*, 33, e20150130. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-4689zool-20150130>
- Walter, D.E., Lindquist, E.E., Smith, I.M., Cook, D.R. & Krantz, G.W. (2009) Order Trombidiformes. In: Krantz, G.W. & Walter, D.E., (Eds.), *A Manual of Acarology*. 3rd Ed. Vol. 13. Texas Tech University Press, Lubbock, TX, pp. 233–420.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este é o primeiro estudo de levantamento de ácaros em abelhas sem ferrão no Brasil, demonstrando uma grande diversidade associada a estes polinizadores. Este estudo demonstrou que a comunidade acarina é distinta nas espécies de abelhas analisadas. Ao total foi encontrado 14 gêneros e 18 espécies/morfoespécies de ácaros associados as abelhas sem ferrão, sendo reconhecidas três novas espécies de Iolinidae (*Proctotydaeus (Neotydeolus)* sp. nova, *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nova 1 e *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nova 2) e duas novas espécies de Tydeidae (*Lorryia meliponarum* Da-Costa et. al e *Melissotydeus bipunctata* Da-Costa et. al).

Este trabalho demonstra que as abelhas sem ferrão abrigam uma grande diversidade de ácaros, demonstrando serem importantes para a manutenção da colônia, desempenhando funções ecológicas nos ninhos. A partir disto salienta-se a importância de novos estudos sobre as interações entre estes organismos, para melhor entender o papel que estes ácaros desempenham nas colônias e a sua importância para estes polinizadores. Destaca-se aqui a importância de novos estudos sobre *H. alfabetica*, pois foi a espécie mais abundante e encontrada somente em associação com *M. quadrifasciata*. Não há muitas informações sobre os hábitos alimentares desta espécie, desta forma, trabalhos de biologia e comportamento são fundamentais para entender melhor como estas duas espécies se relacionam.

Os Iolinidae também merecem atenção, visto que a maioria dos organismos foram encontrados sobre os favos de cria, destaca-se também que *Proctotydaeus (Oriolella)* sp. nova 2 foi encontrado dentro de células de cria, associado a pupas de *M. quadrifasciata*. Desta forma, é importante compreender o que estes organismos estão realizando e se as associações são obrigatórias.



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
Pró-Reitoria de Graduação  
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar  
Porto Alegre - RS - Brasil  
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564  
E-mail: [prograd@pucrs.br](mailto:prograd@pucrs.br)  
Site: [www.pucrs.br](http://www.pucrs.br)