



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

MÁRCIO ROMERO MARQUES CARVALHO

Seleção de planta hospedeira, performance larval e
descrição de estágios imaturos na borboleta *Mechanitis*
polymnia (Haensch, 1905) (Nymphalidae, Danainae)

CAMPINAS

2019

MÁRCIO ROMERO MARQUES CARVALHO

Seleção de planta hospedeira, performance larval e descrição de estágios imaturos na borboleta *Mechanitis polymnia* (Haensch, 1905) (Nymphalidae, Danainae)

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do Título de Doutor em Ecologia.

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO MÁRCIO ROMERO MARQUES CARVALHO E ORIENTADA PELO DR. ANDRÉ VICTOR LUCCI FREITAS.

Orientador: ANDRÉ VICTOR LUCCI FREITAS

Coorientador: JOÃO VASCONCELLOS NETO

CAMPINAS

2019

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CAPES

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

C253s Carvalho, Márcio Romero Marques, 1984-
Seleção de planta hospedeira, performance larval e descrição de estágios imaturos na borboleta *Mechanitis polymnia casabranca* (Haensch, 1905) (Nymphalidae, Danainae) / Márcio Romero Marques Carvalho. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: André Victor Lucci Freitas.
Coorientador: João Vasconcellos Neto.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Herbivoria. 2. Borboleta – Classificação. 3. Animais – Comportamento. 4. Entomologia. 5. Relação inseto-planta. I. Freitas, André Victor Lucci, 1971-. II. Vasconcellos-Neto, João, 1952-. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Host plant selection, larval performance and description of immature stages of the butterfly *Mechanitis polymnia casabranca* (Haensch, 1905) (Nymphalidae, Danainae)

Palavras-chave em inglês:

Herbivory
Butterflies – Classification
Animal behavior
Entomology
Insect-plant relationships

Área de concentração: Ecologia

Titulação: Doutor em Ecologia

Banca examinadora:

André Victor Lucci Freitas [Orientador]
Danilo Bandini Ribeiro
Ronaldo Bastos Francini
Renato Rogner Ramos
Eduardo de Proença Barbosa

Data de defesa: 29-11-2018

Programa de Pós-Graduação: Ecologia

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. André Victor Lucci Freitas

Prof. Dr. Ronaldo Bastos Francini

Prof. Dr. Danilo Bandini Ribeiro

Dr. Renato Rogner Ramos

Dr. Eduardo de Proença Barbosa

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

Dedico aos meus pais e esposa.

Por me darem todo o suporte que preciso.

Por me encorajarem a seguir em frente.

*Por terem sempre uma palavra e um gesto de conforto
quando algo não sai como esperado.*

Por serem exatamente como são.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Manoel da Conceição Carvalho e Rosângela Marques Carvalho, pela confiança e apoio incondicional durante todos esses anos de estudos.

À minha esposa, Rosinete Lima Setúbal, por ser meu porto seguro em todos os momentos.

Aos meus tios José G. Ferreira e Maria T. C. Ferreira, terem me recebido nos primeiros anos em Campinas.

Aos professores Prof. André Lucci Victor Freitas, Prof. João Vasconcellos Neto, e pela orientação e colaboração durante o doutorado.

Aos professores Prof. Woodruff Whitman Benson e Prof^a Eleonore Setz, pelas contribuições à tese e por sempre estarem dispostos a ajudarem quando eu preciso.

Aos membros da pré-banca que deram sugestões valiosas Leila Shirai, Sebastian Sendoya e Prof. Wesley Rodrigues.

Ao Prof. Dr. José Roberto Trigo (*in memoriam*) por colaborar com informações sobre a espécie e por permitir que eu utilizasse a sua estufa para fazer uns experimentos testes.

À Fundação Serra do Japi e Fundação José Pedro de Oliveira em especial à Ronaldo Pereira e Cynira Any, por terem me recebido bem e pelo suporte em campo.

Aos amigos do Labbor, Jessie Pereira, Patrícia Machado, Eduardo Barbosa, Danilo Bandini, Tamara Moreira, Patrícia Gueratto, Noemy Seraphim, Mario Alejandro, Julia Leme, Luiza Magaldi, Luísa Mota, Lucas Kaminski, Renato Rogner, Simeão Moraes, Junia Yasmin, André Rangel, Ana Kristina, Cristiano Isehard e Giselle Martins pela amizade, troca de informações e momentos de lazer.

Aos amigos de laboratório, Yuri Messas, Hebert Souza, Suzana Diniz, Adriana Salomão, Danielle Maia, Thiago Marinho, Gabriela Gomes, German Villanueva, Jober Sobczak pela troca de informações e pelo convívio.

Aos amigos do futebol Carlos Henrique, Javier Ibarra, Gustavo Migliorini, Alexandre Neutzling, Pablo Augusto, Tiago Bernabé, Thiago Gonçalves, pelos momentos de lazer.

À diversas pessoas de outros laboratórios e do departamento de biologia animal que de algum modo contribuíram para que tempo do doutorado fosse mais agradável, Vanessa Villanova, André Tacioli, Ellen Peres, Paula Omena, Adriano Mendonça, Sandra Benavides, Micael Nagai, Rafael Flora, Caio Migueli, Mariane Ronque, Luis Salles, Fátima, Thadeu Sobral, Jessica Trujillo, Hélio Soares.

À família Pollyanna Santos, Selk Santos, Osmar Sousa, Jovita Sousa, por todos os anos de amizade e momentos de lazer.

À todos que contribuíram de alguma forma para que esse trabalho pudesse ter sido concluído, meus sinceros agradecimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 1090706

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 1090706

Resumo

A tribo Ithomiini possui cerca de 390 espécies de borboletas que ocorrem principalmente em florestas úmidas na região Neotropical, desde o nível do mar até cerca de 3000 m de altitude. Esta tribo têm sido alvo de muitos estudos, dando origem a importantes teorias, como as da coevolução inseto-planta e do mimetismo. A facilidade de observação, de coleta, de criação e de abundância torna esses insetos bons modelos para estudos ecológicos. Nesta tese, visamos compreender os aspectos morfológicos e de desenvolvimento dos estágios imaturos de *Mechanitis polymnia casabranca*, adicionalmente, investigamos os aspectos comportamentais dos adultos, visando compreender as decisões das fêmeas no momento da oviposição e as consequências para a prole. Realizamos os estudos na Reserva Biológica da Serra do Japi, em Jundiá-SP e na Reserva Municipal de Santa Genebra, em Campinas – SP. No capítulo um descrevemos os estágios imaturos (ovos, larvas e pupa) e a quetotaxia, utilizando imagens de microscopia eletrônica de varredura. Demonstramos que os ovos são brancos, elipsoidais, e apresentam uma pequena depressão no ápice. As larvas são gregárias, o tempo de desenvolvimento varia entre 20 e 23 dias. As larvas são brancas, mas mudam para coloração amarelo azulado quando estão próximas a empupar. As pupas são amarelas e refletivas. A principal característica que diferencia as larvas de *M. polymnia* de outras espécies de *Mechanitis* é a coloração castanho claro da cápsula cefálica a partir do segundo ínstar. No capítulo dois, testamos o uso de plantas hospedeiras por fêmeas, e como isso se relaciona com o desempenho larval. Avaliamos o uso de plantas hospedeiras por meio de observações em campo e de experimentos de oviposição utilizando as três espécies de plantas hospedeiras mais abundantes na região estudada: *Solanum mauritianum*, *Solanum robustum*, *Solanum scuticum*. As fêmeas ovipositaram em maior frequência nas plantas *S. robustum* e *S. scuticum* e menos frequentemente em *S. mauritianum*, apesar da maior abundância desta espécie em campo. O desempenho larval correlacionou-se positivamente com a preferência das fêmeas. As larvas sobreviveram mais quando alimentadas com folhas das plantas preferidas pelas fêmeas. Esse resultado demonstra que as fêmeas otimizam o desenvolvimento larval ao ovipositarem espécies de plantas de boa qualidade. No capítulo 3, avaliamos se as fêmeas ajustam o tamanho da oviposição em relação ao porte da planta hospedeira, e se elas são capazes de reconhecer uma oviposição prévia. Adicionalmente, analisamos se larvas criadas em diferentes densidades apresentam diferenças em termos de desempenho. Observamos que as fêmeas colocam ovos em número proporcional ao porte da planta hospedeira e evitam plantas hospedeiras com oviposições prévias. Larvas criadas solitárias duraram mais tempo para empuparem, e as fêmeas

atingiram menor comprimento alar quando comparado a larvas criadas em grupos de dez indivíduos. De um modo geral, concluímos que as fêmeas de *M. polymnia* aumentam sua aptidão por meio da avaliação da qualidade de plantas hospedeiras antes de ovipositarem e ajustam o número de ovos de acordo com o porte da planta hospedeira.

Abstract

The tribe Ithomiini consists of about 390 species of butterflies, which occur mainly in humid forests of Neotropical region, from sea level up to c. 3000 m. This tribe have been subject to many studies, giving origin to important theories, such as insect-plant coevolution and mimicry. Their easy of observation, collection, and breeding, and their abundance, make ithomiines good models for ecological studies. In this thesis, we aimed to understand the morphological and developmental aspects of the immature stages of *Mechanitis polymnia casabranca*, additionally, we investigated the behavioral aspects of adults, aiming to understand the choices of females at the moment of oviposition and their consequences for the offspring. We did the studies in Serra do Japi Biological Reserve, Jundiai – SP and Santa Genebra Municipal Reserve, Campinas – SP. Chapter one describes the immature stages (eggs, larvae, pupa) and chaetotaxis, by using scanning electron microscopy images. Eggs are white, ellipsoidal, and have a small depression at their apex. The larvae are gregarious, the development time varies from 20 to 23 days. The larvae are white, but change to a bluish-yellow coloration when approaching pupation. The pupae are yellow and metallic. The main characteristic that differentiates the larvae of *M. polymnia* from other species of *Mechanitis* is the light brown coloration of the cephalic capsule beginning with the second instar. Chapter two aims at understanding the use of host plants by females and the correlation to larval performance. We have assessed the use of host plants through field observations and oviposition experiments using the three most abundant species of host plants in the studied region: *Solanum mauritianum*, *Solanum robustum*, *Solanum scuticum*. Females oviposited in more frequency on *S. robustum* and *S. scuticum* plants and less frequently *S. mauritianum*, despite the greater abundance of the lattes species in field. Larval performance correlated positively with female preference. The larvae survived better when fed with leaves of the plants species preferred by females. This result demonstrates that females maximize larval development by laying eggs on plant species of good quality. Chapter 3, examines female adjustment of clutch size in accordance with of host plant size and whether females recognize a previous oviposition. The study additionally examines whether larvae raised in groups of different size varied in performance. We found that females lay eggs in numbers proportional to host plant size and avoid host plants with previous oviposition. Solitary grown larvae take longer pupate, and females had shorter wing length when compared to larvae grown in groups of ten individuals. In conclusion, we have identified that females of *M. polymnia* increase their fitness by evaluating host plant quality before ovipositing and by adjusting the number of eggs to host plant size.

SUMÁRIO

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resumo | |
| Abstract | |
| Introdução Geral | 13 |
| Capítulo 1- Descrição dos estágios imaturos de <i>Mechanitis polymnia casabranca</i> (Nymphalidae, Danainae) | 16 |
| Resumo | 16 |
| Abstract | 16 |
| Introdução | 17 |
| Material e Métodos | 17 |
| Área de Estudo | 17 |
| Criação de Larvas | 18 |
| Resultados | 20 |
| Aspectos gerais | 20 |
| Ovos | 20 |
| Larva | 21 |
| Primeiro ínstar | 21 |
| Quetotaxia da cápsula cefálica | 21 |
| Quetotaxia do tórax | 22 |
| Quetotaxia do abdômen | 22 |
| Segundo ínstar | 23 |
| Terceiro ínstar | 23 |
| Quarto ínstar | 24 |
| Quinto ínstar | 24 |
| Pré-Pupa e Pupa | 24 |
| Adultos | 24 |
| Discussão | 29 |
| Capítulo 2 - Testando a hipótese da preferência-performance: As fêmeas de <i>M. polymnia</i> sabem o que é melhor para seus filhos? | 32 |
| Resumo | 32 |
| Abstract | 33 |
| Introdução | 34 |
| Material e Métodos | 36 |
| Área de estudo | 36 |
| Uso de plantas hospedeiras por fêmeas | 36 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Desempenho Larval..... | 38 |
| Análise dos dados..... | 39 |
| Resultados..... | 40 |
| Observações em campo e Experimento de oviposição | 40 |
| Desempenho larval..... | 43 |
| Discussão | 63 |
| Capítulo 3 - Ajuste de tamanho de oviposição, reconhecimento de oviposição prévia e efeito de densidade larval em <i>Mechanitis polymnia</i> (Nymphalidae, Danainae) | 68 |
| Resumo | 68 |
| Abstract..... | 69 |
| Introdução | 69 |
| Material e Métodos..... | 72 |
| Área de Estudo..... | 72 |
| Reconhecimento de oviposição..... | 72 |
| Ajuste na quantidade de ovos | 73 |
| Performance larval em diferentes densidades..... | 74 |
| Análise de dados | 74 |
| Resultados..... | 75 |
| Reconhecimento de oviposição..... | 75 |
| Ajuste na quantidade de ovos | 75 |
| Performance larval | 77 |
| Discussão | 84 |
| Considerações Finais | 87 |
| Referências..... | 88 |
| Apêndices | 103 |
| Apêndice I..... | 104 |
| Apêndice II | 105 |

Introdução Geral

Muitas espécies de insetos herbívoros iniciam suas vidas na forma de ovo. Ovos são custosos, produzidos em quantidade limitada, e assim como as larvas que eclodem a partir deles, são sensíveis às condições adversas do ambiente, como variações de temperatura e umidade, presença de predadores e parasitoides (Hilker & Meiners 2002). A aptidão das fêmeas de insetos herbívoros é diretamente afetada pelo local onde colocam seus ovos e pelo número de ovos postos juntos, pois é importante que eclodam e as larvas se desenvolvam em segurança até o estágio adulto (Thompson & Pellmyr, 1991). Os custos de escolhas erradas podem ser altos para as fêmeas, uma vez que podem comprometer a qualidade e sobrevivência da prole e todo ou grande parte do sucesso reprodutivo (Andersson, 1994).

Encontrar e ovipositar em uma planta hospedeira pode ser um desafio para uma fêmea de inseto herbívoro em face à abundância de espécies de plantas inadequadas que ocorrem no ambiente (Thompson & Pellmyr, 1991; Karban & Agrawal, 2002). As fêmeas são capazes de discriminar plantas hospedeiras e não hospedeiras com base em uma combinação de sinais visuais e olfativos (Bernays & Chapman 1994). Quando encontram uma planta hospedeira, as fêmeas de muitas espécies de insetos herbívoros inspecionam-na antes de colocar seus ovos. Muitos herbívoros são capazes de distinguir diversos fatores antes de ovipositarem, como por exemplo, diferentes espécies de plantas hospedeiras (Wiklund, 1981; Rausher & Papaj, 1983; Stanton & Cook, 1983; Thompson, 1988a; Thompson, 1988b; Friberg & Wiklund, 2009; Shikano *et al.*, 2010; Midega *et al.*, 2011, Ramos *et al.*, 2012), plantas hospedeiras com diferentes genótipos (Arvanitis *et al.* 2007; Arvanitis *et al.* 2008; Zytynska & Preziosi, 2011; Zytynska & Preziosi, 2013; Münzbergová *et al.* 2015), plantas hospedeiras de diferentes idades e condições fisiológicas (Navasero & Ramaswamy, 1993; Chen *et al.*, 2004; Prudic *et al.*, 2005), diferentes partes de plantas hospedeiras (Benson, 1978; Rodrigues & Moreira, 1999; Cornelissen *et al.*, 2008; Potter *et al.*, 2012), plantas hospedeiras ocupadas com ovos coespecíficos (Navasero & Ramaswamy, 1993; Vasconcelos-Neto & Monteiro, 1993), plantas hospedeiras onde há presença de espécies predadoras ou mutualistas (Sendoya *et al.* 2009; Kaminski, *et al.* 2010). O comportamento de inspeção, e posteriormente aceitação ou rejeição, revela a existência de preferências, em que plantas com determinadas características possuem maiores chances de receber ovos.

Seria esperado que as plantas hospedeiras preferidas pelas fêmeas fossem as que possibilitassem melhor performance larval em termos de sobrevivência, tempo de

desenvolvimento e/ou ganho de peso, isso é conhecido como hipótese da preferência-performance (Jaenike, 1978). Muitos trabalhos corroboram essa hipótese (Howlett *et al.* 2001; De Bruyn *et al.*, 2002; Craig & Ohgushi, 2002; Forister, 2004) no entanto outros não encontram qualquer relação (Faria & Ferdandes, 2001; van Nouhuys *et al.*, 2003; Shiojiri & Takabayashi, 2003; Heisswolf *et al.*, 2005; Ladner & Altizer, 2005; Cornelissen *et al.*, 2008). Alguns fatores podem interferir na relação preferência-performance. Em alguns fitófagos, por exemplo, as fêmeas preferem ovipositar em plantas hospedeiras com menor qualidade nutricional, mas que fornecem um espaço livre de inimigos, assegurando maiores chances de sobrevivência das larvas (Ballabeni *et al.*, 2001; Obermaier *et al.*, 2001; Singer & Stireman, 2003; Heisswolf *et al.*, 2005, Rodrigues *et al.* 2010). Adicionalmente, fatores como, limitada capacidade cognitiva (Levins & MacArthur, 1969, Grippenberget al.; 2010), pouco tempo disponível para oviposição (devido idade avançada ou grande quantidade de ovos) (Odendaal, 1989), escassez de boas plantas hospedeiras (Williams, 1983), e experiência prévia, podem levar às fêmeas ovipositarem em plantas hospedeiras de baixa qualidade (Prokopy *et al.*, 1982; Prokopy *et al.*, 1986).

Após a escolha do local de oviposição, as fêmeas podem ajustar o tamanho da oviposição sobre a planta hospedeira (Vasconcellos-Neto & Monteiro, 1993; Awmack & Leather, 2002; Fordyce, 2005; Hufnagel *et al.* 2017). Isto pode estar relacionado com a capacidade das fêmeas em avaliar a quantidade de larvas que a planta hospedeira consegue suportar sem que falte alimento (Kagata & Ohgushi, 2002). Deste modo, há a redução da competição intraespecífica por alimento e por consequência redução nos riscos de morte por inanição, canibalismo, e predação, caso as larvas dispersem em busca de alimento (Burger & Gochfeld, 2001; Barros-Bellanda & Zucoloto, 2002; Santana *et al.*, 2011; Santana *et al.*, 2016; Santana *et al.*, 2017). O tamanho da oviposição as vezes pode estar relacionado ao risco de dessecação e parasitismo dos ovos. Estudos com algumas espécies demonstram que quanto maior o número de ovos, menor a porcentagem que estragam devido aos efeitos de dessecação e, também, menor a porcentagem de ovos atacados por parasitoides, pois os ovos que estão na periferia protegem os ovos que estão no centro da oviposição (Stamp, 1980; Chew & Robbins, 1984; Clark & Faeth, 1998). A decisão de quantos ovos colocar em cada postura, e em cada planta hospedeira, pode resultar em consequências para a prole, uma vez que, larvas em diferentes densidades podem apresentar diferenças no desenvolvimento (Allen, 2010).

Além dos fatores ecológicos, as características dos imaturos (morfológicas, desenvolvimentais e comportamentais) podem ajudar na compreensão do comportamento de

oviposição das fêmeas e gerar importantes informações para a identificação das espécies, que também são utilizadas em estudos de filogenia (Kitching, 1985).

Nesta tese buscamos descrever os estágios imaturos e compreender as escolhas que as fêmeas da borboleta *Mechanitis polymnia casabranca* (Nymphalidae, Danaeinae) fazem no momento da oviposição e as consequências para a prole. *Mechanitis polymnia* ocorre na região neotropical, e em todo o território brasileiro (Brown, 1979). O pico reprodutivo ocorre durante o verão e início do outono, e as fêmeas colocam ovos agrupados (entre 10 e 60 ovos), na face adaxial das folhas, em diversas espécies de plantas da família Solanaceae (Beccaloni *et al.*, 2008). As larvas possuem camuflagem química, os lipídios cuticulares do corpo assemelham-se aos das folhas das plantas hospedeiras, o que protege as larvas contra predadores, como a formiga *Camponotus crassus* (Portugal & Trigo, 2005). Os adultos são aposemáticos e tornam-se impalatáveis pelo sequestro de alcaloides pirrolizidínicos obtidos na alimentação em plantas da família Asteraceae e Boraginaceae. As fêmeas podem obter alcaloides na alimentação e por meio de espermatóforos transferidos por machos durante a cópula (Brown, 1984, Brown, 1985, Trigo *et al.*, 1996).

O capítulo 1 apresenta uma descrição de ovos e larvas, essas informações são importantes para a identificação da espécie e são utilizadas em estudos de reconstrução filogenética. No capítulo 2 avaliamos a hipótese da preferência-performance, onde testamos se as fêmeas têm preferência em ovipositar em determinadas espécies de plantas hospedeiras, como isso se relaciona com a performance larval. No capítulo 3 avaliamos se as fêmeas ajustam o tamanho da oviposição de acordo com o porte da planta hospedeira e se larvas criadas em diferentes tamanhos de grupo apresentam diferenças em performance. Adicionalmente avaliamos se as fêmeas reconhecem e evitam plantas com ovos prévios.

Capítulo 1

Descrição dos estágios imaturos de *Mechanitis polymnia casabranca* (Nymphalidae, Danainae)

Resumo

Estágios imaturos da borboleta *Mechanitis polymnia* são descritos. Os ovos são brancos, elipsoidais e colocados agrupados sobre folhas maduras de plantas da família Solanaceae. No primeiro ínstar as larvas têm a cápsula cefálica preta e corpo branco translúcido, a partir do segundo ínstar a coloração da cápsula cefálica torna-se castanho claro e o corpo torna-se branco, mudando para amarelo no estágio de pré-pupa. As pupas são amarelas no início e tornam-se metálicas após o primeiro dia. Em geral a morfologia das larvas é muito similar a outras espécies de *Mechanitis*, no entanto as larvas de *M. polymnia* se distinguem pela cápsula cefálica castanho claro a partir do segundo ínstar.

Palavras-Chave: ciclo de vida, estágios iniciais, Ithomiini, oviposição, Solanaceae.

Abstract

Immature stages of the butterfly *Mechanitis polymnia* are described. The eggs are white, ellipsoidal and laid in clusters on mature leaves of Solonaceous host plants family. In the first instar, the head capsule is black and the body is translucent white. In the second instar the cephalic capsule changes to light brown and body changes to whitish, turning yellowish in pre-pupal stage. Early pupa is shiny metallic yellow, turning reflective after the first day. In general, the morphology of the larvae is very similar to other species of *Mechanitis*, however it is possible to differentiate the larvae of *M. polymnia* by light brown cephalic capsule beginning with the second instar.

Keywords: early stages, Ithomiini, life cycle, oviposition, Solanaceae.

Introdução

A tribo Ithomiini possui cerca de 390 espécies que ocorrem em florestas úmidas na região Neotropical em elevações de 0 a 3000 m, do México à Argentina. A tribo é definida pela presença de cerdas androconiais nos machos, localizadas na borda anterior da asa posterior (Willmott & Freitas, 2006; De-Silva *et al.* 2017). Muitas espécies são impalatáveis, aposemáticas, e modelos em anéis miméticos, devido ao sequestro de substâncias defensivas (alcaloides pirrolizidínicos), que os adultos obtêm de plantas das famílias Asteraceae e Boraginaceae (Brown 1984; Brown 1985; Trigo & Brown, 1990). Os alcaloides também servem como precursores de feromônios sexuais (Edgar *et al.* 1976; Pliske 1976; Schulz *et al.* 1988, 2004). Devido à diversidade, abundância e padrões miméticos esta tribo têm sido alvo de estudos ecológicos e evolutivos (Bates, 1862; Brown 1988; Beccaloni, 1997).

O gênero *Mechanitis* possui cinco espécies, divididas em 46 subespécies, e é classificado na subfamília Danainae, tribo Ithomiini (Wahlberg *et al.* 2009). A subespécie *Mechanitis polymnia casabranca* (Haensch, 1905) ocorre em grande parte do leste do Brasil (Brown 1979), suas larvas possuem camuflagem química contra predadores (Portugal & Trigo 2005), são oligófagas e alimentam-se de plantas da família Solanaceae (Beccaloni *et al.* 2008). Apesar de serem abundantes nas regiões onde ocorrem, faltam estudos que descrevam em detalhes características morfológicas e comportamentais dos estágios imaturos desta espécie. Este trabalho visa descrever caracteres de ovos, larvas e pupas de *M. polymnia casabranca*.

Material e Métodos

Área de Estudo

Obtivemos ovos em duas localidades no interior do Estado de São Paulo em novembro e dezembro de 2015. A primeira área foi uma floresta de Mata Atlântica situada na Serra do Japi (23°14'S, 46°56'W), Jundiáí-SP, com uma área de 35,400 ha, onde predomina vegetação mesófila semi-decídua bem preservada (Leitão-Filho 1992; Morellato 1992). A altitude da área estudada varia entre 800 m e 1100 m, e a altitude mínima e máxima em outras áreas da Serra é entre 700 m e 1300 m. A temperatura média anual varia de 15,7° C a 19,2° C, no inverno a temperatura média varia de 11,8° C a 15,3° C e no verão a temperatura média varia 18,4° C a 22,2° C. A estação chuvosa ocorre de setembro a março e a estação seca ocorre de abril a agosto.

A precipitação média anual é em torno de 1500 mm (Pinto, 1992). A segunda área foi a Reserva Municipal de Santa Genebra (22° 49'S, 47° 06'W), em Campinas-SP, que é um fragmento de 250 ha de vegetação de Mata Atlântica perturbada, cercada por residências e plantações. A altitude é de 600 m. A temperatura média anual é de 21,4° C, e a precipitação média anual é de 1372 mm (Pinto, 1992). O clima nas duas regiões é tropical de altitude (Cwa), com uma estação chuvosa (outubro a março) e uma estação seca (abril a setembro).

Criação de Larvas

Coletamos 10 oviposições encontradas sobre *Solanum robustum*, que resultaram em 144 larvas. Consideramos cada oviposição uma amostra independente. Criamos as larvas em laboratório, dentro de potes plásticos de 12L sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e luminosidade (12h luz, 12h escuro), alimentadas com folhas frescas oferecidas *ad libitum*. Preservamos os indivíduos de todos os ínstares em solução de Kahle, e as cápsulas cefálicas a seco.

Estudamos a morfologia externa das larvas com o auxílio de um estereoscópio Leica MZ7.5. Realizamos medidas da altura e diâmetro do ovo, tamanho da cápsula cefálica (distância entre os stemmatus mais externos, veja Freitas 1993). Medimos o comprimento da larva (distância da cabeça ao segmento A10) após cada muda como em Giraldo & Uribe (2010a).

Realizamos imagens de microscopia eletrônica de varredura com o auxílio de um microscópio JEOL JSM-5800 (JEOL Ltd., Japan). Preparamos as amostras utilizando um ponto crítico Bal-tec CPD030 e fixamos em uma fita dupla face sobre stubs de alumínio, um revestimento de ouro foi aplicado com um sputter coater (Leica Microsystems, Germany). A nomenclatura utilizada para descrição dos ovos seguiu Antunes (2002). A quetotaxia da cápsula cefálica (Tabela 1, modificado de Motta, 1998) e do corpo da larva seguiu Hinton (1946) (Tabela 2). Tradicionalmente, estudos que descrevem a quetotaxia referem-se às larvas de primeiro ínstar por possuírem apenas cerdas primárias, a partir do segundo ínstar surgem cerdas secundárias que variam em posição nos indivíduos. As cerdas presentes no segmento A10, na região do paraprocto e das propernas (não previstas em Hinton, 1946) são descritas seguindo Kitching (1984) (Tabela 2). Identificamos cerdas extras encontradas no segmento A10 com o prefixo EX, como sugerido em Stehr (1987).

Tabela 1. Nomenclatura para quetotaxia da cápsula cefálica de larvas de lepidóptera segundo Hinton (1946) (tabela modificada de Motta, 1998)

| REGIÃO | CERDAS | MICROCERDAS | POROS |
|------------------|---------------|--------------------|--------------|
| Clípeo | C1, C2 | | |
| Fronte | F1 | | Fa |
| Adfrontal | AF1, AF2 | | AFa |
| Anterior | A1, A2, A3 | | Aa |
| Posterior | P1, P2 | | Pa, Pb |
| Lateral | L1 | | La |
| Ocelar | O1, O2, O3 | | Oa, Ob |
| Subocelar | SO1, SO2, SO3 | | SOa-f |
| Genal | | G1, G2 | Ga |
| Vertical | | V1, V2, V3 | Va |

Tabela 2. Nomenclatura para quetotaxia do corpo de larvas de lepidóptera, segundo Hinton (1946), Kitching (1984) e Sther (1987).

| Denominação | Sigla |
|--------------------|--------------|
| Extra dorsais | XD1, XD2 |
| Dorsais | D1, D2 |
| Subdorsais | SD1, SD2 |
| Laterais | L1 e L2 |
| Subventrais | SV1, SV2 |
| Ventral | V1 |
| Paraproctal | PP1 |
| Subparaproctal | SP1 |
| Propernas | PL1-PL4 |
| Cerdas Extras | Prefixo EX |

Resultados

Aspectos gerais

Ao encontrarem uma planta hospedeira, as fêmeas inspecionam a parte superior e inferior das folhas, pairando e tocando várias vezes com as pernas e antenas. Posteriormente, iniciam a oviposição do lado adaxial do limbo foliar. Em uma oportunidade, observamos uma fêmea ovipositando sobre a planta hospedeira *S. robustum*. As fêmeas agrupam os ovos a uma distância de aproximadamente 1 mm um do outro sobre a planta hospedeira, ao finalizarem, abandonam os ovos, e voam. As larvas, após emergirem do ovo, alimentam-se do córion e deslocam-se para a face abaxial da folha. As larvas alimentam-se em grupos, começando com pequenos buracos no limbo foliar, posteriormente deslocam-se para a margem da folha. A partir do terceiro ínstar, cortam as nervuras central e lateral das folhas, provavelmente como um modo de deter o transporte de substâncias de defesa da planta. Quando não estão se alimentando, as larvas não descansam em posição de J, como fazem algumas espécies. Quando perturbadas balançam a cabeça de um lado para outro e regurgitam o alimento.

Ovos

Os ovos são postos na face adaxial das folhas, geralmente em grupos de 10 a 30. Após coletados, o tempo para eclosão das larvas foi de $4,5 \pm 0,83$ dias ($n=6$ oviposições). Os ovos são brancos, e mudam para cinza claro um dia antes da eclosão das larvas, se parasitados os ovos tornam-se cinza escuro. O formato é elipsoide, com o ápice afinado, e com uma depressão na região da micrópila. O ovo possui 13-15 carenas horizontais e 13-17 carenas verticais, formando células retangulares na base e no meio, e arredondadas próximo ao polo anterior. A altura do ovo é $1,120 \pm 0,12$ mm e o diâmetro é $0,66 \pm 0,05$ mm (média e desvio padrão, $n = 8$) (Figs. 1A e 2A, B e C).

Larva

Primeiro ínstar

A cápsula cefálica é preta e o corpo branco translúcido, coberto por micro cerdas e cerdas primárias do tipo calaza (Fig. 2I), sendo possível ver o alimento ingerido por transparência. A cápsula cefálica tem $1,07 \pm 0,07$ mm de comprimento (n=10) (Fig. 2F e G). As pernas são pretas, as propernas e placa anal sem manchas pretas (Fig. 2H). As propernas têm garras do tipo uniserial e uniordinal. A larva tem $2,52 \pm 0,20$ mm (n=10) de comprimento, com duração de $3,23 \pm 0,43$ dias (Figs. 1B, 2D e 2E).

Quetotaxia da cápsula cefálica

A cápsula cefálica possui de 21 cerdas e 12 poros (Fig 3). No grupo clipeal (C) as cerdas localizam-se lateralmente sobre o clipeo. A cerda C1 localiza-se ventrolateralmente à C2. No grupo frontal (F), a cerda F1 localiza-se na região lateral da frente. O Poro Fa localiza-se acima de F1 e mais ao centro da frente. No grupo Adfrontal (AF) a cerda AF2 localiza-se dorsal a AF1. O poro AFa localiza-se acima e próximo à AF1, próximo à linha ecdisial. No grupo Anterior (A), a cerda A1 localiza-se anterior à região entre os ocelos três e quatro, cerda A2 localiza-se dorsal à A1 e anterior ao ocelo dois, a cerda A3 localiza-se dorsal ao ocelo dois. O poro Aa, localiza-se anterior à cerda A2. No grupo Ocelar (O), a cerda O1 localiza-se ventral ao ocelo um, a cerda O2 localiza-se dorsolateral ao ocelo seis, a cerda O3 localiza-se ventrolateral à O2, na região posterior do epicrânio. O poro Oa localiza-se ventral à A1 e poro Ob posterior ao ocelo seis. No grupo Subocelar (SO), a cerda SO1 localiza-se ventral ao ocelo cinco, a cerda SO2 localiza-se ventral ao ocelo seis, e a cerda SO3 localiza-se ventral a SO2 e dorsal a SO1. O poro Soa localiza-se ventroposterior à SO3. No grupo Genal (G) a cerda G1 é menor e está localizada ventral à cerda O3. O poro Ga localiza-se dorsal e posterior à G1. No grupo lateral (L), a cerda L1 dorsal e posterior à A3. O poro La localiza-se na mesma linha, e posterior à L1. No grupo posterior (P), a cerda P2 localiza-se dorsal à P1 e mais próxima à sutura do epicrânio. A cerda P1 localiza-se anterior à L1. O poro Pa localiza-se ventral à P1 e o poro Pb entre a P1 e P2. No grupo vertical (V), cerdas pequenas, localizadas todas na mesma linha de altura, na região dorsal e posterior na cabeça da larva. Ocorrem respectivamente na ordem V1, V2, V3 posteriores à P2. Poro Va entre V2 e V3.

Quetotaxia do tórax

O tórax possui 24 pares de cerdas (Fig. 4). No protórax (T1) estão localizadas dez pares: XD1 é a mais dorsal localizada na região anterior do seguimento, ventralmente, e na mesma direção, localiza-se a cerda XD2. A cerda D1 localiza-se posterior e entre XD1 e XD2. A cerda SD2 localiza-se próxima à borda que separa os segmentos, a cerda SD1 localiza-se próxima ao espiráculo e ventralmente à SD2. A cerda L1 localiza-se na região anterior do segmento, a cerda L2 ocorre próxima e a esquerda do espiráculo. A cerda SV2 localiza-se dorsal à coxa, a cerda SV1 à direita de SV2. A cerda V1 localiza-se ventral e posterior à coxa. No Meso (T2) e Metatórax (T3) localizam-se sete pares de cerdas. A cerda D1 localiza-se centralizada e dorsal a D2. A cerda SD2 localiza-se dorsal e em linha reta à SD1. A cerda L1 localiza-se dorsal à coxa. A cerda SV1 localiza-se dorsolateralmente à coxa. A cerda V1 localiza-se ventrolateralmente à coxa, próxima à borda do segmento.

Quetotaxia do abdômen

No abdômen localizam-se 34 pares de cerdas. Segmento A1: Possui oito pares de cerdas. D1 localiza-se na região anterior do segmento, dorsal à D2 que localiza-se mais ao centro. A cerda SD2 localiza-se próxima à borda posterior do segmento, a cerda SD1 localiza-se mais centralizada, ventralmente à SD2. A cerda L1 localiza-se posterior ao espiráculo, a cerda L2 localiza-se ventral ao espiráculo. A cerda SV1 localiza-se próxima a borda anterior do segmento. A cerda V1 localiza-se na região posterior do segmento. Segmento A2: Possui 9 pares de cerdas. A cerda D1 localiza-se centralizada no segmento, a cerda D2 localiza-se ventral e na mesma direção de D1. A cerda SD2 localiza-se na região posterior do segmento, e dorsal à SD1, que localiza-se acima do espiráculo. A cerda L1 localiza-se ventralmente ao espiráculo, a cerda L2 localiza-se ventralmente e na mesma direção a L1. A cerda SV2 localiza-se dorsal à SV1 que localiza-se na mesma direção. A cerda V1 localiza-se centralizada e próximo à borda inferior do segmento. Segmentos A3/A6: Possui oito pares de cerdas. A cerda D1 localiza-se centralizada, dorsal e na mesma direção que a cerda D2. A cerda SD2 localiza-se dorsolateralmente à SD1 e na região posterior do segmento, a cerda SD1 localiza-se dorsal ao espiráculo. A cerda L1 localiza-se ventrolateralmente ao espiráculo, a cerda L2 localiza-se centralizada no segmento e ventral à L1. A cerda SV1 localiza-se dorsal a properna, a cerda SV2 localiza-se anterior à properna. Segmento A7/A8: Possui 8 pares de cerdas. A cerda D1, é

a mais dorsal e localiza-se na região central do segmento, ventralmente e na mesma direção localiza-se a cerda D2. A cerda SD2 localiza-se posterior e dorsolateralmente a cerda SD1, esta, localiza-se dorsal ao espiráculo. A cerda L1 localiza-se ventralmente ao espiráculo, a cerda L2 localiza-se ventralmente e na mesma direção à L1. A cerda SV1 localiza-se centralizada no segmento. A cerda V1 localiza-se ventralmente a SV1. Seguimento A9: Possui seis pares de cerdas. A cerda D1 localiza-se dorsal e na mesma direção à cerda D2, ambas centralizadas no seguimento. A cerda SD1 localiza-se anterior e ventral a D2. A cerda SV2 localiza-se dorsal à SV1, ambas centralizadas no segmento. A cerda V1 localiza-se ventralmente e na mesma direção que SV1. Seguimento A10: D1 e D2 localizam-se na placa anal, D1 dorsal e anterior, D2 ventral e posterior. A cerda L1 localiza-se ventral e na mesma direção à D1. A cerda SD1 localiza-se ventral e na mesma direção à D2. A cerda PP1 localiza-se dorsalmente e na mesma direção à cerda extra EXPP1. A cerda SP1 localiza-se ventralmente à EXP2. A cerda PL1 localiza-se na região posterior da properna, ventralmente e na mesma direção localiza-se a cerda PL2. A cerda PL3 localiza-se ventralmente e posterior à PL3, a cerda PL4 localiza-se dorsalmente e posterior à PL3. A cerda SV 1 localiza-se anterior à região das cerdas das propernas e na mesma direção que a cerda PL1. A cerda V1 localiza-se próximo e anterior à properna, a cerda extra EXV1 localiza-se dorsal à V1, a cerda extra EXV2 localiza-se anterior à EXV1 e a cerda extra EXV3 localiza-se ventralmente à EXV2.

Segundo ínstar

A coloração da cápsula cefálica torna-se marrom clara, e a coloração do corpo é similar ao primeiro ínstar. A região dos ocelos é preta. Surge um par de projeções laterais em cada segmento da larva, iniciando no A1 e finalizando no A8. O tamanho da cápsula cefálica é $1,65 \pm 0,059$ mm de largura (n=10). As pernas são pretas, as propernas e placa anal sem manchas pretas. O tamanho da larva é $5,12 \pm 0,96$ mm de comprimento (n=10). O tempo de desenvolvimento foi de $2,30 \pm 0,48$ dias (Fig. 1C).

Terceiro ínstar

As projeções laterais tornam-se amareladas na base, ao redor dos espiráculos. As pernas são pretas, as propernas e placa anal sem manchas pretas. O tamanho da cápsula é $2,43 \pm 0,11$

mm de largura (n=10). O tamanho da larva é $8,42\pm 1,59$ (n=10). O ínstar dura $2,23\pm 0,43$ dias (Fig. 1D).

Quarto ínstar

A coloração do corpo torna-se branco opaca. O tamanho da cápsula é $3,5\pm 0,13$ mm de largura (n=10). As pernas são pretas, as propernas e placa anal sem manchas pretas. O tamanho da larva é $12,97\pm 2,39$ mm (n=10). O tempo de desenvolvimento é de $2,07\pm 0,27$ dias (Fig. 1E).

Quinto ínstar

No início assemelham-se ao quarto ínstar, ao final do desenvolvimento a coloração do corpo torna-se azul e amarelo, posteriormente apenas amarelo um dia antes de se tornar pré-pupa. O tamanho da cápsula é $5,02\pm 0,36$ mm de largura. As pernas são pretas, há presença de manchas pretas nas propernas, placa anal sem manchas pretas. O tamanho da larva é $19,55\pm 2,98$ mm (n=10). O tempo de desenvolvimento é $4,46\pm 0,51$ dias (Fig. 1F, G, H).

Pré-Pupa e Pupa

As pré-pupas possuem coloração amarelo transparente, tem duração de um dia (n=10). As pupas são suspensas pelo cremaster, que é preto. No início as pupas têm coloração amarelo transparente, e posteriormente tornam-se prateadas metálicas. Um dia antes da emergência do adulto a coloração das asas fica visível. O comprimento da pupa é $16,29\pm 1,5$ mm (n=10). O tempo de desenvolvimento é de $7,46\pm 0,51$ dias (Fig. 1I).

Adultos

Após a emergência os adultos ficam pendurados de cabeça para baixo esticando e secando as asas. A razão sexual foi 1:1 (machos=68, fêmeas=71).

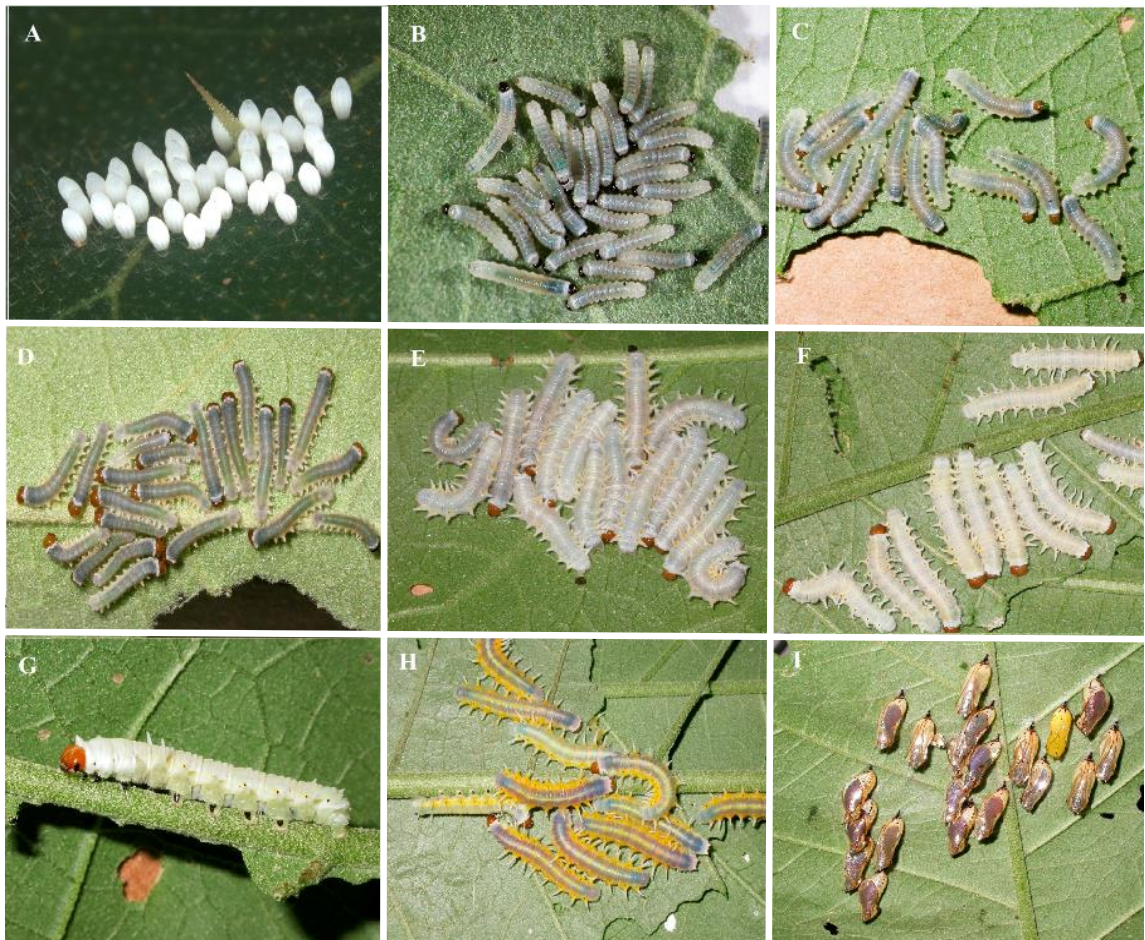


Figura 1. Ciclo de vida de *Mechanitis polymnia*. A) Ovos; B) primeiro instar, algumas larvas trocando a capsula cefálica; C) segundo ínstar; D) terceiro ínstar; E) quarto ínstar; F) quinto ínstar; G) quinto ínstar, detalhe das manchas pretas nas propernas; H) quinto ínstar após três dias, note a mudança de coloração; I) Pupas, uma amarelo claro com um dia e outras com dois dias ou mais.

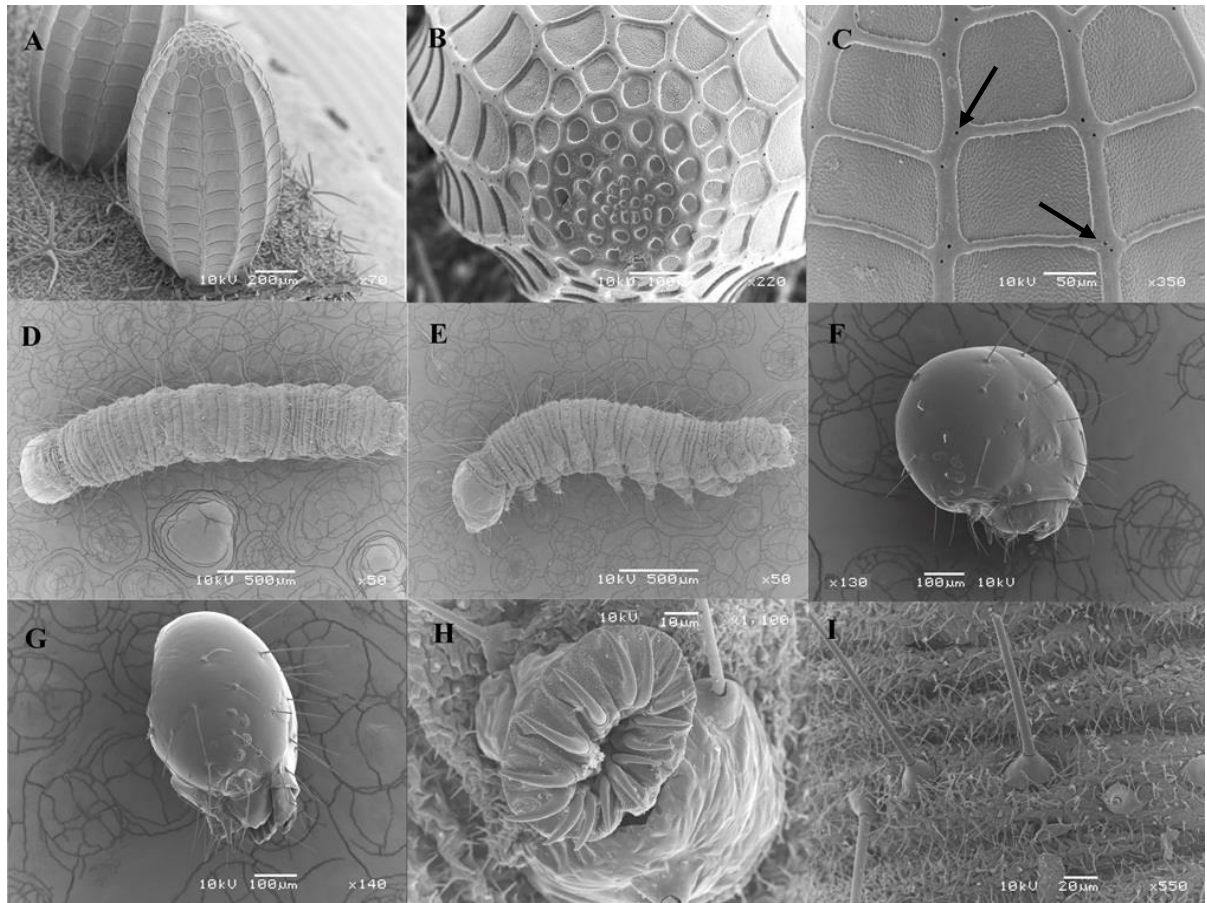


Figura 2. Imagens de microscopia eletrônica de estágios imaturos de *Mechanitis polymnia*. A) Ovo; B) região da micrópila; C) lateral do ovo, evidenciando as aeropilas; D) larva de primeiro ínstar em vista dorsal e E) lateral; F) cápsula de primeiro ínstar em vista frontal e G) lateral; H) properna (garras uniserial e uniordinal); I) Cerdas do tipo calaza.

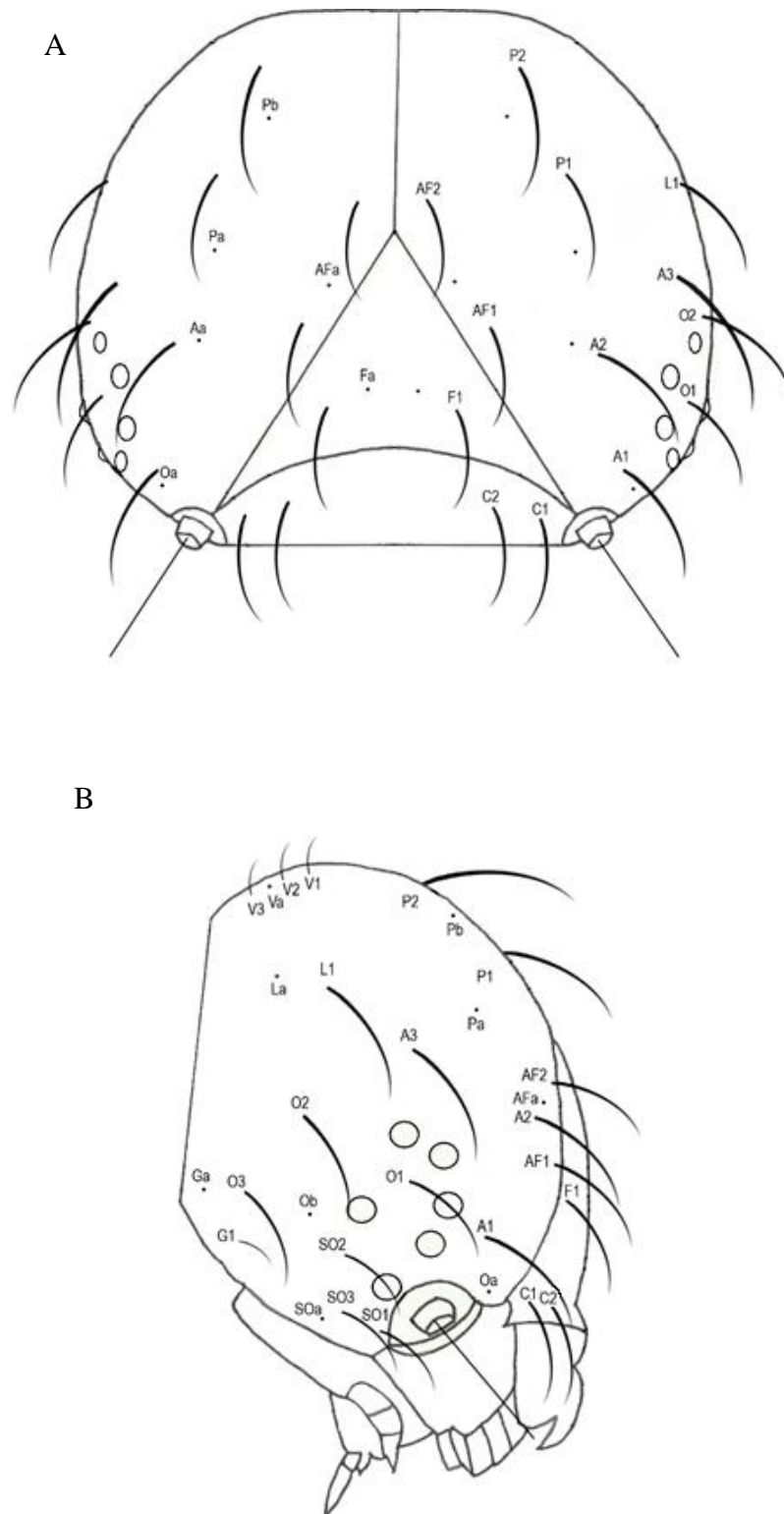


Figura 3. Quetotaxia da cápsula cefálica da região A) frontal e B) lateral de larvas de primeiro ínstar de *M. polymnia casabranca*.

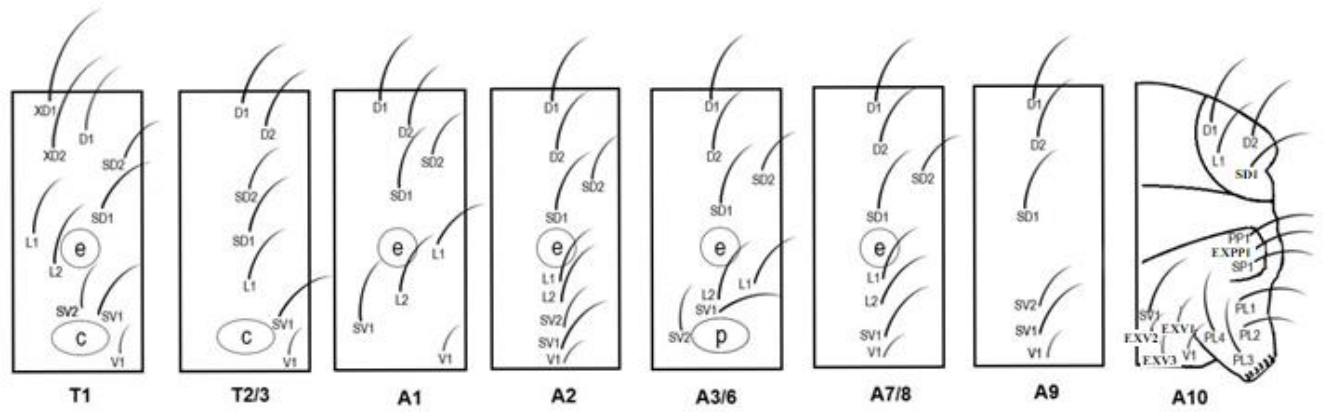


Figura 4. Quetotaxia do corpo de larvas de primeiro ínstar de *M. polymnia casabranca*. e = espiráculo, c = coxa, p = propernas

Discussão

O padrão morfológico dos estágios imaturos de *M. polymnia casabranca* é muito semelhante ao de outras espécies de *Mechanitis* (Brown & Freitas, 1994; Motta, 1998; Giraldo & Uribe, 2012; Hill *et al.* 2012; Giraldo *et al.* 2014). A principal característica que identifica larvas de *Mechanitis polymnia* é a coloração castanho claro da cápsula cefálica a partir do segundo ínstar, que se mantém até o quinto ínstar, enquanto em outras espécies de *Mechanitis* a cápsula permanece preta. Assim como em *M. mazeus*, *M. messenoides*, *M. menapis* no terceiro ínstar as larvas de *M. polymnia* também exibem uma mancha amarelo claro na base dos tubérculos, no entanto em *M. polymnia* e *M. mazeus* a mancha limita-se a base do tubérculo, ao redor do espiráculo, enquanto em *M. messenoides* e *M. menapis* a mancha chega à metade do tubérculo (Giraldo & Uribe 2012; Giraldo *et al.* 2014).

A quetotaxia de *M. polymnia* realizada neste trabalho corrobora as observações realizadas na mesma espécie por Motta (1998). No entanto, identificamos duas cerdas, PL1 e PL2, nos segmentos A3-6, presentes na placa das propernas, que não são mencionadas por Motta (1998), provavelmente por considerar apenas cerdas abdominais em suas análises. No segmento A10 identificamos as cerdas extras EXV1, EXV2, EXV3 e EXP1. Este segmento é conhecido por ser confuso devido à grande variação morfológica (Sther, 1987).

Neste trabalho as larvas de *M. polymnia casabranca*, criadas a 25° C sobre *S. robustum*, apresentaram um tempo mais curto de desenvolvimento, de $25,6 \pm 2,1$ dias (adicionando o tempo de maturação dos ovos), em comparação a larvas de *M. polymnia caucaensis* criadas por Giraldo & Uribe, 2012, cujo tempo foi $32,56 \pm 1,80$ dias, em temperatura de 27° C sobre *S. jamaicense*. As larvas deste estudo apresentaram desenvolvimento mais curto também quando comparadas às larvas de *M. menapis occasiva*, criadas a 27° C sobre *S. hirtum* que duraram $30,9 \pm 1,5$ dias (Giraldo & Uribe, 2010b; Giraldo & Uribe, 2012) e larvas de *M. menapis doryssus* criadas a 28° C sobre *S. betaceum*, *S. acerifolium*, *S. myriacanthum* que duraram $35,6 \pm 1$ dias (Giraldo *et al.* 2014). Uma vez que as temperaturas dos estudos citados acima foram semelhantes à temperatura deste estudo, sugerimos que as larvas de *M. polymnia casabranca* desenvolvem-se mais rapidamente que outras espécies do gênero devido à característica própria da subespécie e/ou devido às diferenças nutricionais das plantas hospedeiras as quais as espécies foram criadas. Além disso, as larvas de quinto ínstar de *M. polymnia casabranca* assemelham-se a uma larva de quarto ínstar de outras espécies de *Mechanitis*. Isto pode explicar a rapidez em desenvolvimento (Tabela 3).

As descrições de estágios imaturos geram importantes informações, bem como dados para estudos filogenéticos, sobre o ciclo de vida, aspectos morfológicos e desenvolvimentais das diferentes espécies. O conhecimento dessas características possibilita a identificação e classificação das espécies. De um modo geral, as larvas de *M. polymnia* são reconhecidas pela coloração castanha da cápsula cefálica a partir do segundo ínstar.

Tabela 3. Comprimento corporal (mm) (média e desvio padrão, quando disponível) de espécies e subespécies do gênero *Mechanitis*. Dados obtidos a partir deste trabalho (*M. p. casabranca*) e trabalhos de Giraldo & Uribe, 2010a; Giraldo & Uribe, 2010b; Giraldo & Uribe, 2012; Giraldo *et al.* 2014.

| Instar | <i>M. polymnia casabranca</i> | <i>M. polymnia caucaensis</i> | <i>M. menapis menapis</i> | <i>M. menapis occasiva</i> | <i>M. menapis doryssus</i> |
|--------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1 | 2,52±0,20 | 3,6±0,37 | 3 | 5±0,4 | 4,98 |
| 2 | 5,12±0,96 | 5,93±0,68 | 7 | 7±0,51 | 8,01 |
| 3 | 8,42±1,59 | 10,17±0,62 | 18 | 11,3±0,61 | 9,52 |
| 4 | 12,97±2,39 | 18,37±0,87 | 21 | 16,9±0,47 | 19,53 |
| 5 | 19,55±2,98 | 24,39±0,83 | 25 | 24,9±0,79 | 27,6 |

Capítulo 2

Testando a hipótese da preferência-performance: As fêmeas de *M. polymnia* sabem o que é melhor para seus filhos?

Resumo

Muitas espécies de insetos fitófagos ovipositam em uma variedade de plantas hospedeiras, podendo exibir hierarquia de preferência. A hipótese da preferência-performance afirma que as fêmeas escolhem plantas que possibilitam um melhor desenvolvimento larval. O objetivo do presente estudo foi avaliar o uso de plantas hospedeiras do gênero *Solanum* por fêmeas da borboleta de *M. polymnia*, e se existe uma relação com a performance de larvas criadas com folhas das diferentes espécies de *Solanum*. Realizamos observações em campo e experimento de oviposição para avaliar o uso de plantas hospedeiras. Nas observações em campo contabilizamos as oviposições sobre plantas hospedeiras que cresciam naturalmente, *S. robustum*, *S. mauritianum*, *S. scuticum* e *S. paniculatum*. No experimento de oviposição em campo, cultivamos as plantas hospedeiras em vasos e colocamos em campo em blocos contendo uma planta de cada espécie (N=10). Avaliamos a performance das larvas alimentando-as com folhas das diferentes espécies de *Solanum*. Utilizamos larvas obtidas de 30 oviposições, sendo as larvas mantidas em condições controladas de temperatura e fotoperíodo. Registramos a sobrevivência, o tempo de desenvolvimento das larvas até adultos, o tamanho e o peso das larvas, das pupas e dos adultos, e os índices de digestibilidade das larvas. Nas observações em campo as fêmeas ovipositaram em maior frequência em *S. robustum*. No experimento de oviposição não houve diferença significativa. De um modo geral a performance das larvas foi melhor quando as larvas foram alimentadas com *S. robustum* e *S. scuticum*. A sobrevivência foi em torno de 40% menor em larvas criadas sobre *S. mauritianum*. Os resultados sugerem haver uma relação positiva entre preferência de oviposição e performance das larvas em *M. polymnia*.

Palavras-Chave: forrageamento, herbivoria, hipótese a mãe sabe mais, qualidade da planta hospedeira, sobrevivência.

Abstract

Many species of phytophagous insects oviposit in a variety of host plants, and may exhibit hierarchy of preference. The preference-performance hypothesis states that females choose plants in which larvae perform better. The objective of the present study was to evaluate the use of host plants of genus *Solanum* by females of butterfly *M. polymnia*, and the relation with larval performance of larvae fed with leaves of the different *Solanum* species. We conducted field observations and oviposition experiments to evaluate the use of host plants. In the field observations we counted ovipositions on naturally growing host plants, *S. robustum*, *S. mauritianum*, *S. scuticum* and *S. paniculatum*. In the oviposition experiment in the field, we cultivated the host plants in pots and placed them in the field in blocks (N = 10) containing one plant of each of the three species. We evaluated the performance of larvae by feeding them with leaves of the different *Solanum* species. We used larvae obtained from 30 ovipositions. The larvae were maintained under controlled conditions of temperature and photoperiod. We recorded survival, development time to adult, size and weight of larvae, pupae and adult, and digestibility indexes of larvae. In the field observations females oviposited more in *S. robustum*, followed by, *S. scuticum*, and *S. mauritianum*. In the oviposition experiment there was no significant difference. In general, the performance was better when the larvae were fed with *S. robustum* and *S. scuticum*. Survival was c. 40% lower in larvae raised on *S. mauritianum*. The results suggest a positive relationship between preference and performance in *M. polymnia*.

Key-Words: foraging, herbivory, host plant quality, mother-knows-best hypothesis, survivorship.

Introdução

A hipótese da preferência-performance ou hipótese da “mãe sabe mais”, sugere que as fêmeas de insetos herbívoros podem maximizar seu sucesso reprodutivo colocando ovos em plantas hospedeiras que conferem melhor performance para as larvas (Jaenike, 1978; Thompson, 1988; Thompson & Pellmyr, 1991; Mayhew, 1997). Essa hipótese supõe que a qualidade das plantas hospedeiras como locais de oviposição varia entre espécies, e entre indivíduos de plantas da mesma espécie. Ao longo do processo evolutivo, as fêmeas de insetos herbívoros teriam desenvolvido a capacidade de reconhecer tais diferenças.

A variação na qualidade das plantas hospedeiras pode ser devido a fatores como diferenças na concentração de nutrientes e compostos secundários de defesa, a presença ou não de competidores, predadores e parasitoides, além de fatores abióticos, como por exemplo, o microclima de ocorrência da planta hospedeira (Scriber & Slansky, 1981; Awmack and Leather, 2002). Devido às larvas de primeiro ínstar terem pouca mobilidade, tornando quase impossível a mudança de planta hospedeira, a escolha pelas fêmeas do local de oviposição é considerado um fator fundamental para a sobrevivência e desenvolvimento das larvas (Thompson, 1988). Desse modo, as fêmeas com melhor capacidade de discriminar plantas hospedeiras de boa qualidade tenderiam a ser favorecidas pela seleção natural.

A pressão seletiva sobre fêmeas em busca de plantas hospedeiras pode ser mais intensa em espécies de herbívoros monófagos (que se alimentam de um ou poucos gêneros de plantas hospedeiras da mesma família) e oligófagos (que se alimentam de uma ou poucas famílias de plantas hospedeiras) do que em espécies de herbívoros polífagos (que se alimentam de várias famílias de plantas hospedeiras) (Bernays & Chapman, 1994). Os monófagos e oligófagos encontram maior abundância de plantas não hospedeiras no ambiente, o que em princípio, aumentaria as chances de uma escolha errada. De acordo com a hipótese neural (Levins & MacArthur, 1969; Fox & Lalonde, 1993; Bernays, 1998; Janz, 2003; Egan & Funk, 2006; Roslin & Salminen, 2008), herbívoros monófagos e oligófagos têm um sistema nervoso com melhor capacidade de discriminar plantas hospedeiras, tornando as fêmeas dessas espécies melhores “tomadoras de decisões” do que fêmeas de herbívoros polífagos. Em um raciocínio semelhante, as espécies de herbívoros em que as fêmeas possuem baixo risco de predação, por exemplo, espécies impalatáveis devido à proteção química, também podem ser melhores “tomadoras de decisões”, uma vez que as fêmeas podem gastar mais tempo em busca de plantas

hospedeiras de boa qualidade com menor risco de ataques, quando comparado às fêmeas de espécies palatáveis.

A hipótese da preferência-performance tem muitas evidências a favor (Craig *et al.*, 1989; Nylin & Janz, 1993; Gripenberg *et al.*, 2010), no entanto, há trabalhos que não encontraram nenhuma relação (Scheirs *et al.*, 2000; Scheirs, 2002; Refsnider & Janzen, 2010). Em uma meta-análise, Gripenberg *et al.* (2010), demonstraram que a hipótese da preferência-performance adequa-se bem a insetos oligófagos, mas não a insetos monófagos e polífagos. Os autores argumentam que insetos monófagos encontram baixa variação na qualidade de plantas hospedeiras, devido a estas serem do mesmo gênero, por isso, as fêmeas não teriam sofrido seleção para desenvolver a capacidade de discriminar a qualidade de suas plantas hospedeiras, e as espécies polífagas poderiam não possuir sistema nervoso capaz de processar informações de um espectro grande de plantas hospedeiras com variada qualidade nutricional.

A borboleta *Mechanitis polymnia* (Nymphalidae, Danainae) possui algumas características que a tornam um bom modelo para testar a hipótese da preferência-performance. Essa espécie é facilmente encontrada em todo o território brasileiro (Brown, 1979), reproduzindo-se durante o ano inteiro, mas com pico reprodutivo durante a primavera e o verão. As fêmeas colocam ovos agrupados (entre 10 e 60 ovos), em diversas espécies de plantas da família Solanaceae, sendo comumente encontradas em *Solanum robustum*, *S. mauritianum*, *S. paniculatum*, *S. scuticum*, *S. variable*, mas também em plantas de outros gêneros como *Cyphomandra* e *Lycopersicon*. Por isso, *M. polyminia* é classificada como oligófaga (Bernays & Chapman, 1994; Beccaloni *et al.*, 2008). As plantas são abundantes na área de estudo e são de fácil cultivo. Os adultos são aposemáticos e impalatáveis, o que indica que as fêmeas podem não experimentar um maior risco de predação com o decorrer do tempo em busca de plantas hospedeiras de boa qualidade (Brown, 1984, Brown, 1985, Trigo *et al.*, 1996). Considerando que *M. polymnia* é oligófaga e impalatável seria esperado que houvesse uma relação positiva entre preferência e performance. O objetivo desse capítulo foi investigar o uso de plantas hospedeiras por fêmeas de *M. polymnia*, e se o desempenho larval relaciona-se com a escolha da fêmea.

Material e Métodos

Área de estudo

Realizamos o estudo em floresta de Mata Atlântica situada na Serra do Japi (23°14'S; 46°56'W), próxima a cidade de Jundiaí-SP. A Serra do Japi possui uma área de 35,400 ha, onde predomina vegetação mesófila semi-decídua bem preservada (Leitão-Filho 1992; Morellato 1992). A altitude da área estudada é entre 800 m e 1100 m, em outras partes da serra fica entre 700 m e 1300 m. A temperatura média anual varia de 15,7° C a 19,2° C, no inverno a temperatura média varia de 11,8° C a 15,3° C e no verão a temperatura média varia 18,4° C a 22,2° C. A estação chuvosa ocorre de setembro a março e a estação seca ocorre de abril a agosto, a precipitação média anual é em torno de 1500 mm (Pinto, 1992).

Uso de plantas hospedeiras por fêmeas

Realizamos observações em campo e experimento de oviposição para avaliar o uso de plantas hospedeiras por fêmeas de *M. polymnia*. Realizamos o experimento de oviposição de 21 de abril a 8 de maio de 2015, e as observações em campo, de novembro de 2015 a maio de 2016.

As observações em campo consistiram no registro da presença ou ausência de ovos ou larvas de *M. polymnia* em plantas hospedeiras que cresciam naturalmente em campo. Primeiramente, antes das observações, marcamos e identificamos as plantas hospedeiras das espécies *S. robustum*, *S. mauritianum*, *S. scuticum* e *S. paniculatum*, com placas plásticas contendo uma combinação de letras e números, as letras corresponderam às iniciais da espécie e o número correspondeu ao indivíduo. Fixamos as placas na base do caule com arame flexível em todas as plantas hospedeiras visualizadas na borda da mata em um percurso de 3 km à beira de uma estrada (*S. mauritianum* = 200, *S. robustum* = 42, *S. paniculatum* = 33, *S. scuticum* = 6). Posteriormente, durante as visitas, registramos a presença ou ausência de ovos ou larvas de *M. polymnia* em cada indivíduo de planta, aproximadamente a cada 15 dias (n=10 visitas), até o final da estação reprodutiva. Com esse procedimento, buscamos entender se as fêmeas colocavam ovos sobre as espécies de plantas hospedeiras de acordo com a abundância que ocorriam em campo, ou se ovipositavam em maior frequência em alguma espécie de planta hospedeira, independente da abundância. Utilizamos a quantidade total de oviposições sobre

cada espécie de planta hospedeira como uma medida de frequência de uso, consideramos cada oviposição (grupo de ovos) uma amostra independente.

O experimento de oviposição consistiu na utilização de vasos contendo plantas hospedeiras cultivadas (*S. mauritianum*, *S. robustum*, *S. scuticum*) deixadas em campo para fêmeas ovipositarem. Obtivemos as plantas hospedeiras das espécies *S. robustum* e *S. scuticum* por meio da germinação de sementes em câmara de germinação. Retiramos as sementes de frutos maduros colhidos em campo, posteriormente, colocamos para secar por dois a três dias à sombra, sobre papel toalha, para eliminação do arilo que poderia causar surgimento de fungos. Depois, colocamos as sementes em placas de petri forradas com papel toalha, e umedecemos com água destilada sempre que necessário. Levamos as placas de petri com sementes à câmara de germinação, que foi configurada para, manter a temperatura diurna em 30°C e a temperatura noturna em 20° C. O período de luminosidade foi 12h dia e 12h noite. As sementes germinaram após aproximadamente 30 a 40 dias. Posteriormente, transferimos as plântulas a pequenos recipientes contendo húmus, e depois, as mantivemos em laboratório, onde cresceram sob condições naturais de temperatura e luminosidade. As plântulas atingiram por volta de sete a dez centímetros de altura após cerca de três meses, quando então, foram transplantadas para vasos plásticos de 10L contendo húmus e fertilizante (Marca Ultraverde 10-10-10), e mantidas em uma área de mata urbana perturbada localizada na universidade, onde cresceram sob condições naturais. Utilizamos as plantas nos experimentos quando atingiram entre 50 cm e 60 cm de altura, que durou entre um ano e um ano e seis meses. Adquirimos as plantas da espécie *S. mauritianum* comercialmente, como mudas (www.compremudas.com.br), e as colocamos em vasos plásticos de 10L contendo húmus e fertilizante, quando atingiram entre 50 cm a 60 cm de altura, processo que durou por volta de um ano, as utilizamos no experimento.

Para a realização do experimento de oviposição, colocamos as plantas em campo, em blocos aleatorizados (N=10). Cada bloco conteve três plantas, sendo uma planta de cada espécie, cada planta permaneceu distante 1 m uma da outra em posições aleatorizadas, cada bloco permaneceu distante do outro entre 50 m a 70 m. Agrupamos as plantas com aproximadamente a mesma altura e quantidade de folhas, para evitar que esses fatores interferissem no momento da oviposição. Antes do início do experimento, a equipe de manutenção de estradas da prefeitura removeu, por meio de roçagem, a vegetação que crescia naturalmente na borda da mata, incluindo as plantas hospedeiras de *M. polymnia*. Após o início do experimento, realizamos observações diárias em que registramos quais plantas receberam

ovos. Removemos o grupo quando uma planta recebeu ovos, e utilizamos a planta com ovos em outro experimento (veja capítulo 3).

Desempenho Larval

Criamos as larvas em caixas plásticas de 12 L com pequenos furos na tampa para possibilitar a ventilação, mas evitar que escapassem. Realizamos três tratamentos, cada tratamento correspondeu à associação de larvas e espécies de plantas hospedeiras diferentes (*S. mauritianum*, *S. robustum*, *S. scuticum*). Coletamos os ovos em campo e dividimos as larvas recém eclodidas em três grupos com o mesmo número de indivíduos (por volta de 10 larvas por tratamento), depois as colocamos sobre folhas frescas das plantas hospedeiras. As folhas tiveram o pecíolo inserido em um pequeno pote plástico com água para evitar que desidratassem. Oferecemos folhas frescas sempre que necessário, a cada um ou dois dias. Mantivemos as larvas em laboratório sob temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$, e luminosidade de 12h dia e 12h noite.

Registramos o tempo de desenvolvimento em cada ínstar, mortalidade, tamanho da cápsula cefálica (até o quarto ínstar, pois no quinto ínstar, ao empupar, as cápsulas saem quebradas) e comprimento alar dos adultos (n=13 oviposições, um total de 132 larvas por espécie de planta).

Obtivemos o peso seco das larvas sacrificando por congelamento uma larva de cada tratamento no início de cada ínstar. Posteriormente colocamos as larvas para secar em estufa a 60°C por 24h. Após retirarmos da estufa, pesamos imediatamente em balança analítica (Ohaus, DV215CD) para evitar ganho de peso devido a umidade do ar. Obtivemos também o peso seco das pupas e adultos de cada tratamento (n=17 oviposições, um total de 17 amostras por tratamento). Obtivemos a área foliar consumida decalcando em papel milimetrado as folhas oferecidas antes e após o consumo em cada ínstar. Posteriormente, escaneamos e medimos as áreas com auxílio do software Image J (Rasband, 1997). A diferença da área foliar antes e após o consumo representou a área foliar consumida pelas larvas. Obtivemos o peso seco da área foliar consumida com o uso de 30 amostras de 1 cm^2 de folhas de cada espécie de planta hospedeira colhidas em campo. Secamos as amostras em estufa a 60°C por 24h, e depois, pesamos em balança analítica. Calculamos a média do peso seco das amostras para cada espécie

de planta hospedeira. A área foliar consumida multiplicado pela média do peso seco das amostras correspondeu ao peso seco da área foliar consumida.

A partir das informações citadas acima, calculamos índices de utilização de alimento de acordo com equações gravimétricas presentes em Waldbauer (1968):

$$\text{Taxa de consumo relativo} = C/(T \times P)$$

$$\text{Taxa de crescimento relativo} = GP/(T \times P)$$

$$\text{Digestibilidade aproximada} = 100 \times (C - F)/C$$

$$\text{Eficiência de conversão de matéria ingerida} = 100 \times (GP)/C$$

$$\text{Eficiência de conversão de matéria digerida} = 100 \times (GP)/(C - F)$$

Onde: C = peso seco da área foliar consumida; T = tempo médio de alimentação em dias; P = peso seco médio das larvas durante o período de alimentação; GP = Ganho de peso larval; F = peso seco das fezes. Calculamos os índices, digestibilidade aproximada, eficiência de conversão de matéria ingerida e eficiência de conversão de matéria digerida para o quarto ínstar e os demais índices para todos os ínstars.

Análise dos dados

Avaliamos as observações em campo por meio do Teste Cochran-Mantel-Haenszel. Durante o estudo, algumas plantas foram totalmente consumidas por larvas, secaram ou desapareceram, e por isso não foi possível contabilizar todas as plantas marcadas em visitas subsequentes a campo. Portanto, para fins de análise, utilizamos o número de plantas visualizadas a cada visita a campo. A frequência esperada correspondeu à frequência das espécies de plantas hospedeiras e a frequência observada correspondeu à frequência de plantas com ovos. Removemos das análises três visitas a campo devido ao baixo número de oviposições, referentes ao início e final da estação reprodutiva (novembro e início de dezembro 2015, e maio 2016). Nestas ocasiões registramos apenas zero ou uma oviposição. Adicionalmente, removemos da análise as espécies *S. paniculatum* e *S. scuticum*, pelo mesmo motivo, baixa oviposição nessas espécies, pois durante todo período de estudo registramos apenas uma oviposição em *S. scuticum*. Sendo assim, conduzimos a análise com dados de sete

visitas (final de dezembro de 2015 a abril de 2016), com plantas das espécies *S. mauritianum* e *S. robustum*.

No experimento de oviposição, avaliamos o uso de plantas hospedeiras por meio do Teste Exato Multinomial. A frequência esperada foi igual entre as espécies de plantas hospedeiras e a frequência observada correspondeu à frequência de plantas com ovos.

Analisamos o desempenho larval com diferentes testes estatísticos. Utilizamos o Teste Exato Multinomial para avaliar a mortalidade de larvas nas espécies de plantas hospedeiras. Utilizamos ANOVA Um Fator para analisar o tempo de desenvolvimento, o peso seco e os índices de digestibilidade e Teste de Tukey como teste *a posteriori*. Utilizamos teste Kruskal-Wallis (Teste de Dunn *a posteriori*) para analisar o tamanho da cápsula cefálica, visto que as variâncias não foram homogêneas. Nós desenvolvemos todas as análises com auxílio do programa R (R Core Team 2015).

Resultados

Observações em campo e Experimento de oviposição

Nas observações em campo sobre o uso de plantas hospedeiras, o número total de oviposições foi maior sobre *S. robustum* (n = 33), seguido por *S. mauritianum* (n = 31), e *S. scuticum* (n = 1), não tendo sido observadas oviposições em *S. paniculatum* (n = 0). A proporção das espécies de plantas hospedeiras com ovos é diferente da proporção de abundância das espécies de plantas hospedeiras independentemente da época observada. A espécie *S. robustum* recebeu proporcionalmente mais ovos do que *S. mauritianum* (Teste Cochran-Mantel-Haenszel, $\chi^2_{MH} = 65,882$, $gl = 1$, $p = 0,04 \cdot 10^{-18}$) (Tab. 4) (Fig. 5).

No experimento de oviposição, dos dez grupos de plantas hospedeiras colocadas em campo, sete receberam oviposições. A quantidade de oviposições foi maior em *S. robustum* (n=4) seguido por *S. scuticum* (n=2) e *S. mauritianum* (n=1), neste caso, a diferença não foi significativa (Teste Exato Multinomial, $p=0,51$) (Fig. 6).

Tabela 4. Uso de plantas hospedeiras em campo por fêmeas de *M. polymnia*. Análise por meio do Teste Cochran-Mantel-Haenszel ($\chi^2_{MH} = 65,882$, $gl = 1$, $p = 0,04 * 10^{-18}$). Observações realizadas de dezembro 2015 a abril 2016. Os valores representam a porcentagem de plantas com oviposições, seguido, entre parênteses, de valores brutos de plantas com oviposições e do total de plantas observadas. OBS = Observação, SM = *Solanum mauritianum*, SR = *Solanum robustum*.

| | SM | SR |
|-------------|-----------------|-----------------|
| OBS 1 (Dez) | 1,75% (3/171) | 2,94% (1/34) |
| OBS 2 (Jan) | 3,63% (6/165) | 10,34% (3/29) |
| OBS 3 (Jan) | 2,92% (5/171) | 3,44% (1/29) |
| OBS 4 (Fev) | 1,71% (3/175) | 15,62% (5/32) |
| OBS 5 (Mar) | 4,57% (8/175) | 31,25% (10/32) |
| OBS 6 (Mar) | 2,68% (5/186) | 25% (8/32) |
| OBS 7 (Abr) | 0,78% (1/127) | 20,83% (5/24) |
| OBS Total | 2,64% (31/1170) | 15,56% (33/212) |

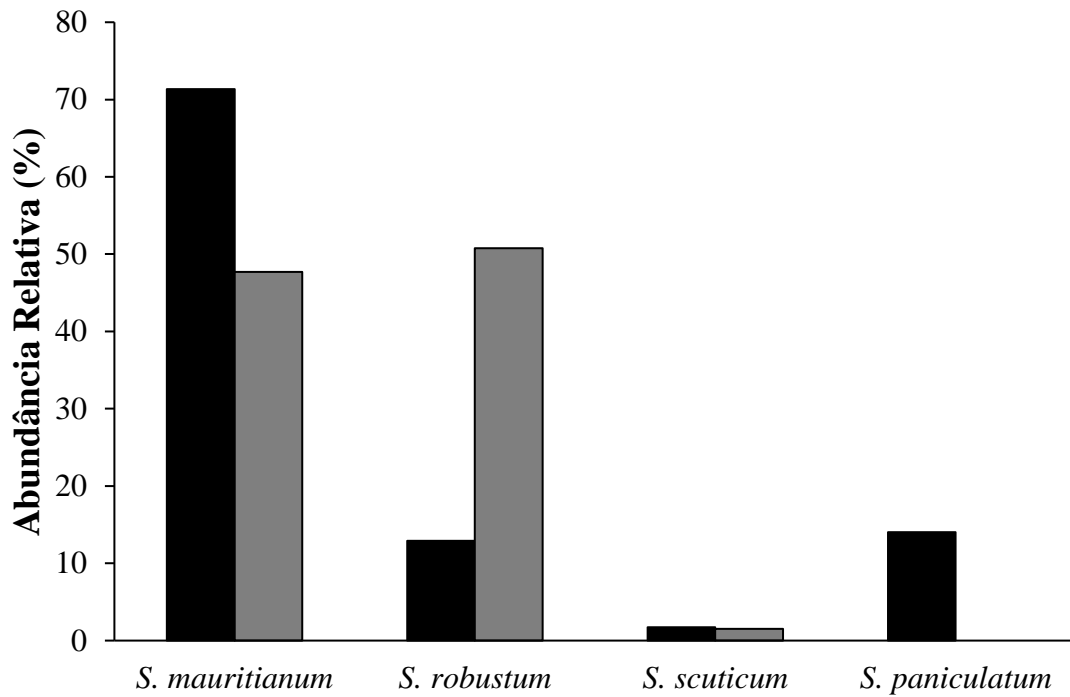


Figura 5: Uso de plantas hospedeiras por fêmeas de *M. polymnia*. Calculado a partir do total de observações de plantas em campo, do gênero *Solanum*, de dezembro 2015 a abril 2016 (*S. mauritianum* = 1170, *S. robustum* = 212, *S. scuticum* = 28, *S. paniculatum* = 230) e o total de oviposições (*S. mauritianum* = 31, *S. robustum* = 33, *S. scuticum* = 1, *S. paniculatum* = 0) (n = 7 visitas). Barras pretas representam plantas hospedeiras e barras cinza representam oviposições.

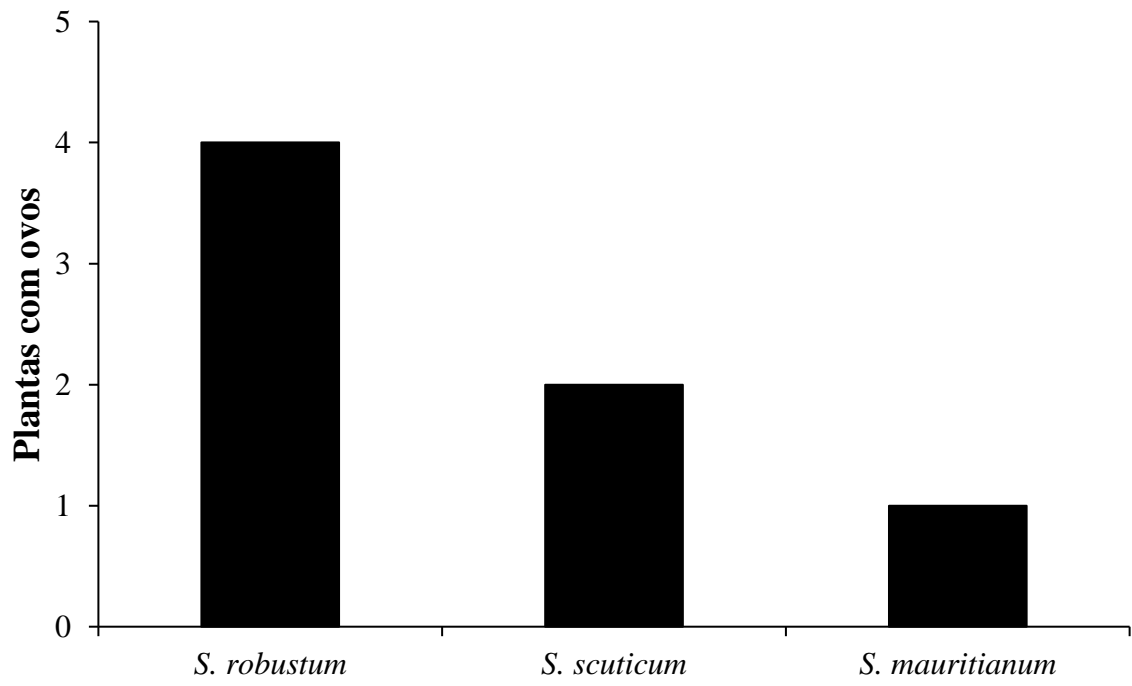


Figura 6: Experimento de oviposição, número de plantas de cada espécie de *Solanum* com ovos de *M. polymnia* (n = 7) (Teste Exato Multinomial, p = 0,51).

Desempenho larval

O tempo de desenvolvimento larval do primeiro ínstar até adulto foi similar entre larvas alimentadas com as diferentes plantas hospedeiras (*S. mauritianum*, $22,6 \pm 0,5$, $n = 13$; *S. robustum*, $21,7 \pm 0,3$, $n = 13$; *S. scuticum*, $21,1 \pm 0,3$, $n = 13$) (dias; média e erro padrão) (ANOVA, $F = 2,96$, $gl = 2$, $p = 0,06$) (Fig. 7). Quando analisado o tempo de duração em cada ínstar, não houve diferença do primeiro ao quarto ínstar (primeiro: ANOVA, $F = 0,16$, $gl = 2$, $n = 13$, $p = 0,85$) (segundo: ANOVA, $F = 0,57$, $gl = 2$, $n = 13$, $p = 0,56$) (terceiro: ANOVA, $F = 1,40$, $gl = 2$, $n = 13$, $p = 0,25$) (quarto: ANOVA, $F = 1,33$, $gl = 2$, $n = 13$, $p = 0,27$) (Tab. 5). No entanto, no quinto ínstar houve diferença (ANOVA, $F = 4,02$, $gl = 2$, $p = 0,02$). Neste caso, as larvas alimentadas com *S. mauritianum* ($n = 13$) levaram mais tempo para empupar comparadas às larvas alimentadas com *S. scuticum* ($n = 13$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0,02$). Não houve diferença de tempo entre larvas alimentadas com *S. mauritianum* e *S. robustum* ($n = 13$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0,19$), nem entre larvas em *S. robustum* e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,54$). O tempo de pupa a adulto não diferiu entre os tratamentos (*S. mauritianum*, $7,2 \pm 0,1$, $n = 13$; *S. robustum*, $7,4 \pm 0,1$, $n = 13$; *S. scuticum*, $7,0 \pm 0,1$, $n = 13$) (ANOVA, $F = 2,16$, $gl = 2$, $p = 0,13$).

A mortalidade total (do primeiro ao quinto ínstar), foi maior em larvas alimentadas com *S. mauritianum* ($n = 54$, 40,9%), seguido por larvas em *S. scuticum* ($n = 10$, 7,5%) e *S. robustum* ($n = 9$, 6,8%) (Teste Exato Multinomial, $p = 0,01 \times 10^{-13}$) (oviposições $n = 13$, total de 132 larvas em cada tratamento). Quando comparadas as taxas relativas, em média, as larvas alimentadas com *S. mauritianum* têm uma sobrevivência relativa de apenas 63,7% da sobrevivência relativa das larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. scuticum*.

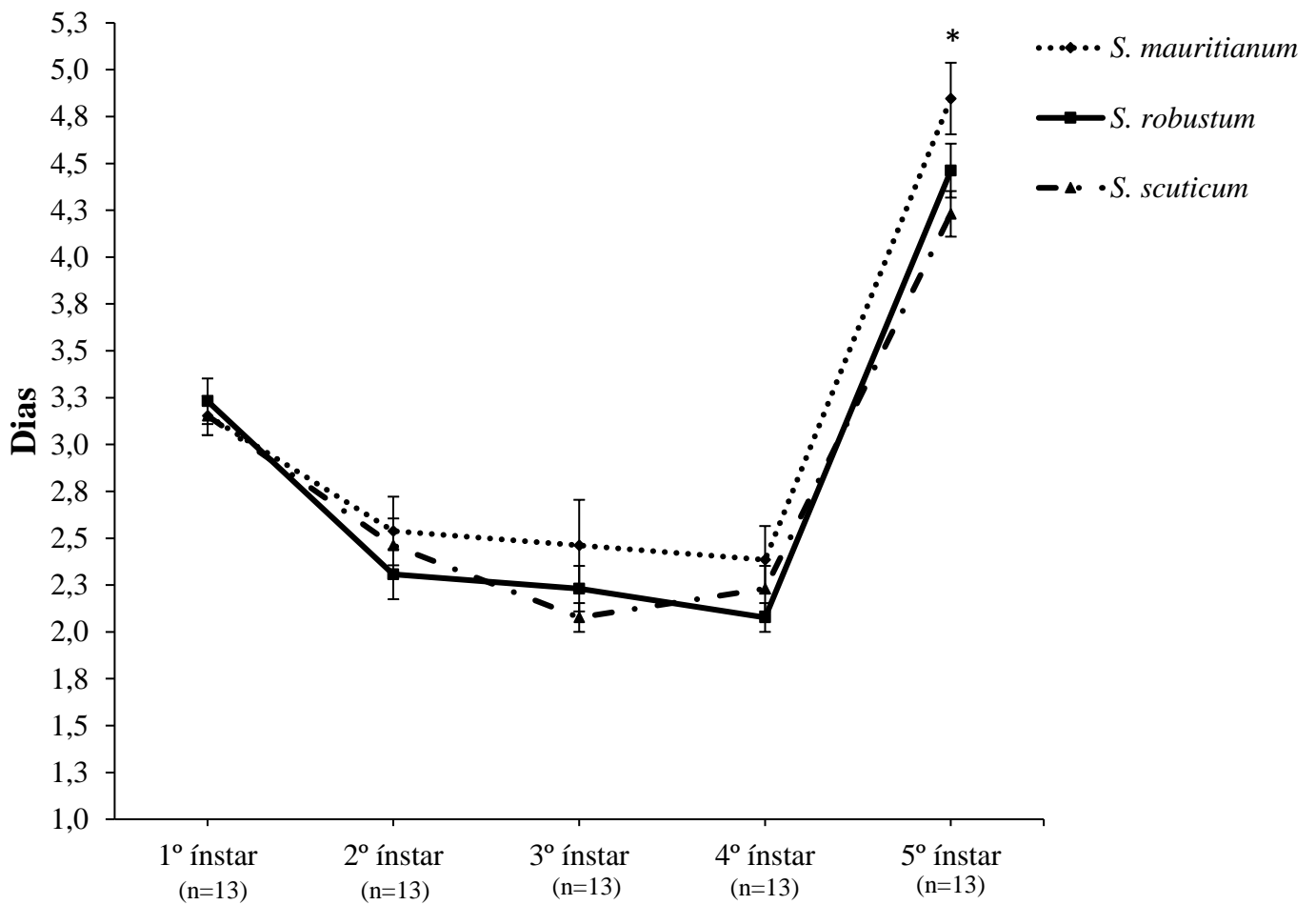


Figura 7: Tempo de desenvolvimento para cinco ínstares larvais de *Mechanitis polymnia* em espécies de plantas hospedeiras do gênero *Solanum*. Pontos representam as médias e barras representam erro padrão. Asterisco representa diferença significativa entre *S. mauritianum* e *S. scuticum*.

Há uma mortalidade relativa de 36,3% causada em consequência das larvas consumirem *S. mauritianum* em relação às outras duas espécies de *Solanum*. Quando analisada a mortalidade em cada ínstar, no primeiro não houve diferença na quantidade de larvas mortas, no entanto o valor de p foi marginalmente significativo (*S. mauritianum*, n = 5; *S. robustum*, n = 0; *S. scuticum*, n = 1) (Teste Exato Multinomial, p = 0,053). No segundo ínstar também não houve diferença na quantidade de larvas mortas entre os tratamentos (*S. mauritianum*, n = 7; *S. robustum*, n = 2; *S. scuticum*, n = 2) (Teste Exato Multinomial, p = 0,13). No terceiro ínstar houve maior mortalidade em larvas alimentadas com *S. mauritianum* (n = 11), seguido por *S. scuticum* (n = 3) e *S. robustum* (n = 1) (Teste Exato Multinomial, p = 0,007). No quarto ínstar houve maior mortalidade em larvas alimentadas com *S. mauritianum* (n = 6), seguido por *S. robustum* (n = 2), e *S. scuticum* (n = 0) (Teste Exato Multinomial, p = 0,03). No quinto ínstar houve maior mortalidade em larvas alimentadas com *S. mauritianum* (n = 21), seguido por *S. scuticum* (n = 3) e *S. robustum* (n = 1) (Teste Exato Multinomial, p = 0,05 x 10⁻¹⁵). Não houve diferença na mortalidade de pupas (*S. mauritianum*, n = 4; *S. robustum*, n = 3; *S. scuticum*, n = 1) (Teste Exato Multinomial, p = 0,55). A taxa de mortalidade absoluta em cada ínstar é apresentada na Fig. 8 e Tab. 5.

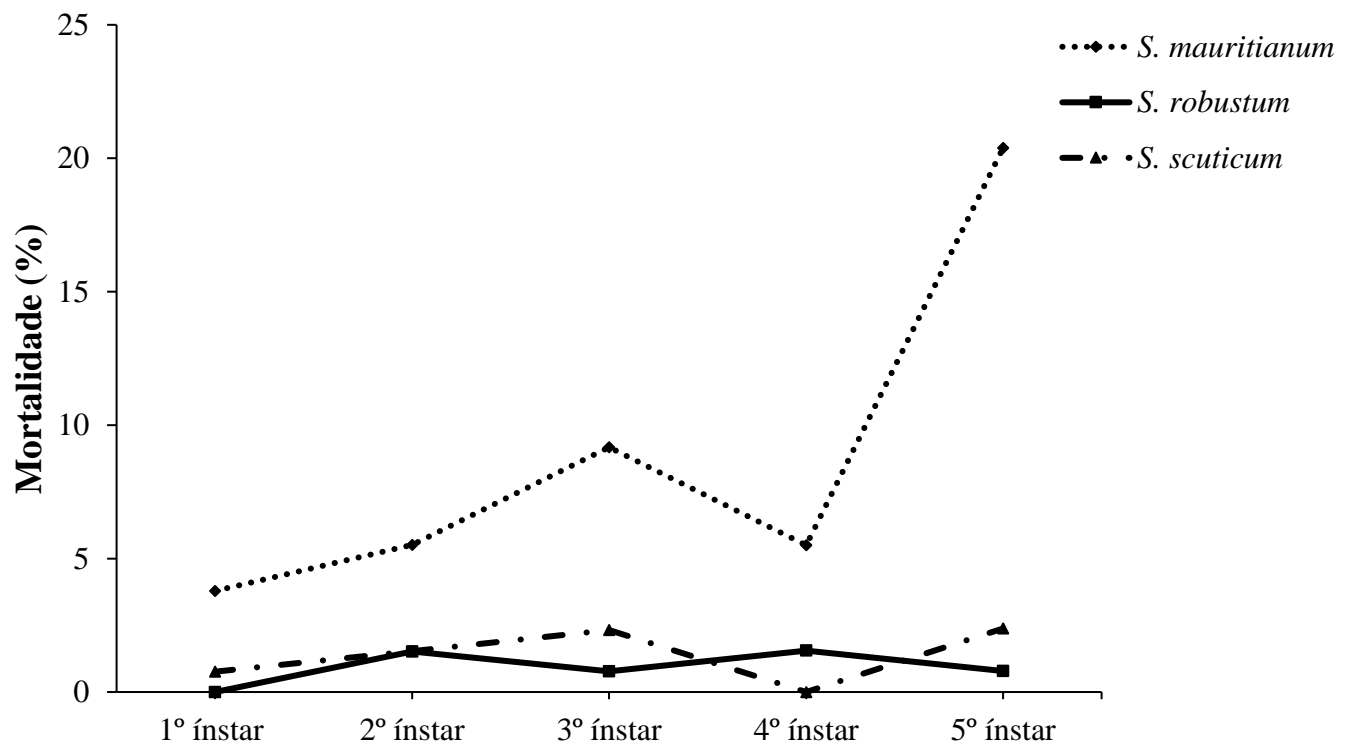


Figura 8: Mortalidade de larvas que foram alimentadas com diferentes plantas hospedeiras, de um total de 132 larvas em cada tratamento, provenientes de 13 oviposições. Diferença significativa do 3º instar ao 5º instar.

O peso seco foi similar em larvas de primeiro ínstar após a eclosão (ANOVA um fator, $F = 0,52$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,60$) (Fig. 9). No segundo ínstar, as larvas alimentadas com *S. robustum* apresentaram peso seco maior que larvas alimentadas com *S. scuticum* (ANOVA um fator, $F = 4,19$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,02$) (Tukey *a posteriori*, $p=0,03$). Não houve diferença entre as larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. mauritianum*, mas o valor de p foi marginalmente significativo (Tukey *a posteriori*, $p = 0,050$). Não houve diferença entre larvas alimentadas com *S. mauritianum* e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,98$). No terceiro ínstar, não houve diferença em peso seco entre os tratamentos (ANOVA um fator, $F = 1,01$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,36$). No quarto ínstar, as larvas alimentadas com *S. scuticum* apresentaram peso seco maior que larvas alimentadas com *S. mauritianum* (ANOVA um fator, $F = 3,39$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,04$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0,04$). Não houve diferença entre larvas alimentadas com *S. scuticum* e *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,83$), nem entre larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,13$). No quinto ínstar, as alimentadas com *S. robustum* e *S. scuticum* apresentaram pesos secos similares (Tukey *a posteriori*, $p = 0,99$), e ambas apresentaram pesos secos maiores que larvas alimentadas com *S. mauritianum* (ANOVA um fator, $F = 6,72$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,002$) (Tukey *a posteriori*, $p=0,007$) (Fig. 9). As pupas apresentaram peso seco maior quando alimentamos as larvas com *S. robustum* em comparação a pupas em *S. mauritianum* (ANOVA, $F = 10,66$, $gl = 2$, $p = 0,01 \times 10^{-2}$) (Tukey *a posteriori*, $p=0,001$) e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,004$). Não houve diferença em peso seco entre pupas provenientes de larvas alimentadas com *S. mauritianum* e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,47$) (Fig. 10) (Tab. 6). Isto representa uma redução em massa corporal de 20.5% de pupas provenientes de *S. mauritianum* em relação a massa corporal de pupas provenientes de *S. robustum*.

Os machos apresentaram peso seco maior quando as larvas foram provenientes de *S. robustum* em comparação a machos provenientes de *S. mauritianum* (ANOVA, $F = 8,77$, $gl = 2$, $n=17$, $p = 0,08 \times 10^{-2}$) (Turkey *a posteriori*, $p = 0,001$) (Fig. 10) (Tab. 6). Não houve diferença, mas o valor de p foi marginalmente significativo, entre peso seco de machos em *S. scuticum* e *S. mauritianum* (Turkey *a posteriori*, $p=0,054$). Não houve diferença entre pesos seco de machos oriundos de larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,19$). A diferença em peso seco representa uma redução de 24,7% na massa corporal de machos provenientes de *S. mauritianum* em relação a machos provenientes de *S. robustum*. As fêmeas diferiram em peso quando alimentamos as larvas com as diferentes plantas hospedeiras (ANOVA, $F = 4,46$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,01$) (Fig. 10) (Tab. 6). Elas apresentaram

peso seco maior quando alimentamos as larvas com *S. robustum* em comparação com fêmeas em *S. mauritanum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,01$). Não houve diferença entre fêmeas em *S. robustum* e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,20$), nem entre as fêmeas de larvas alimentadas com *S. scuticum* e *S. mauritanum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,44$). As fêmeas provenientes de *S. mauritanum* sofrem uma redução de 16,4% em massa corporal em relação a fêmeas oriundas de *S. robustum*.

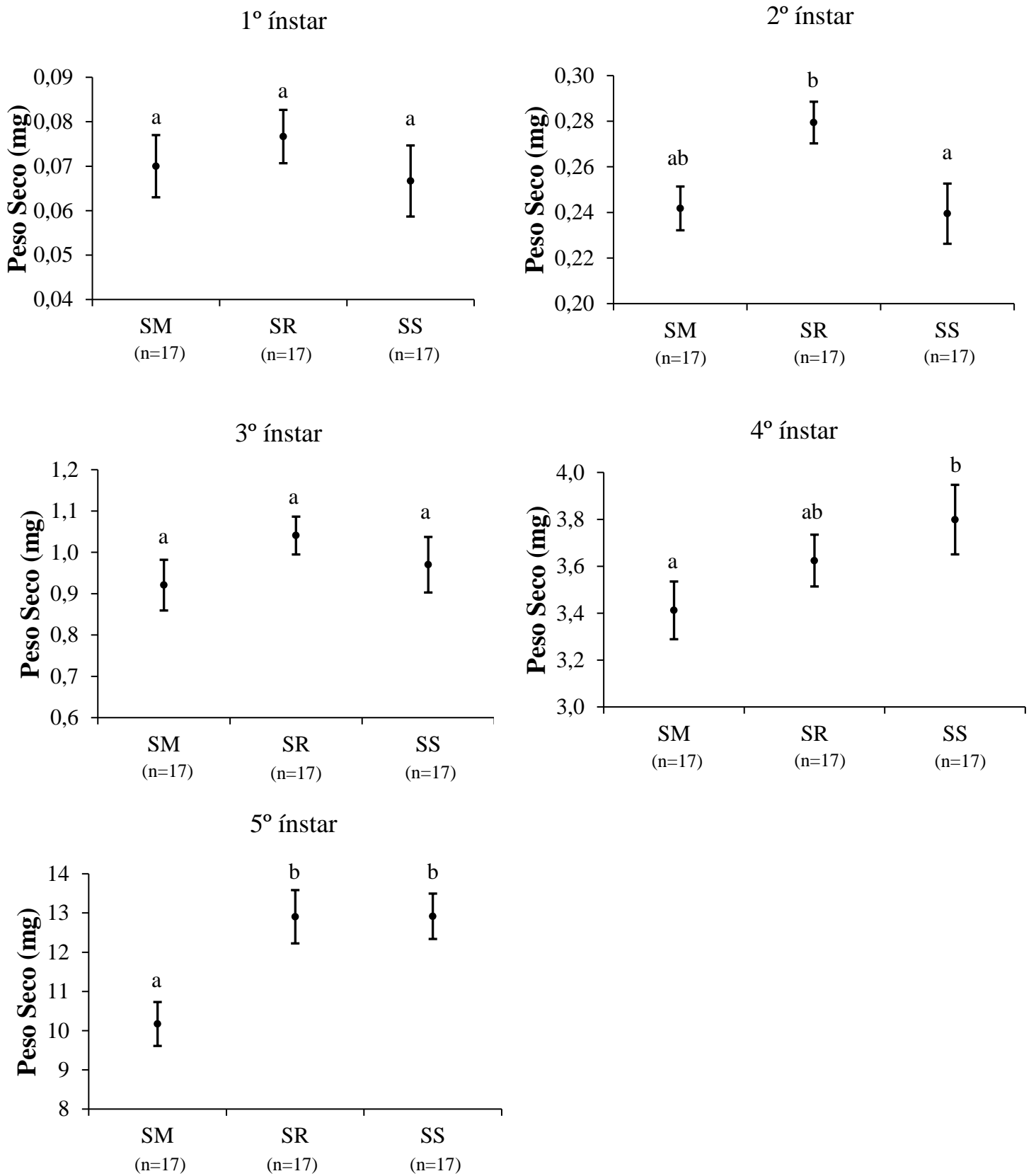


Figura 9. Peso seco de larvas, alimentadas com diferentes espécies de *Solanum*. Tratamentos com letras diferentes representam diferença significativa. SM = *S. mauritanum*, SR = *S. robustum*, SS = *S. scuticum* (oviposições n=17). Pontos representam médias e barras representam erro padrão.

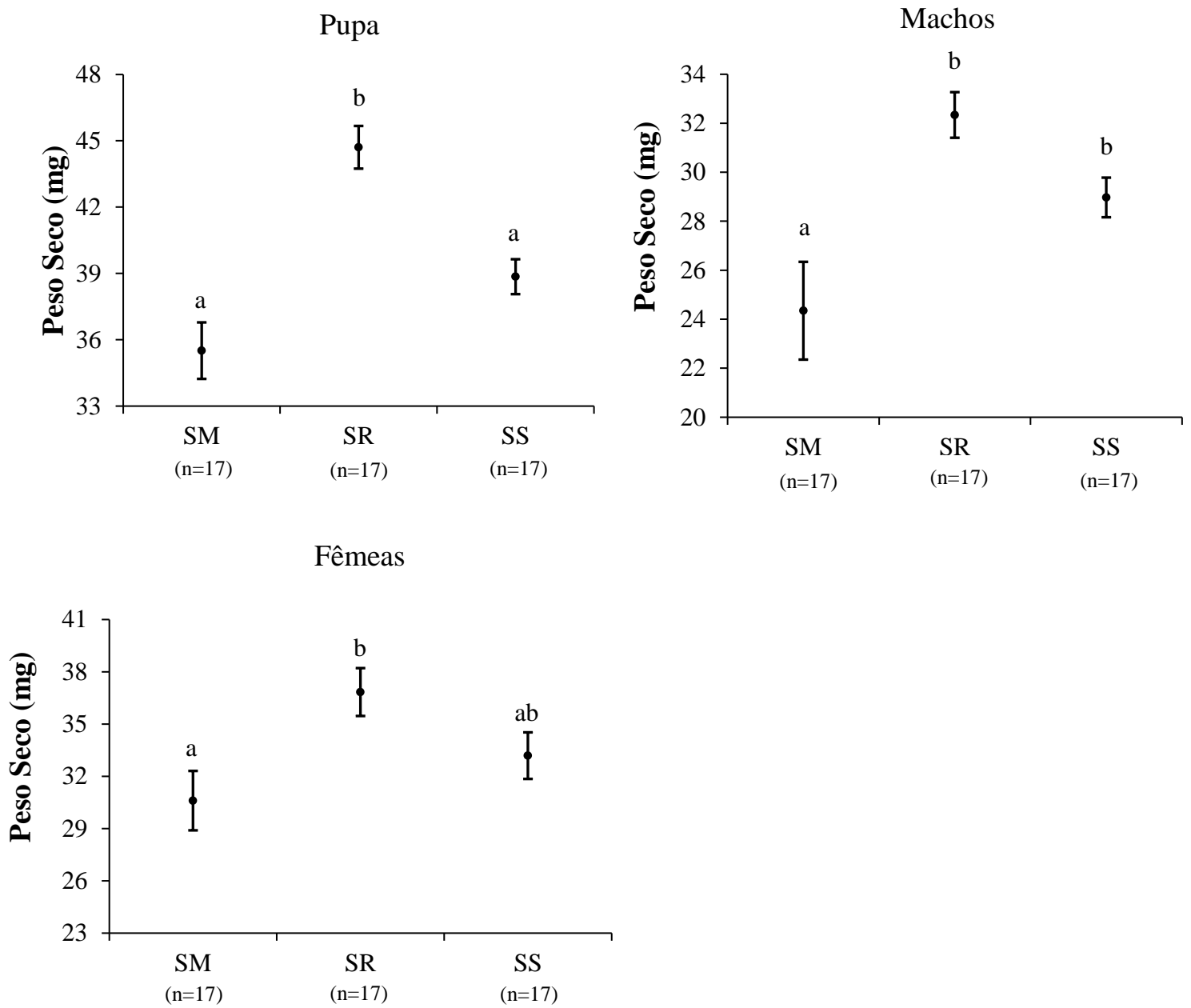


Figura 10. Peso seco (mg) de pupas e adultos provenientes de larvas alimentadas com diferentes espécies de *Solanum* (oviposições n=17). Tratamentos com letras diferentes representam diferença significativa. SM = *S. mauritianum*, SR = *S. robustum*, SS = *S. scuticum*. Pontos representam médias e barras representam erro padrão.

O tamanho da cápsula cefálica não diferiu entre os tratamentos em larvas de primeiro ínstar (Kruskal-Wallis, $H = 1,09$, $n = 13$, $p = 0,57$) (Fig. 11) (Tab. 5). No segundo ínstar, as larvas alimentadas com *S. scuticum* apresentaram tamanho de cápsula maior que as larvas alimentadas com *S. robustum* (Kruskal-Wallis, $H = 8,84$, $n = 13$, $p = 0,01$) (Teste de Dunn, $p = 0,001$). Não houve diferença em tamanho de cápsula entre larvas alimentadas com *S. scuticum* e *S. mauritianum* (Teste de Dunn, $p = 0,05$, marginalmente significativo), nem entre larvas alimentadas com *S. mauritianum* e *S. robustum* (Teste de Dunn, $p = 0,09$). No terceiro (Kruskal-Wallis, $H=5,56$, $n=13$, $p=0,06$) e quarto ínstar (Kruskal-Wallis, $H = 4,41$, $n = 13$, $p = 0,10$), não houve diferença em tamanho de cápsula cefálica entre larvas alimentadas com as diferentes plantas hospedeiras.

O comprimento alar dos machos foi maior quando alimentamos as larvas com *S. robustum* em comparação a machos oriundos de larvas alimentadas com *S. mauritianum* (ANOVA, $F = 6,19$, $gl = 2$, $n = 13$, $p = 0,003$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0,003$) (Fig. 12) (Tab. 6). Os machos oriundos de larvas alimentadas com *S. scuticum* apresentaram comprimento alar maior que machos oriundos de larvas alimentadas com *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,02$). Não houve diferença em comprimento alar entre machos oriundos de larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,69$). As fêmeas oriundas de larvas alimentadas com *S. robustum* apresentaram comprimento alar maior do que fêmeas oriundas de larvas alimentadas com *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,001$) e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,007$), (ANOVA, $F = 8,38$, $gl = 2$, $n = 13$, $p = 0,05 \times 10^{-2}$). Não houve diferença em comprimento alar entre as fêmeas oriundas de *S. scuticum* e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,66$) (Fig. 12) (Tab. 6).

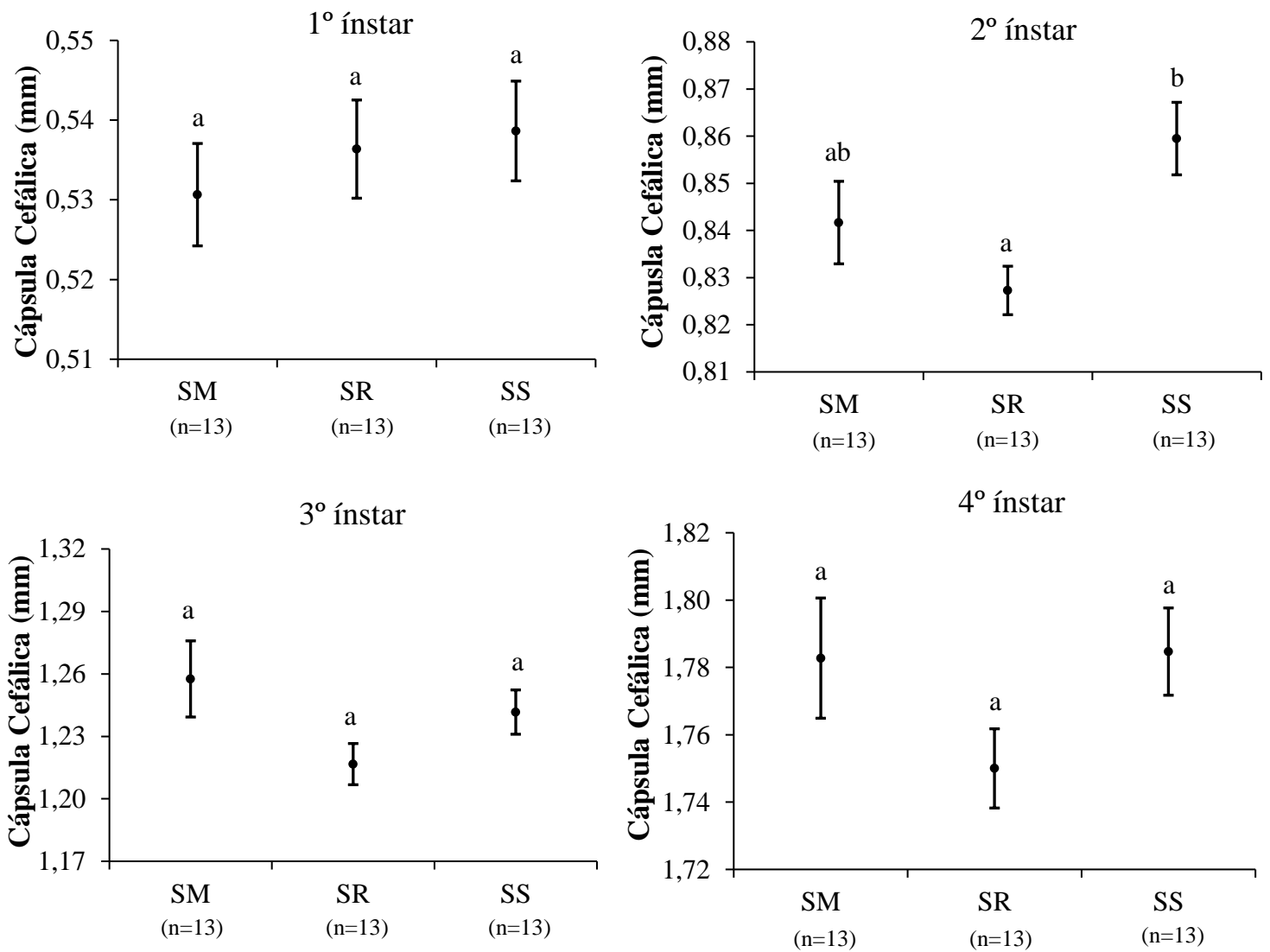


Figura 11. Tamanho de cápsula cefálica de larvas de *Mechanitis polymnia* alimentadas com diferentes plantas hospedeiras. Pontos representam médias, barras representam erro padrão. Tratamentos com letras diferentes representam diferença significativa. SM = *S. mauritianum*, SR = *S. robustum*, SS = *S. scuticum*.

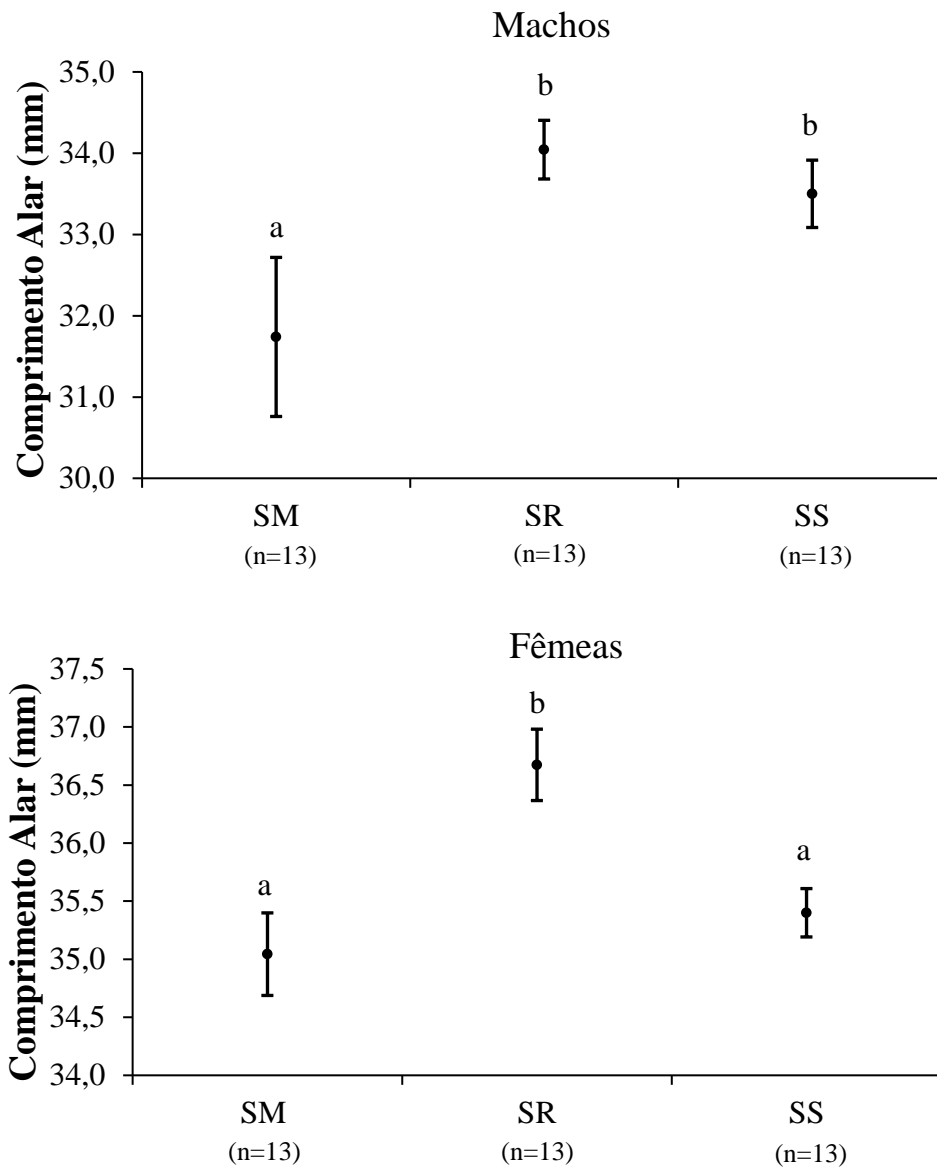


Figura 12. Comprimento alar de machos e fêmeas de *Mechanitis polymnia* provenientes de larvas alimentadas com diferentes plantas hospedeiras (oviposições n = 13). Pontos representam médias, barras representam erro padrão. Tratamentos com letras diferentes representam diferença significativa. SM = *S. mauritanum*, SR = *S. robustum*, SS = *S. scuticum*.

A digestibilidade aproximada (DA) diferiu entre larvas alimentadas com as diferentes espécies de planta hospedeira (ANOVA, $F = 8,82$, $gl = 2$, $n=17$, $p = 0,07 \times 10^{-2}$). A DA foi maior quando alimentamos as larvas com *S. mauritianum* comparadas a larvas alimentadas com *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,001$). Não houve diferença entre larvas alimentadas com *S. mauritianum* e *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,08$), nem entre larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,07$) (Fig. 13) (Tab. 7). A eficiência de conversão de matéria ingerida (ECMI) foi maior em *S. scuticum* (ANOVA, $F = 5,90$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,01$) em comparação às larvas alimentadas com *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,005$) e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,03$) (Fig. 13) (Tab. 7). Não houve diferença em ECMI entre larvas alimentadas *S. robustum* e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,80$). A eficiência de conversão de matéria digerida (ECMD) foi maior quando alimentamos as larvas com *S. scuticum* (ANOVA, $F = 4,56$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,01$), em comparação às larvas alimentadas com *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,02$) e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,02$) (Fig. 13) (Tab. 7). Não houve diferença em ECMD entre larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,99$).

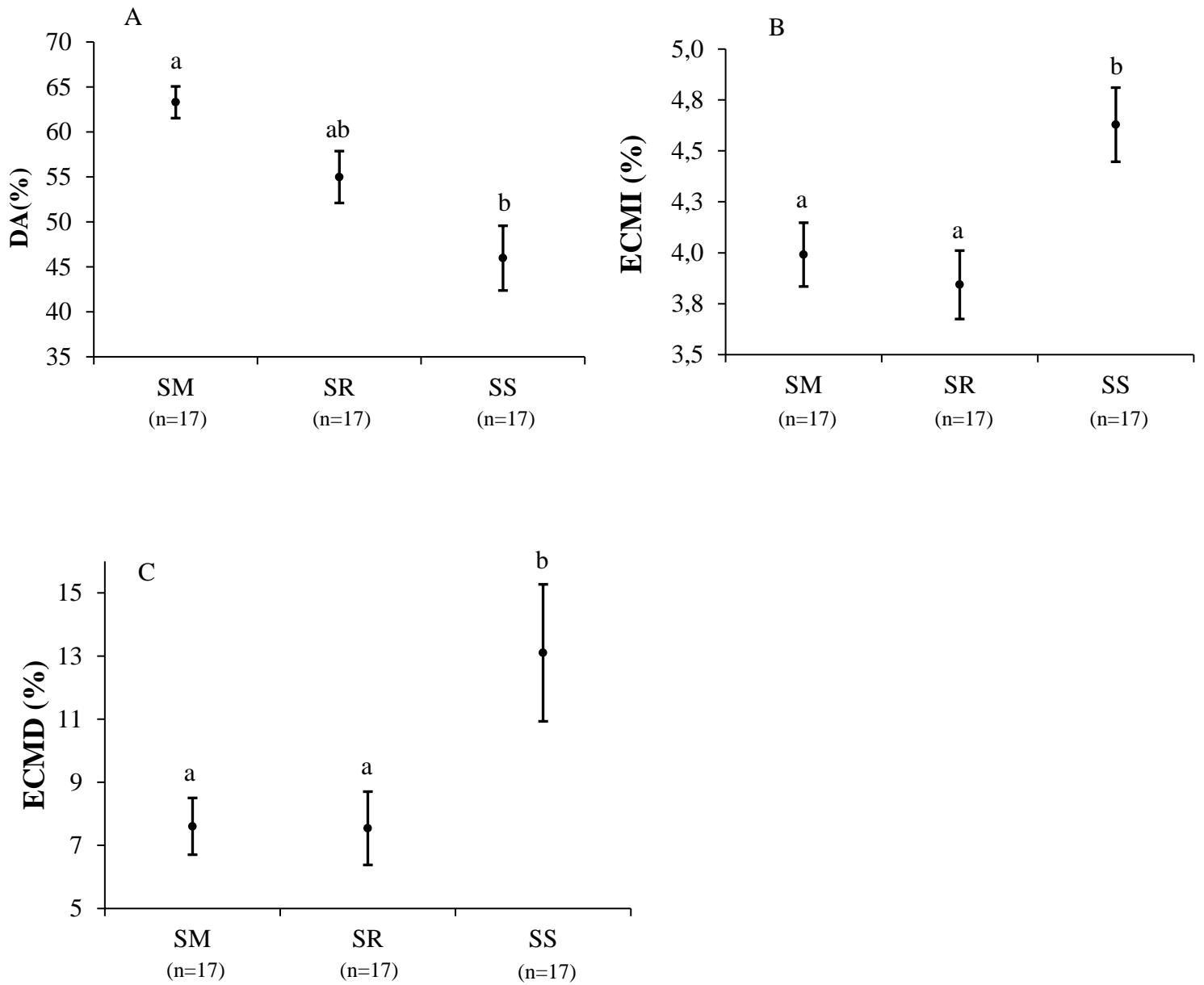


Figura 13. Índices de digestibilidade de larvas no 4º ínstar alimentadas com diferentes espécies de *Solanum*. Pontos representam médias, barras representam erro padrão. Tratamentos com letras diferentes representam diferença significativa. A) DA = Digestibilidade aproximada, B) ECMI = Eficiência de conversão de matéria ingerida, C) ECMD = Eficiência de conversão de matéria digerida. SM = *S. mauritianum*, SR = *S. robustum*, SS = *S. scuticum*.

A taxa de consumo relativo no primeiro ínstar não diferiu entre os tratamentos (ANOVA, $F = 1,72$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,19$) (Fig. 14) (Tab. 5). No segundo ínstar, a taxa de consumo relativo foi maior em larvas alimentadas com *S. scuticum* do que em larvas alimentadas com *S. robustum* (ANOVA, $F = 12,93$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,04 \times 10^{-3}$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0,09 \times 10^{-2}$) e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,01 \times 10^{-2}$). Não houve diferença entre larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,58$). No terceiro ínstar, a taxa de consumo relativo foi maior em larvas alimentadas com *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,03$) e *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,03$) (ANOVA, $F = 4,30$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,01$) comparadas às larvas alimentadas com *S. mauritianum*. Não houve diferença entre larvas alimentadas com *S. scuticum* e *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,90$). No quarto ínstar, não houve diferença na taxa de consumo relativo entre os tratamentos (ANOVA, $F = 1,94$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,16$). No quinto ínstar, as larvas alimentadas com *S. mauritianum* apresentaram taxa de consumo relativo maior que larvas alimentadas com *S. robustum* (ANOVA, $F = 5,01$, $gl=2$, $n = 17$, $p = 0,01$) (Tukey *a posteriori*, $p=0,009$). Não houve diferença entre larvas alimentadas com *S. mauritianum* e *S. scuticum* ($n = 17$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0,11$), nem entre larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,59$) (Fig. 14).

A taxa de crescimento relativo diferiu no primeiro ínstar entre larvas alimentadas com diferentes plantas hospedeiras (ANOVA, $F = 5,11$, $gl = 2$, $n = 17$, $p = 0,009$) (Fig. 15) (Tab. 5). As larvas alimentadas com *S. robustum* apresentaram taxa de crescimento relativo maior do que as larvas alimentadas com *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,02$) e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,01$). Não houve diferença entre larvas alimentadas com *S. mauritianum* e *S. scuticum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,98$). No segundo ínstar, a taxa de crescimento relativo foi maior em larvas alimentadas com *S. scuticum* comparadas às larvas alimentadas com *S. mauritianum* (ANOVA, $F = 4,45$, $gl=2$, $n = 17$, $p = 0,01$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0,02$). Não houve diferença entre larvas alimentadas com *S. scuticum* e *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,06$), nem entre larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,88$). No terceiro ínstar, a taxa de crescimento relativo foi maior em larvas alimentadas com *S. scuticum* comparadas às larvas alimentadas com *S. mauritianum* (ANOVA, $F = 3,86$, $gl = 2$, $p = 0,02$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0,02$). Não houve diferença entre larvas alimentadas com *S. scuticum* e *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,14$), nem entre larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. mauritianum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,72$). No quarto ínstar, não houve diferença na taxa de crescimento relativo entre as larvas alimentadas com as diferentes plantas

hospedeiras (ANOVA, $F = 1,18$, $n = 17$, $p = 0,31$). No quinto ínstar, a taxa de crescimento relativo foi maior em larvas alimentadas com *S. mauritanum* (ANOVA, $F = 4,51$, $gl = 2$, $p = 0,01$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0,03$) e *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p = 0,03$) comparadas às larvas alimentadas com *S. scuticum*. Não houve diferença em taxa de crescimento relativo entre larvas alimentadas com *S. mauritanum* e *S. robustum* (Tukey *a posteriori*, $p=0,99$).

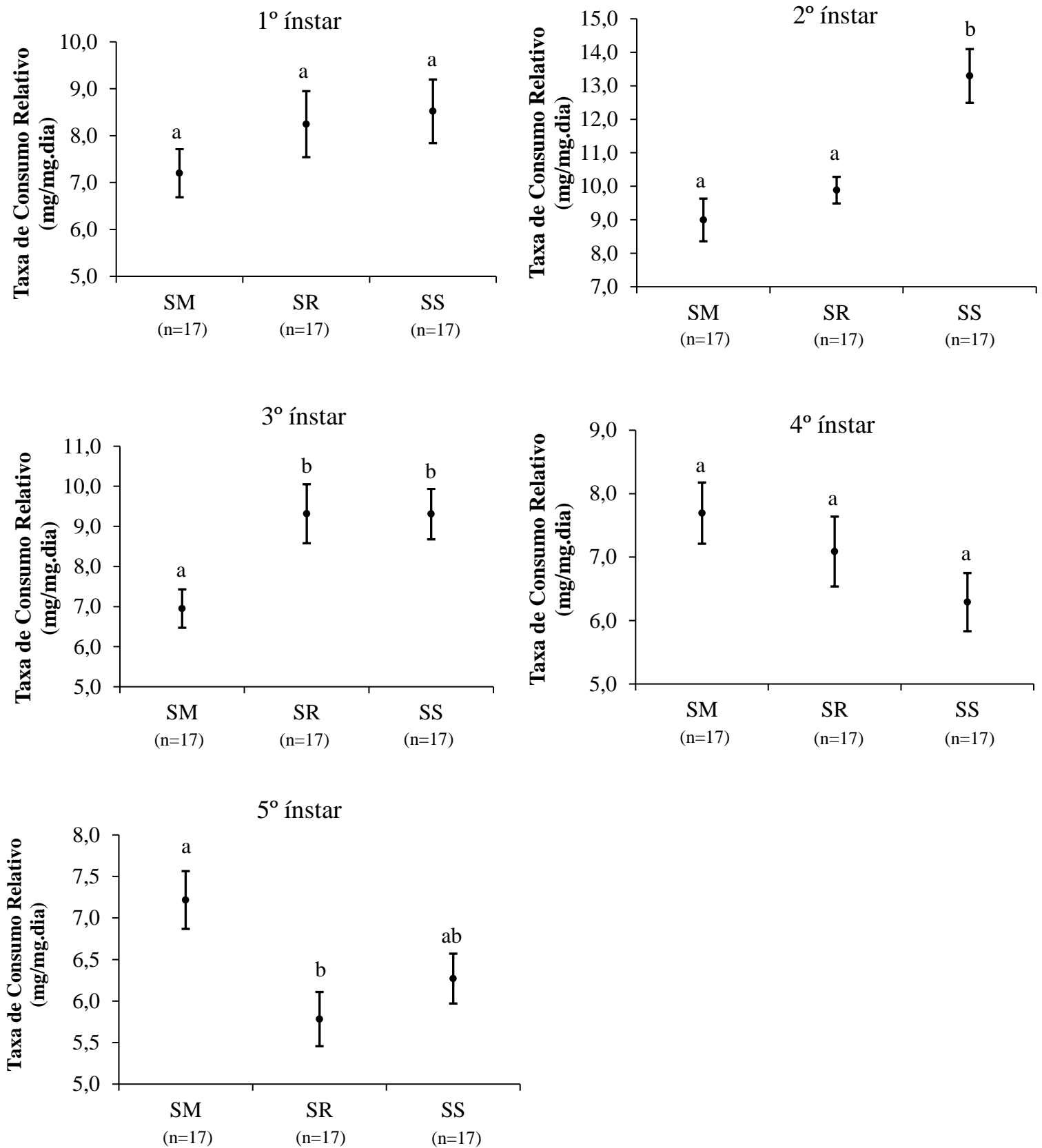


Figura 14. Taxa de consumo relativo de larvas alimentadas com diferentes plantas hospedeiras. Pontos representam médias, barras representam erro padrão. Tratamentos com letras diferentes representam diferença significativa. SM = *S. mauritianum*, SR = *S. robustum*, SS = *S. scuticum*.

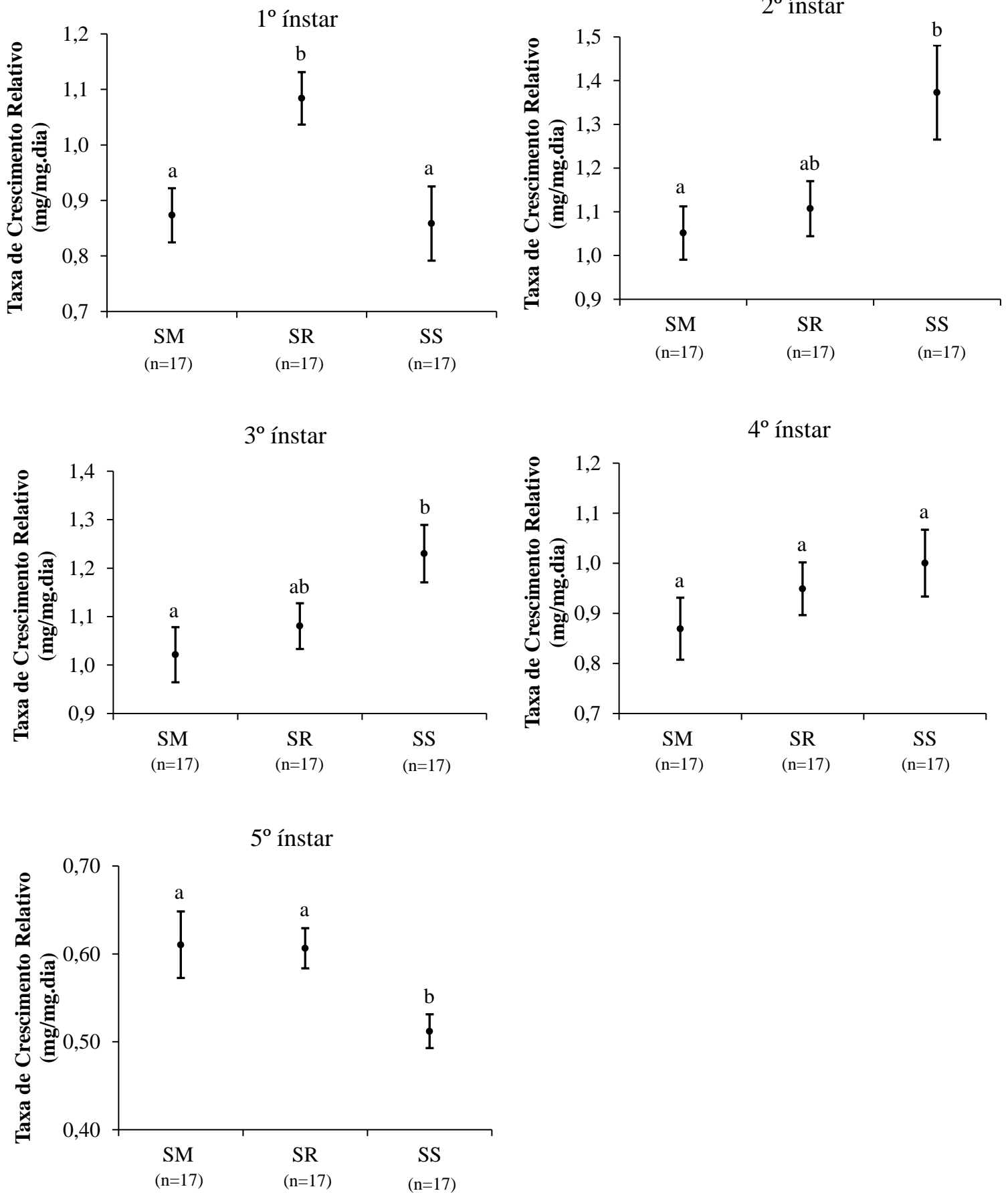


Figura 15. Taxa de crescimento relativo de larvas alimentadas com diferentes plantas hospedeiras. Pontos representam médias, barras representam erro padrão. Tratamentos com letras diferentes representam diferença significativa. SM = *S. mauritianum*, SR = *S. robustum*, SS = *S. scuticum*.

Tabela 5. Performance de larvas, do primeiro ao quinto ínstar, alimentadas com diferentes espécies de Solanaceae (média e erro padrão). SM = *Solanum mauritianum*, SR = *Solanum robustum*, SS = *Solanum scuticum*. Letras diferentes representam diferença significativa, nd = dado não disponível, n = número de oviposições.

| | Planta | 1º ínstar | 2º ínstar | 3º ínstar | 4º ínstar | 5º ínstar | n |
|-------------------------------------------------|--------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----|
| Tempo Desenvolvimento (dias) | SM | 3,1±0,1 ^a | 2,5±0,1 ^a | 2,4±0,2 ^a | 2,3±0,1 ^a | 4,8±0,2 ^a | 13 |
| | SR | 3,2±0,1 ^a | 2,3±0,1 ^a | 2,2±0,1 ^a | 2,0±0,1 ^a | 4,4±0,1 ^{ab} | 13 |
| | SS | 3,1±0,1 ^a | 2,4±0,1 ^a | 2,0±0,1 ^a | 2,2±0,1 ^a | 4,2±0,1 ^b | 13 |
| Mortalidade (132 larvas por planta) | SM | 5 (3,7%) ^a | 7 (5,5%) ^a | 11 (9,1%) ^a | 6 (5,5%) ^a | 21 (20,3%) ^a | 13 |
| | SR | 0 (0%) ^a | 2 (1,5%) ^a | 1 (0,7%) ^b | 2 (1,5%) ^b | 1 (0%) ^b | 13 |
| | SS | 1 (0,7%) ^a | 2 (1,5%) ^a | 3 (2,3%) ^b | 0 (0%) ^b | 3 (2,3%) ^b | 13 |
| Tamanho Cápsula (mm) | SM | 0,530±0,03 ^a | 0,841±0,01 ^{ab} | 1,257±0,018 ^a | 1,782±0,017 ^a | nd | 13 |
| | SR | 0,536±0,03 ^a | 0,827±0,01 ^a | 1,216±0,009 ^a | 1,750±0,011 ^a | nd | 13 |
| | SS | 0,538±0,03 ^a | 0,859±0,01 ^b | 1,241±0,010 ^a | 1,784±0,012 ^a | nd | 13 |
| Peso Seco (mg) | SM | 0,07±0,01 ^a | 0,24±0,01 ^{ab} | 0,96±0,04 ^a | 3,41±0,08 ^a | 10,31±0,55 ^a | 17 |
| | SR | 0,07±0,01 ^a | 0,28±0,01 ^a | 1,08±0,04 ^a | 3,62±0,11 ^{ab} | 13,05±0,67 ^b | 17 |
| | SS | 0,06±0,01 ^a | 0,24±0,01 ^b | 1,01±0,06 ^a | 3,79±0,12 ^b | 13,06±0,57 ^b | 17 |
| Taxa de Consumo Relativo (mg/mg.dia) | SM | 7,20±0,41% ^a | 8,99±0,63% ^a | 6,95±0,47% ^a | 7,69±0,48% ^a | 7,21±0,34% ^a | 17 |
| | SR | 8,24±0,70% ^a | 9,88±0,39% ^a | 9,31±0,73% ^b | 7,08±0,55% ^a | 5,78±0,32% ^b | 17 |
| | SS | 8,51±0,67% ^a | 13,29±0,80% ^b | 9,30±0,63% ^b | 6,29±0,45% ^a | 6,27±0,30% ^{ab} | 17 |
| Taxa de Crescimento Relativo (mg/mg.dia) | SM | 0,87±0,04% ^a | 1,05±0,06% ^a | 1,02±0,05% ^a | 0,86±0,25% ^a | 0,61±0,03% ^a | 17 |
| | SR | 1,08±0,04% ^b | 1,10±0,06% ^{ab} | 1,08±0,04% ^{ab} | 0,94±0,05% ^a | 0,60±0,02% ^a | 17 |
| | SS | 0,85±0,06% ^a | 1,37±0,10% ^b | 1,22±0,05% ^b | 1,00±0,06% ^a | 0,51±0,01% ^b | 17 |

Tabela 6. Peso seco de pupas e adultos (mg), e comprimento alar de adultos (mm) provenientes de larvas alimentadas com diferentes espécies de Solanaceae (média e erro padrão). SM = *Solanum mauritianum*, SR = *Solanum robustum*, SS = *Solanum scuticum*.

| | SM | SR | SS | n |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|----|
| Peso Seco Pupas | 35,50±1,27 ^a | 44,70±0,96 ^b | 38,85±0,78 ^a | 17 |
| Peso Seco Machos | 24,34±1,99 ^a | 32,33±0,93 ^b | 28,97±0,80 ^b | 17 |
| Peso Seco Fêmeas | 30,60±1,70 ^a | 36,83±1,37 ^b | 33,18±1,33 ^{ab} | 17 |
| Comp. Alar Machos | 31,7±0,97 ^a | 34,04±0,36 ^b | 33,5±0,41 ^b | 13 |
| Comp. Alar Fêmeas | 35,0±0,35 ^a | 36,6±0,30 ^b | 35,4±0,20 ^a | 13 |

Tabela 7. Índices de utilização de alimento de larvas no quarto ínstar, alimentadas com diferentes espécies de Solanaceae (média e erro padrão). SM = *Solanum mauritianum*, SR = *Solanum robustum*, SS = *Solanum scuticum*, n = número de oviposições. DA = Digestibilidade Aproximada, ECMI = Eficiência de conversão de matéria ingerida, ECMD = Eficiência de conversão de matéria digerida. Letras diferentes representam diferença significativa.

| Índice | SM | SR | SS | n |
|-------------|------------------------|-------------------------|------------------------|----|
| DA | 63,2±1,7% ^a | 54,9±2,8% ^{ab} | 45,9±3,6% ^b | 17 |
| ECMI | 3,9±0,6% ^a | 3,8±0,6% ^a | 4,6±0,6% ^b | 17 |
| ECMD | 7,6±0,8% ^a | 7,5±1,1% ^a | 13,1±2,1% ^b | 17 |

Discussão

Neste capítulo demonstramos que as fêmeas de *M. polymnia* ovipositam em maior frequência em plantas que conferem um melhor desempenho para as larvas. Nas observações em campo, as fêmeas ovipositaram em maior frequência na planta hospedeira *S. robustum* (n = 42), apesar da maior abundância da planta hospedeira *S. mauritianum* (n = 200) (Fig. 5). A planta *S. scuticum* (n = 6), apesar da baixa ocorrência em campo, recebeu uma oviposição, e no experimento de oviposição recebeu duas oviposições. Talvez as fêmeas, não ovipositem em maior frequência nessa espécie devido à baixa disponibilidade, e conseqüentemente, dificuldade de ser localizada em campo (Williams, 1983). A planta *S. paniculatum* (n = 33) não recebeu nenhuma oviposição durante todo o estudo. Curiosamente, em idas preliminares a campo, observamos ovos e larvas sobre *S. paniculatum*.

A espécie *Mechanitis polymnia* possui algumas características que podem favorecer o surgimento de uma relação positiva entre preferência-performance (Jaenike, 1978; Thompson, 1988; Thompson & Pellmyr, 1991; Mayhew, 1997; Janz, 2002; Gripenberg et al, 2010; Refsnider & Janzen 2010). Primeiro, as larvas têm mobilidade limitada, o que faz com que a escolha de boas plantas hospedeiras seja de crucial importância para a sobrevivência (Thompson, 1988). Segundo, a espécie coloca ovos agrupados, o que torna as fêmeas mais criteriosas, pois a escolha de uma planta errada pode comprometer grande parte do sucesso reprodutivo, comparado às espécies que colocam ovos isolados (Thompson & Pellmyr, 1991; Janz, 2002). Terceiro, os adultos são aposemáticos e impalatáveis, isto faz com que as fêmeas tenham mais tempo durante a inspeção de plantas e oviposição, sem risco de predação (Benson, 1972). Principalmente, em quarto, a espécie é oligófaga, que faz com que as fêmeas sejam atraídas a um restrito grupo de plantas hospedeiras da mesma família, mas com características diferentes entre si suficientes para variarem em qualidade, e serem reconhecidas pelo sistema nervoso do inseto (Bernays, 1998; Janz, 2003; Egan & Funk; 2006; Gripenberg et al., 2010).

Uma relação positiva entre preferência-performance foi observada na espécie *Heliconius erato*, simpátrica a *M. polymnia*. Ramos et al. (2012) demonstraram que as fêmeas têm preferência por ovipositar em *Passiflora capsularis* que conferem melhor desempenho para as larvas. As larvas apresentaram maior comprimento de cápsula cefálica e os adultos apresentaram maior comprimento alar. *P. capsularis* foi preferida em observações em campo e experimentos de oviposição. Neste trabalho, observamos que *M. polymnia* usa em maior frequência *S. robustum* em campo, mas no experimento de oviposição, quando a

disponibilidade de plantas foi igual, não houve diferença significativa, no entanto, as fêmeas pareceram possuir similar atração por ovipositar em *S. robustum* e *S. scuticum*, e aceitar menos *S. mauritianum* (Fig. 6). As plantas hospedeiras que receberam mais oviposições foram *S. robustum* e *S. scuticum*, respectivamente, sendo *S. mauritianum* a planta que recebeu menos oviposições.

Muitos estudos que testaram a hipótese da preferência-performance não encontraram uma relação positiva (Rausher, 1979; Williams, 1983; Schiers *et al.*, 2000; Scheirs, 2002; Keeler & Chew, 2008; Clark *et al.* 2011; Potter *et al.* 2012; König *et al.*, 2016; Moreira *et al.* 2016; Hufnagel *et al.* 2017). Alguns fatores evolutivos e ecológicos têm sido abordados para tentarem explicar a ausência de uma conexão (Thompson 1988; Thompson & Pellmyr, 1991; Mayhew, 1997; Mayhew, 2001; Refsnider & Janzen, 2010). Janz (2002) agrupa as explicações em duas categorias principais: As hipóteses de otimização e as hipóteses de limitação. As hipóteses de otimização sugerem que as fêmeas fazem escolhas corretas para melhorar a aptidão da prole, mas com base em algum parâmetro que não foi medido durante o experimento. Neste caso, fatores ambientais que incidem sobre a prole como condições ambientais, predação, parasitismo e competição intra e interespecífica, podem influenciar a decisão das fêmeas no momento da oviposição e geralmente não são incluídos em estudos sob condições de laboratório. Além disso, os diferentes parâmetros utilizados para avaliar o desempenho larval podem não estar relacionados entre si, o que dificulta a interpretação dos resultados. Por exemplo na espécie *Polygonia c-album* quando as larvas são alimentadas com *Salix caprea* atingem maior tamanho e os adultos têm maior fecundidade, porém quando as larvas são alimentadas com *Urtica dioica* crescem mais rápido e têm maior sobrevivência (Janz *et al.* 1994). As hipóteses de limitação explicam que as fêmeas não escolhem plantas hospedeiras de boa qualidade devido a uma limitação fisiológica ou devido às rápidas mudanças no ambiente que atrapalham a formação de uma conexão entre preferência e performance. Por exemplo, a preferência-performance pode ser ausente em espécies de herbívoros que interagem com novas espécies de plantas (e.g. espécies invasoras) (Keeler & Chew, 2008). Neste caso, a seleção natural poderia levar muitas gerações para eliminar fêmeas que escolhem espécies de plantas novas de qualidade inferior, mas que tenham alguma similaridade química e/ou morfológica com as plantas hospedeiras tipicamente utilizadas (Thompson, 1988; Gippenberg *et al.*, 2010). Larsson & Ekbom (1995) sugerem que essa menor habilidade em reconhecer a planta hospedeira possa ser o primeiro passo para a colonização de novas espécies de plantas. Por último, a relação preferência-performance pode ser ausente quando a qualidade das plantas

hospedeiras varia imprevisivelmente durante a estação reprodutiva do inseto (Cronin *et al.* 2001; Gripenberg *et al.* 2007). As plantas herbáceas são consideradas mais sensíveis às condições ambientais adversas e variam mais em qualidade, quando comparadas a plantas lenhosas. Então, as fêmeas de herbívoros que ovipositam em plantas herbáceas teriam maior dificuldade em acessar a qualidade de suas plantas hospedeiras (Gripenberg, *et al.* 2010).

Além disso, pode haver um conflito entre a mãe e a prole (Scheirs, 2002; Scheirs *et al.*, 2000; Mayhew, 2001; Clark *et al.*, 2011; García-Robledo & Horvitz, 2012). Nestes casos fatores que incidem sobre as fêmeas adultas podem influenciar a escolha do local de oviposição. As fêmeas podem ter uma aptidão maior sendo “egoístas” no momento oviposição, evitando plantas ou locais de plantas hospedeiras de boa qualidade para a prole, mas com alto risco de predação para a mãe, aumentando a longevidade e colocando mais ovos ao longo da vida (Mayhew, 2001; Refsnider & Janzen, 2010; Scheirs *et al.*, 2000; Janz, 2002). Outro exemplo é quando a mãe e a prole alimentam-se do mesmo tecido vegetal, nestes casos as fêmeas podem colocar ovos em plantas as quais preferem se alimentar, e que possibilitam produzirem mais ovos, aumentando sua fecundidade, ao invés de plantas que representam uma maior sobrevivência das larvas (hipótese da mãe má) (Scheirs *et al.*, 2000; Clark *et al.*, 2011).

Neste trabalho o desempenho larval foi melhor nas plantas hospedeiras *S. robustum* e *S. scuticum*. As larvas alimentadas com essas duas espécies apresentaram melhores valores para quase todos os parâmetros utilizados para avaliar o desempenho larval. As larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. scuticum* apresentaram melhor sobrevivência que larvas alimentadas com *S. mauritianum* (93,2% e 92,4% vs 59,1%, respectivamente). Em termos de aptidão relativa, devido a maior mortalidade, as larvas de *S. mauritianum* têm apenas 63,7% da aptidão das larvas alimentadas em *S. robustum* e *S. scuticum*. A massa corporal dos machos foi maior quando provenientes de *S. robustum* (24,7% maior) e *S. scuticum* (15,9% maior) quando comparados a machos provenientes de *S. mauritianum*. Do mesmo modo, as fêmeas atingiram maior massa corporal quando as larvas foram alimentadas com *S. robustum* (16,4% maior) e *S. scuticum* (7,8% maior) quando às comparadas as alimentadas com *S. mauritianum*. O tempo de desenvolvimento diferiu estatisticamente somente no quinto ínstar. No entanto, graficamente podemos notar (Fig. 7) que a partir do segundo ínstar, as larvas alimentadas em *S. mauritianum* sempre levaram mais tempo para completar o ínstar.

Um longo tempo de desenvolvimento associado à alta mortalidade são uns dos principais efeitos de plantas hospedeiras de má qualidade para a prole (Willams, 1999; Chen &

Chen, 2018). De acordo com a hipótese “lento crescimento, alta mortalidade” um prolongado estágio larval em insetos herbívoros aumenta a chance de mortalidade por inimigos naturais (Clancy & Price, 1987). Benrey & Denno, 1997 demonstraram que as larvas de *Pieris rapae* sofrem mais ataques da vespa parasitoide *Cotesia glomerata* quando há um atraso no desenvolvimento, causado por uma dieta artificial pobre em proteínas ou em baixa temperatura (18° C). As larvas de *P. rapae* são mais suscetíveis a morrerem por parasitismo no primeiro e segundo ínstar, uma vez que a partir do terceiro ínstar elas possuem maior capacidade de se defenderem e de encapsularem ovos e larvas de parasitoides, isto é conhecido como janela de vulnerabilidade (Smith & Smilowitz, 1976; Van Driesche & Bellows, 1988; Brodeur & Vet, 1995). Em *M. polymnia* o tempo de desenvolvimento foi igual em larvas alimentadas com as três espécies de plantas hospedeiras até o quarto ínstar, no quinto ínstar o tempo de desenvolvimento de larvas alimentadas com *S. mauritianum* foi maior do que em larvas alimentadas com *S. scuticum*. Apesar do experimento ter sido realizado em condições controladas de laboratório e não ter sido analisado o efeito de predadores e parasitoides, em condições naturais as larvas que se alimentam de *S. mauritianum* poderiam experimentar uma maior mortalidade associada a predação e parasitismo, ou, de modo contrário, as larvas de quinto instar poderiam ser eficientes na defesa contra inimigos naturais.

As larvas alimentadas com *S. scuticum* apresentaram menores valores de digestibilidade aproximada e maiores valores de eficiência de conversão de matéria ingerida e digerida. Isso significa que apesar da baixa digestibilidade, as larvas que foram alimentadas com essa espécie de planta hospedeira conseguiram converter o alimento em massa corporal com maior eficiência. Inversamente, as larvas que foram alimentadas com *S. mauritianum* apresentaram maiores valores de digestibilidade aproximada e baixos valores de eficiência de conversão de matéria ingerida e digerida. Neste caso, apesar da maior facilidade em digerir *S. mauritianum*, as larvas apresentaram uma baixa capacidade de transformar o alimento em massa corporal, e consequentemente apresentaram de um modo geral, menores valores de peso seco e de taxa de crescimento. Essa relação inversa entre digestibilidade aproximada e eficiência de conversão de matéria digerida não é muito frequente na literatura, no entanto há autores que encontraram resultados similares (Soo Hoo & Fraenkel, 1966; Sheppard & Friedman, 1990; Martin & Pulin, 2004; Hemati *et al.*, 2012; Golikhajeh *et al.*, 2016). Walbauer (1968) argumenta que a alta digestibilidade aproximada pode ser uma adaptação para compensar a baixa eficiência de conversão de matéria digerida resultando em um moderado equilíbrio nutricional.

A taxa de consumo relativo foi menor em larvas alimentadas com *S. mauritianum* no segundo e terceiro ínstar em comparação com larvas alimentadas com *S. scuticum*. No quarto ínstar não houve diferença e no quinto ínstar ocorre uma inversão, a taxa de consumo relativo foi maior em larvas alimentadas com *S. mauritianum* que em larvas alimentadas com *S. robustum* e *S. scuticum*. A taxa de crescimento seguiu o mesmo padrão, no segundo e terceiro ínstar as larvas alimentadas com *S. mauritianum* apresentaram taxa de crescimento menor que larvas alimentadas com *S. scuticum*. No quarto ínstar não houve diferença, e no quinto ínstar houve uma inversão, as larvas alimentadas com *S. mauritianum* e *S. robustum*, apresentaram taxa de crescimento maior que larvas alimentadas com *S. scuticum*. É possível que as larvas alimentadas com *S. mauritianum* levem mais tempo para empupar, e permaneçam se alimentando para compensar o baixo consumo de alimento nos instares anteriores. Entretanto, o quinto ínstar é fase que ocorre a maior mortalidade em *S. mauritianum* (20.3%), provavelmente devido a maior ingestão de compostos secundários de defesa da planta, mas que resulta em uma maior taxa de crescimento relativo das larvas que sobrevivem.

Nesse trabalho demonstramos que as fêmeas de *M. polymnia* usam em maior frequência as plantas hospedeiras em que as larvas têm melhor desenvolvimento, nesse caso *S. robustum* e *S. scuticum*, e ovipõem menos na planta hospedeira *S. mauritianum* que representa maior mortalidade das larvas, apesar de sua maior ocorrência em campo. Desde modo, entendemos que os resultados apresentados constituem uma evidência que corrobora a hipótese da preferência-performance.

Capítulo 3

Ajuste de tamanho de oviposição, reconhecimento de oviposição prévia e efeito de densidade larval em *Mechanitis polymnia* (Nymphalidae, Danainae)

Resumo

Em espécies de herbívoros com oviposição agrupada, a decisão das fêmeas de quantos ovos colocar sobre a planta hospedeira causa custos e benefícios à performance da prole. Por exemplo, em oviposições com grande número de ovos pode haver o custo da competição por alimento e o benefício na facilitação de alimentação, ou defesa contra predadores e parasitoides. Os objetivos do presente estudo foi avaliar se as fêmeas da borboleta *M. polymnia* ajustam o tamanho da oviposição de acordo com o porte da planta hospedeira, e se larvas criadas em diferentes densidades apresentam diferenças em performance. Adicionalmente, avaliamos se as fêmeas são capazes de reconhecer a presença de ovos prévios sobre as plantas hospedeiras. Avaliamos se as fêmeas ajustam o tamanho da oviposição de acordo com o porte da planta hospedeira por meio de observações em campo, onde buscamos analisar se havia uma relação entre a área foliar total da planta e o número de ovos presentes. Para avaliar a performance, criamos larvas solitárias, e em grupos de dois, cinco e dez indivíduos. Em cada tratamento, analisamos a sobrevivência, tempo de desenvolvimento, comprimento da cápsula cefálica e comprimento alar dos adultos. Para avaliar se as fêmeas reconhecem a presença de ovos, realizamos dois experimentos em campo: 1) o primeiro consistiu de blocos experimentais com uma planta hospedeira contendo ovos artificiais versus planta controle, 2) o segundo consistiu de blocos experimentais de uma planta hospedeira contendo ovos naturais e uma planta controle. Registramos qual tratamento recebeu mais oviposições. As fêmeas colocaram ovos em uma relação positiva com a área foliar da planta hospedeira, plantas maiores recebem mais ovos que plantas menores. A mortalidade foi igual em larvas criadas em diferentes grupos, no entanto, larvas solitárias levaram mais tempo para empupar em comparação a larvas criadas em grupos de dez indivíduos. O comprimento da cápsula cefálica das larvas e comprimento alar das fêmeas foi menor em larvas criadas solitárias em comparação a larvas criadas em grupos de dez indivíduos. As fêmeas de *M. polymnia* ovipositaram preferencialmente em plantas sem ovos prévios, as plantas com ovos artificiais e naturais não receberam nenhuma oviposição. As fêmeas de *M. polymnia* ajustam o tamanho da oviposição e evitam plantas com ovos prévios,

possivelmente como um modo de diminuir a competição entre larvas por alimento. As larvas em grupos maiores tiveram melhor performance, talvez devido a facilitação em superar barreiras físicas da planta hospedeira, como tricomas.

Abstract

In herbivore species with gregarious oviposition, the decision of females of how many eggs to lay on the host plant implies costs and benefits to offspring performance. In ovipositions with large number of eggs there are the cost competition for food and the benefit of feeding facilitation, or defence against predators and parasitoids. The objectives of this study were to evaluate whether females of the butterfly *M. polymnia* adjust the clutch size according to the host plant size, and whether larvae reared in different densities present differences in performance. Additionally, we evaluate whether females are able to recognize the presence of a previous oviposition on a host plant. We evaluated whether females adjust the clutch size according to host plant size through field observations, we analyzed the relation between the number of eggs present on a host plant and the total leaf area. To evaluate larval performance, we reared larvae singly, and in groups of two, five and ten individuals. In each treatment, we analyzed the larval mortality, development time, head capsule length and adult wing length. In order to evaluate whether females recognize the presence of eggs, we performed two experiments in the field: 1) the first consisted of experimental blocks containing a host plant with artificial eggs versus a control plant, 2) the second experiment consisted of experimental blocks containing a host plant with natural eggs and a control plant. We recorded which treatment received most ovipositions. The females laid eggs in positive relation with foliar area of host plant, larger plants had more eggs than smaller plants. Mortality was the same in larvae reared in different groups; however, solitary larvae took longer to reach pupal stage compared to larvae reared in groups of ten individuals. The larval capsule length of larvae and wing length of females was lower in larvae raised singly compared to larvae reared in groups of ten individuals. Females of *M. polymnia* oviposited preferentially in plants without previous eggs and the plants with artificial and natural eggs did not receive any oviposition. Females of *M. polymnia* are able to adjust the clutch size and avoid plants with previous eggs, probably as a way to reduce larval competition for food. Larger group of larvae had better performance, maybe due to facilitation in overcome physical barriers of host plant, as trichomes.

Introdução

Em algumas espécies de borboletas as fêmeas colocam ovos agrupados sobre as plantas hospedeiras. Estima-se que menos de 10% das espécies apresentem este comportamento (Stamp, 1980). Há uma discussão na literatura sobre os motivos pelos quais algumas espécies colocam ovos agrupados e outras espécies colocam ovos isolados (Chew & Robbins, 1984; Courtney, 1984; Vasconcellos-Neto, 1991; Janz, 2002).

Têm sido apontados muitos fatores que podem levar a agregação de ovos, a maioria possui uma visão adaptacionista, que envolve custos e benefícios deste comportamento (Prokopy & Roitberg, 2001; Inouye & Johnson, 2005; Wise *et al.* 2006; Kawasaki *et al.*, 2009). O principal custo é a intensificação da competição intraespecífica de larvas por alimento, e como consequência, maior risco de morte por inanição, maior tempo de desenvolvimento e exposição a predadores devido à busca por novas plantas hospedeiras. Contudo, os benefícios devem superar os custos nas espécies que agregam seus ovos (Clark & Faeth, 1998; Krause & Ruxton 2002; Reader & Hochuli, 2003). Larvas aposemáticas que se alimentam em grupos podem beneficiarem-se de uma maior proteção devido a maior intensidade do sinal de alerta a predadores (Fisher, 1930; Campbell & Stastny 2015; Sillén-Tullberg, 1998), e larvas camufladas têm uma menor probabilidade de serem atacadas caso sejam encontradas por um predador ou parasitoide, devido ao efeito de diluição ou defesa em grupo (Stamp & Bowers, 1988; Hunter, 2000; Tullberg *et al.*, 2000). As condições microclimáticas podem ser melhores em locais onde larvas que se alimentam em grupos em comparação a larvas que se alimentam isoladas. Por isso, larvas em grupos podem experimentar um tempo de desenvolvimento mais rápido (Seymour, 1974; Casey *et al.* 1988; Ronnås *et al.* 2010). Apesar dos benefícios, não se sabe se estes são a causa ou a consequência do comportamento gregário.

Alguns autores argumentam que fatores não adaptativos poderiam levar ao agrupamento de ovos. Courtney (1984) sugere que o agrupamento de ovos pode ser resultado da seleção natural para maior fecundidade de fêmeas. Em seu trabalho, Courtney (1984) apresenta uma tabela com valores de fecundidade de fêmeas de várias espécies de insetos, onde as espécies com valores baixos de fecundidade colocam ovos isolados e as espécies com valores altos de fecundidade colocam ovos agrupados. Hebert (1983) argumentou que o agrupamento de ovos é uma consequência de limitações energéticas das fêmeas. Ele encontrou uma alta correlação entre espécies de lepidópteros que agrupam ovos e fêmeas adultas que não se alimentam.

Algumas espécies de insetos possuem a capacidade de ajustar a quantidade de ovos postos sobre o hospedeiro. As fêmeas da borboleta *M. lysimnia* (Lepidoptera, Nymphalidae)

ajustam a quantidade de ovos de acordo com o porte da planta hospedeira, plantas menores recebem menos ovos que plantas maiores (Vasconcellos-Neto & Monteiro, 1993). Na borboleta *Pieris rapae* (Lepidoptera, Pieridae) as fêmeas colocam mais ovos nas plantas hospedeiras que conferem uma melhor performance larval (com maior concentração de nitrogênio) e menos ovos em plantas de pior qualidade nutricional (Cahenzi *et al.*, 2015). As fêmeas da vespa parasitóide *Goniozus nephantidis* (Hymenoptera, Bethyridae) ajustam a quantidade de ovos sobre larvas de lepidópteros em uma relação positiva com peso da larva hospedeira, e em uma relação negativa, quando há presença de fêmeas competidoras no ambiente, nesta situação produzem ovos maiores que geram descendentes de maior tamanho corporal e possuem maior probabilidade de vencer disputas futuras por hospedeiros (efeitos maternos ou transgeracionais) (Hardy *et al.* 1992; Goubault *et al.* 2007).

Os custos da competição intraespecífica ou canibalismo são diminuídos quando as fêmeas inspecionam a planta hospedeira antes de por seus ovos e evitam plantas ou partes de plantas que possuem uma oviposição prévia (Benson, 1978; Vasconcellos-Neto & Monteiro, 1993). No entanto, algumas espécies preferem ovipositar em plantas que já possuem ovos prévios; nestes casos os benefícios superam os custos, como por exemplo na presença de plantas hospedeiras de boa qualidade, quando há maior eficiência na defesa contra predadores, e quando há facilitação de alimentação (Campbell & Stastny 2015; Lima & Zuben, 2016). Durante a inspeção o reconhecimento de ovos prévios ocorre por meio de sinais visuais e/ou olfativos, neste caso, as fêmeas depositam substâncias marcadoras que repelem fêmeas da mesma espécie (Nomakuchi *et al.*, 2001).

As fêmeas da borboleta *Mechanitis polymnia* colocam ovos agrupados sobre plantas hospedeiras da família Solanaceae. Durante idas a campo, observamos uma grande variação na quantidade de ovos por oviposição e raramente mais de uma oviposição por planta hospedeira. Em vista dessas observações nós formulamos os objetivos deste capítulo que foram: 1) avaliar se as fêmeas de *M. polymnia* ajustam a quantidade de ovos postos por oviposição de acordo com o porte da planta hospedeira, 2) avaliar o efeito da densidade sobre a performance larval, 3) avaliar se as fêmeas evitam ovipositar na presença de ovos prévios.

Material e Métodos

Área de Estudo

Realizamos o estudo em floresta de Mata Atlântica situada na Serra do Japi ($23^{\circ}14'S$; $46^{\circ}56'W$), na cidade de Jundiaí-SP. A Serra do Japi possui uma área de 35,400 ha, onde predomina vegetação mesófila semi-decídua bem preservada (Leitão-Filho 1992; Morellato 1992). A altitude da área estudada é entre 800 m e 1100 m, em outras partes da serra fica entre 700 m e 1300 m. A temperatura média anual varia de $15,7^{\circ}C$ a $19,2^{\circ}C$, no inverno a temperatura média varia de $11,8^{\circ}C$ a $15,3^{\circ}C$ e no verão a temperatura média varia $18,4^{\circ}C$ a $22,2^{\circ}C$. A estação chuvosa ocorre de setembro a março e a estação seca ocorre de abril a agosto, a precipitação média anual é em torno de 1500 mm (Pinto, 1992). Nesta localidade realizamos o estudo de ajuste de oviposição e experimento de oviposição com ovos naturais.

A segunda área foi a Reserva Municipal de Santa Genebra ($22^{\circ} 49'S$, $47^{\circ} 06'W$), Campinas-SP é um fragmento de 250 ha de vegetação de Mata Atlântica perturbada, cercada por residências e plantações. A altitude é de 600 m. A temperatura média anual é de $21,4^{\circ}C$, e a precipitação média anual é em torno de 1372 mm (Pinto, 1992). O clima nas duas regiões é tropical de altitude (Cwa), com uma estação chuvosa (outubro a março) e uma estação seca (abril a setembro). Nesta localidade realizamos o experimento de oviposição com ovos artificiais.

Reconhecimento de oviposição

Para sabermos se as fêmeas de *M. polymnia* reconhecem a presença de oviposição prévia sobre a planta hospedeira, realizamos dois experimentos. Um envolveu a presença de ovos naturais e outro a presença de ovos artificiais. O experimento com ovos artificiais ocorreu de 16 de março de 2013 a 27 de maio de 2013, e 12 janeiro de 2014 a 25 de abril de 2014. O experimento com ovos naturais ocorreu de 27 de abril de 2015 a 13 de maio de 2015.

Realizamos um experimento de oviposição com ovos naturais aproveitando as plantas hospedeiras com ovos do experimento de oviposição do capítulo 2. Cada bloco experimental consistiu de um par de plantas hospedeiras da mesma espécie, sendo uma planta com ovos naturais e outra sem ovos. Registramos em qual tratamento as fêmeas colocaram ovos.

Utilizamos um par de *Solanum mauritianum*, quatro pares de *Solanum robustum* e dois pares de *Solanum scuticum*. Cada par permaneceu distante um do outro entre 50 m a 100 m em linha reta e foram dispostos em posições aleatorizadas. Agrupamos as plantas com aproximadamente a mesma altura e quantidade de folhas, para evitar que esses fatores interferissem no momento da escolha da fêmea.

Realizamos um experimento de oviposição com ovos artificiais. Utilizamos plantas hospedeiras da espécie *S. mauritianum*, adquiridas comercialmente como mudas (www.compremudas.com.br) e colocadas em vasos plásticos de 10L contendo húmus e fertilizante (Marca UltraVerde 10-10-10). Quando atingiram entre 50 cm a 60 cm de altura, que durou por volta de um ano, utilizamos no experimento. Confeccionamos os ovos artificiais com linha (Corrente 10, branca) e esmalte incolor. Pincelamos esmalte incolor sobre um fio de linha de aproximadamente 15 cm sobre uma folha de papel, esperamos secar e cortamos a linha em um tamanho aproximado ao tamanho dos ovos naturais de *M. polynnia*. Posteriormente, fixamos cerca de 30 ovos artificiais sobre as folhas de *S. mauritianum* com esmalte incolor. Colocamos 45 pares de plantas hospedeiras em campo, em blocos, sendo uma planta com ovos artificiais e outra planta sem ovos (mas pinceladas com esmalte incolor como controle). Cada par permaneceu distante um do outro entre 50 m e 100 m em linha reta. Agrupamos as plantas com aproximadamente a mesma altura e quantidade de folhas. Em ambos os experimentos realizamos observações diárias, em que registramos em qual tratamento as fêmeas colocaram ovos.

Ajuste na quantidade de ovos

Realizamos observações em campo a cada quinze dias, de fevereiro a maio de 2013, observamos um total de 32 oviposições em *S. mauritianum* e 35 em *S. robustum*. Para sabermos se as fêmeas de *M. polynnia* ajustam a quantidade de ovos de acordo com a área foliar da planta hospedeira, contamos o número de ovos presentes em plantas hospedeiras que cresciam naturalmente em campo e calculamos as áreas foliares das plantas. Posteriormente, fizemos uma regressão linear entre número de ovos e área foliar para cada espécie de planta hospedeira. Deste modo, buscamos entender se em plantas com pouca área foliar as fêmeas colocam poucos ovos e em plantas com muita área foliar as fêmeas colocam muitos ovos, ou se não existe qualquer relação.

Para facilitar o cálculo das áreas foliares, coletamos 30 folhas de diferentes tamanhos de cada espécie de planta hospedeira, posteriormente medimos o comprimento, da base ao ápice, e digitalizamos as folhas. Obtivemos as áreas das folhas digitalizadas com o uso do programa ImageJ (Rasband, 2016), depois realizamos uma correlação entre o comprimento e a área foliar para cada espécie de planta hospedeira. Resultando para *S. mauritianum* um valor de $R^2=96,07\%$, equação de reta $Y=9.4212x - 61.878$ e $p<0.01$. Para *S. robustum* resultou em um valor de $R^2=96.13\%$, equação de reta $Y=14.835x - 105.74$ e $p<0.01$. Por meio da equação da reta pudemos calcular a área foliar sem a necessidade de digitalizar as folhas, substituindo o x da equação pelo valor do comprimento das folhas medidas em campo e resolvendo a equação.

Performance larval em diferentes densidades

Criamos as larvas em caixas plásticas de 12 L com pequenos furos na tampa para possibilitar a ventilação, mas evitar que escapassem. Coletamos ovos em campo e dividimos as larvas recém eclodidas em tratamentos com uma larva, duas larvas, cinco larvas e dez larvas. Utilizamos 30 larvas em cada tratamento, provenientes de três a oito oviposições. Consideramos cada oviposição uma amostra independente. Quando as larvas eclodiram, as colocamos sobre folhas frescas de *S. scuticum*, com o pecíolo inserido em um pequeno pote plástico com água para evitar que desidratassem. Oferecemos folhas frescas sempre que necessário. Mantivemos as larvas em laboratório sob condições controladas em temperatura de $\pm 25^\circ \text{C}$, e luminosidade de 12h dia e 12h noite. Registramos do primeiro ínstar até adulto, o tempo de desenvolvimento, a mortalidade, o comprimento da cápsula cefálica (até o quarto ínstar, pois no quinto ínstar as cápsulas saem quebradas), e o comprimento alar dos adultos.

Análise de dados

Analisamos se as fêmeas de *M. polymnia* ajustam a quantidade de ovos colocados em função da área foliar das plantas hospedeiras por meio da Regressão Linear Simples. Analisamos o tempo de desenvolvimento com o teste ANOVA Um Fator (Tukey *a posteriori*) e o comprimento da cápsula cefálica por meio do Teste de Kruskal-Wallis (Dunn *a posteriori*), e o comprimento alar dos adultos por meio de ANOVA Um Fator. Analisamos a mortalidade

larval por meio do Teste Exato Multinomial. Nós desenvolvemos todas as análises com auxílio do programa R (R Core Team 2015).

Resultados

Reconhecimento de oviposição

No experimento com ovos naturais, dos sete pares de plantas, três receberam oviposições, todos em plantas sem ovos (*S. scuticum* = 1, *S. robustum* = 2). Dos 45 pares de plantas com ovos artificiais, cinco receberam oviposições, todos em plantas sem ovos.

Ajuste na quantidade de ovos

Houve relação positiva entre o número de ovos colocados e a área foliar em *S. mauritianum* (regressão linear, $R^2_{\text{ajustado}} = 35.89$, $p = 0.01 \times 10^{-2}$, $y = 0.682x - 0.6928$, $n=32$) e *S. robustum* (regressão linear, $R^2_{\text{ajustado}} = 58.63$, $p = 0.01 \times 10^{-8}$, $y = 0.8104x - 1.0875$, $n = 35$) (Figura 16). As fêmeas de *M. polymnia* colocaram menos ovos em plantas com menor área foliar e mais ovos em plantas com maior área foliar. O número de ovos encontrados em uma planta hospedeira variou entre dois e 52, com média e desvio padrão de 23.7 ± 13.2 .

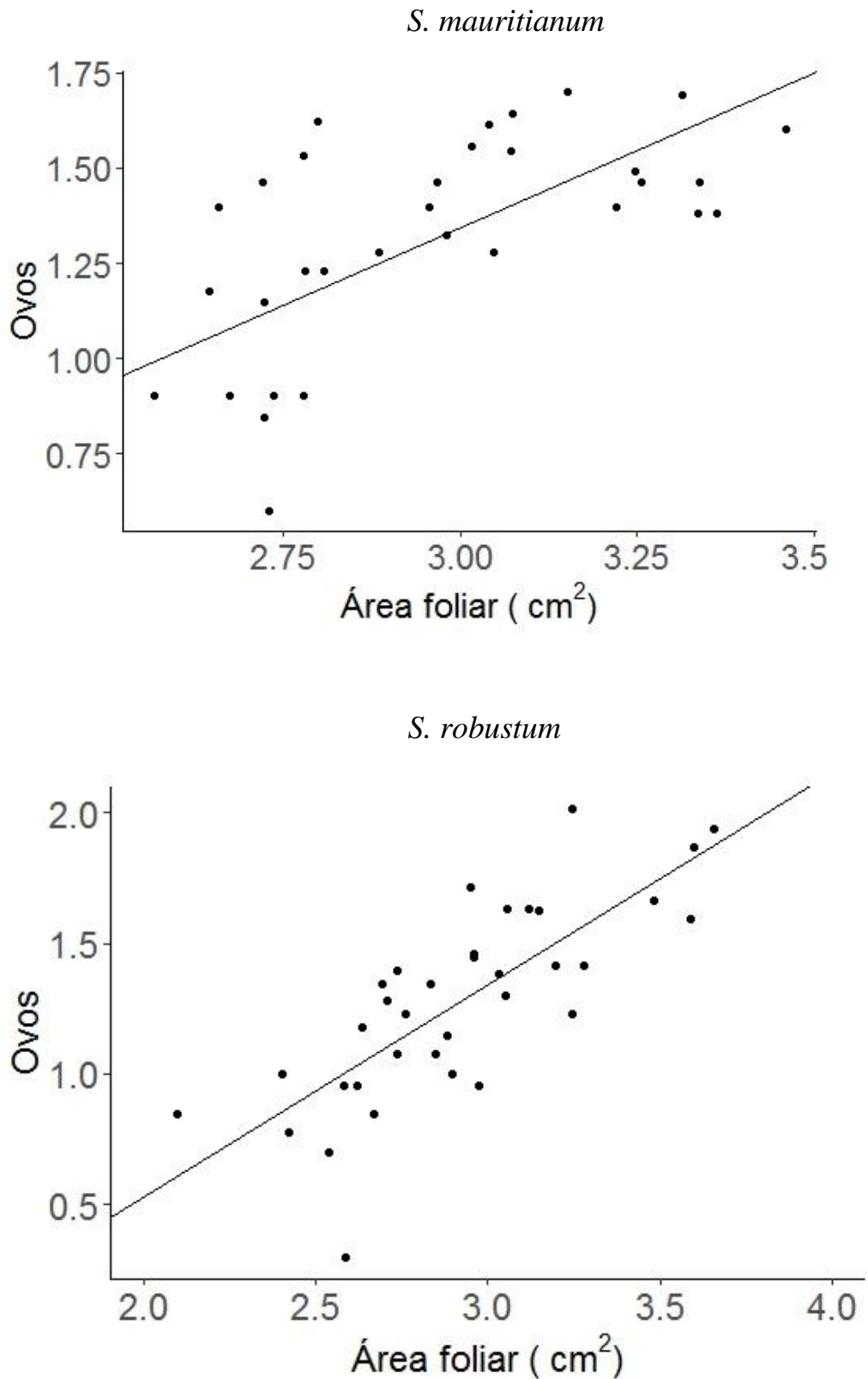


Figura 16. Relação entre área foliar e quantidade de ovos colocados por fêmeas de *M. polymnia* nas plantas hospedeiras *S. mauritianum* ($R^2_{\text{ajustado}} = 35.89$, $p=0.01 \times 10^{-2}$, $y=0.682x - 0.6928$, $n=32$) e *S. robustum* ($R^2_{\text{ajustado}} = 58.63$, $p<0.01 \times 10^{-8}$, $y=0.8104x - 1.0875$, $n=35$). Área foliar e ovos foram Log_{10} transformados.

Performance larval

A mortalidade não diferiu entre as larvas criadas em diferentes densidades (uma larva = 2, duas larvas = 1, cinco larvas = 4, dez larvas = 6) (Teste Exato Multinomial, $p = 0.40$). O tempo de desenvolvimento total (do primeiro ínstar à adulto) diferiu entre as larvas criadas em diferentes densidades (ANOVA, $F = 3.87$, $gl = 3$, $p = 0.02$). O tempo de desenvolvimento foi maior no tratamento com uma larva (23.5 ± 0.7) em comparação aos tratamentos com cinco (20.6 ± 0.8) (Tukey *a posteriori*, $p = 0.006$) e dez larvas (20.1 ± 1.2) (Tukey *a posteriori*, $p = 0.005$) (dias, média e erro padrão) (Fig. 17). Não houve diferença de tempo de desenvolvimento entre os tratamentos com uma larva e duas larvas (22.5 ± 1.9) (Tukey *a posteriori*, $p = 0.25$), com duas larvas e cinco larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.038$), e com cinco larvas e dez larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.32$).

Quando analisado em cada ínstar, não houve diferença de tempo de desenvolvimento entre os tratamentos do primeiro ao quarto ínstar (Tab. 8) (primeiro: ANOVA, $F = 0.10$, $gl = 3$, $p = 0.95$) (segundo: ANOVA, $F = 1.60$, $gl = 3$, $p = 0.21$) (terceiro: ANOVA, $F = 2.66$, $gl = 3$, $p = 0.06$) (quarto: ANOVA, $F = 1.75$, $gl = 3$, $p = 0.18$). No quinto ínstar houve diferença no tempo de desenvolvimento entre os tratamentos (ANOVA, $F = 4.15$, $gl = 3$, $p = 0.01$). O grupo com duas larvas durou mais tempo que o grupo com dez larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.01$). Não houve diferença no tempo de desenvolvimento entre os tratamentos com uma larva e duas larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.14$), com uma larva e cinco larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.94$), com uma larva e dez larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.24$), com duas larvas e cinco larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.56$), e com cinco larvas e dez larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.18$). Não houve diferença em tempo de desenvolvimento de pupa a adulto entre os tratamentos (uma larva, 8.1 ± 0.2 ; duas larvas, 7.5 ± 0.2 ; cinco larvas, 7.2 ± 0.2 ; dez larvas, 7.6 ± 0.3) (ANOVA, $F = 2.13$, $gl = 3$, $p = 0.15$) (Fig. 18).

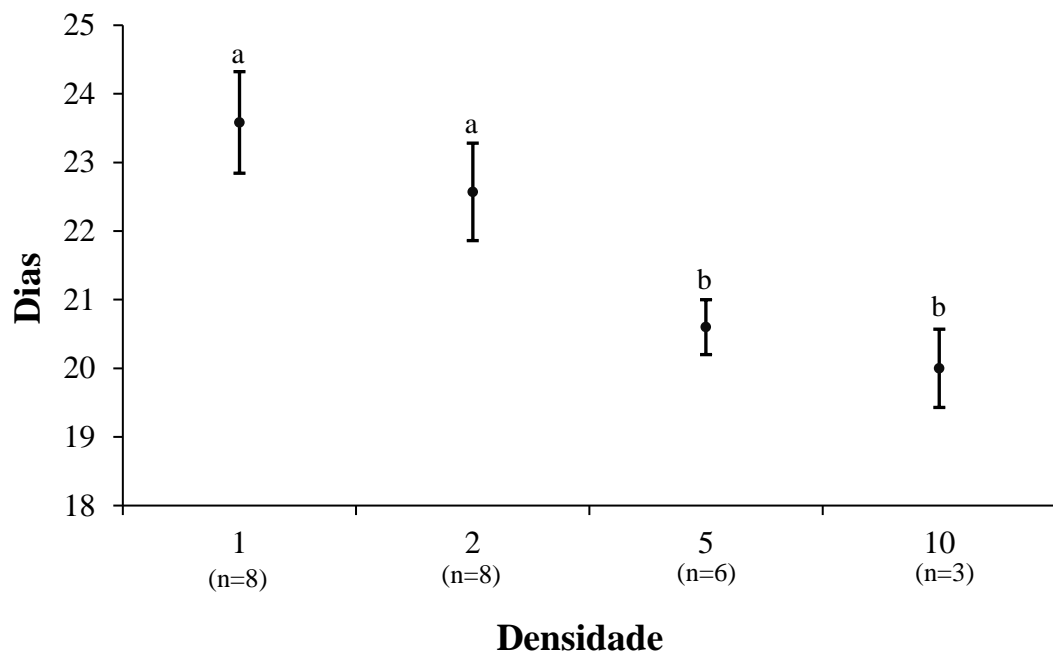


Figura 17. Tempo de desenvolvimento do primeiro ínstar à adulto de larvas criadas em diferentes densidades. Dados obtidos de um total de 30 larvas por tratamento provenientes de 3 a 8 oviposições. Letras diferentes representam diferença significativa. Pontos representam médias e barras representam erro padrão.

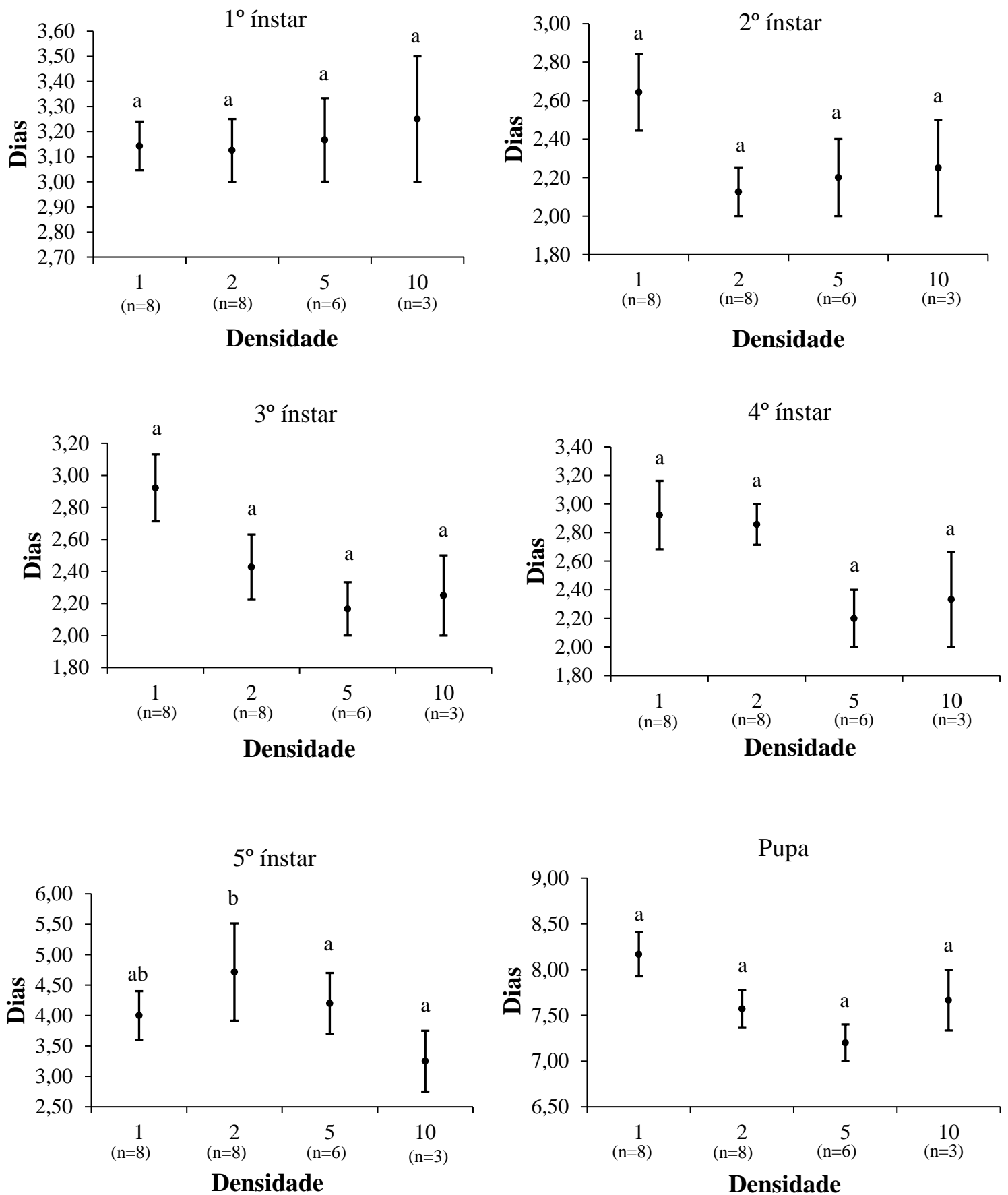


Figura 18: Tempo de desenvolvimento em cada ínstar de larvas criadas em diferentes densidades. Dados obtidos de um total de 30 larvas por tratamento provenientes de 3 a 8 oviposições. Pontos representam as médias e barras representam erro padrão. Letras diferentes representam diferença significativa.

O tamanho da cápsula cefálica não diferiu entre larvas de primeiro ínstar (Kruskal-Wallis, $H = 6.67$, $p = 0.08$) (Tab. 8). No segundo ínstar houve diferença entre os diferentes grupos de larvas (Kruskal-Wallis, $H = 8.49$, $p = 0.03$). O tamanho da cápsula cefálica foi menor no tratamento com uma larva em comparação aos tratamentos com duas larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.01$), com cinco larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.02$), e com dez larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.003$). Não houve diferença entre os tratamentos com duas larvas e cinco larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.34$), com duas larvas e dez larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.31$), e com cinco larvas e dez larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.18$). No terceiro ínstar o tamanho da cápsula cefálica foi maior no tratamento com dez larvas em comparação aos tratamentos com uma larva (Kruskal-Wallis, $H = 11.48$, $p = 0.009$) (Dunn *a posteriori*, $p = 0.001$), com duas larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.003$), e com cinco larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.001$). Não houve diferença quando comparados os tratamentos com uma larva e duas larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.39$), com uma larva e cinco larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.38$), e com duas larvas e cinco larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.48$). No quarto ínstar o tamanho da cápsula cefálica foi maior no tratamento com dez larvas em comparação aos tratamentos com uma larva (Kruskal-Wallis, $H = 10.79$, $p = 0.01$) (Dunn *a posteriori*, $p = 0.0007$), com duas larvas (1.708 ± 0.031) (Dunn *a posteriori*, $p = 0.01$) e com cinco larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.02$). Não houve diferença entre os tratamentos com uma larva e duas larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.16$), com uma larva e cinco larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.07$), e com duas larvas e cinco larvas (Dunn *a posteriori*, $p = 0.33$) (Fig. 19).

O comprimento alar dos machos não diferiu entre os tratamentos (uma larva, 3.38 ± 0.02 ; duas larvas, 3.36 ± 0.05 ; cinco larvas, 3.41 ± 0.02 ; dez larvas, 3.45 ± 0.03) (ANOVA, $F = 1.01$, $p = 0.40$) (Fig. 20). O comprimento alar das fêmeas foi maior no tratamento com dez larvas comparado ao tratamento com uma larva (ANOVA, $F = 2.94$, $p = 0.04$) (Tukey *a posteriori*, $p = 0.03$) (Fig. 20). Não houve diferença em comprimento alar de fêmeas entre os tratamentos com uma larva e duas larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.26$), com uma larva e cinco larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.07$), e com cinco larvas e dez larvas (Tukey *a posteriori*, $p = 0.93$).

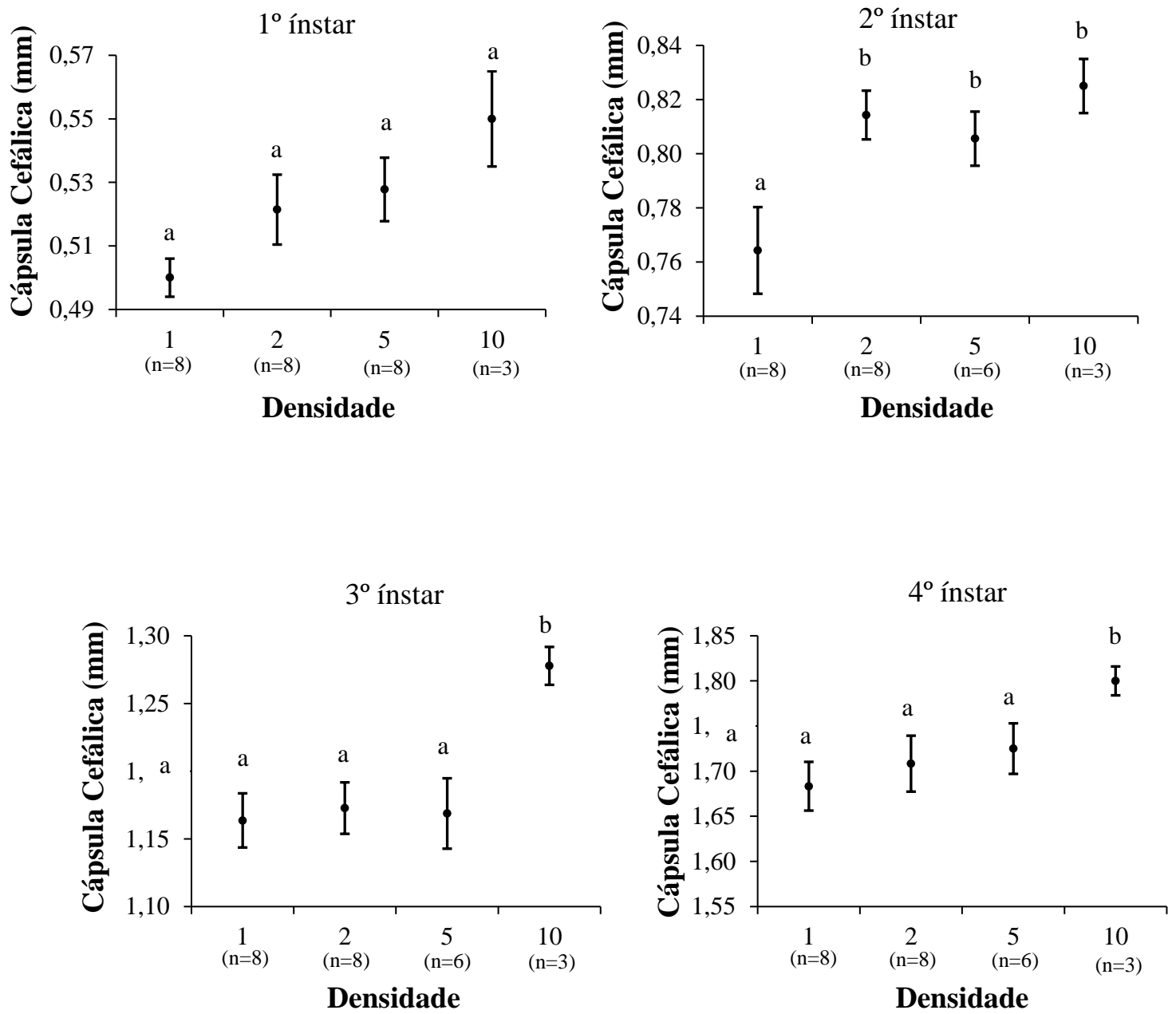


Figura 19. Tamanho de cápsula cefálica de larvas criadas em diferentes densidades. Dados obtidos de um total de 30 larvas por tratamento provenientes de 3 a 8 oviposições. Pontos representam médias e barras representam erro padrão. Tratamentos com letras diferentes representam diferença significativa.

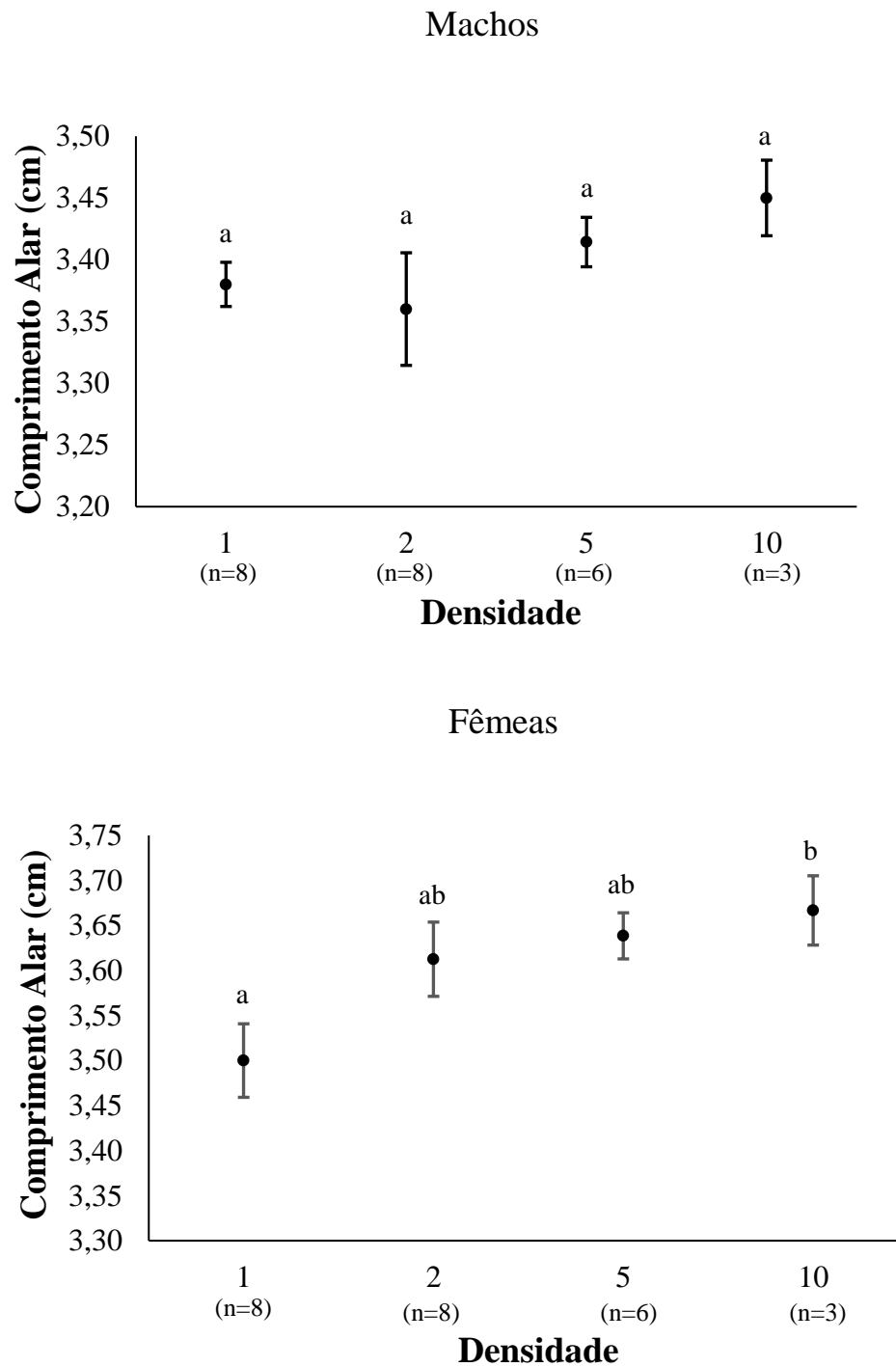


Figura 20. Comprimento alar de machos e fêmeas de *Mechanitis polynmia* obtidos a partir de larvas criadas em diferentes densidades. Dados obtidos de um total de 30 larvas por tratamento provenientes de 3 a 8 oviposições. Pontos representam média e barras representam erro padrão. Letras diferentes representam diferença significativa.

Tabela 8. Performance de larvas criadas em grupos de diferentes densidades (média e erro padrão). Dados obtidos de um total de 30 larvas por tratamento provenientes de 3 a 8 oviposições. Letras diferentes representam diferença significativa. nd = dado não disponível, n = número de oviposições.

| | Tratamento / Ínstar | 1° | 2° | 3° | 4° | 5° | n |
|-----------------------|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|---|
| Tempo Desenvolvimento | 1 larva | 3.1±0.1 ^a | 2.6±0.2 ^a | 2.9±0.2 ^a | 2.9±0.2 ^a | 4.0±0.4 ^{ab} | 8 |
| | 2 larvas | 3.1±0.1 ^a | 2.1±0.1 ^a | 2.4±0.2 ^a | 2.8±0.1 ^a | 4.7±1.1 ^a | 8 |
| | 5 larvas | 3.1±0.1 ^a | 2.2±0.2 ^a | 2.1±0.1 ^a | 2.2±0.2 ^a | 4.2±0.4 ^{ab} | 6 |
| | 10 larvas | 3.2±0.2 ^a | 2.2±0.2 ^a | 2.2±0.2 ^a | 2.3±0.3 ^a | 3.2±0.5 ^b | 3 |
| Tamanho Cápsula | 1 larva | 0.506±0.006 ^a | 0.764±0.016 ^a | 1.163±0.020 ^a | 1.683±0.027 ^a | nd | 8 |
| | 2 larvas | 0.521±0.011 ^a | 0.814±0.036 ^b | 1.172±0.064 ^a | 1.708±0.031 ^a | nd | 8 |
| | 5 larvas | 0.527±0.010 ^a | 0.814±0.009 ^b | 1.168±0.026 ^a | 1.725±0.028 ^a | nd | 6 |
| | 10 larvas | 0.550±0.015 ^a | 0.825±0.013 ^b | 1.277±0.014 ^b | 1.792±0.016 ^b | nd | 3 |

Discussão

Demonstramos que as fêmeas de *M. polymnia* ajustam o tamanho da oviposição em uma relação positiva à área foliar da planta hospedeira e evitam ovipositar em plantas que possuem uma oviposição prévia. Essas duas observações nos levam a concluir que o comportamento das fêmeas no momento da oviposição pode reduzir a competição intraespecífica por alimento. Adicionalmente, as fêmeas de *M. polymnia*, assim como as de *M. lysimnia* colocam ovos na face adaxial das folhas das plantas hospedeiras, seus ovos são brancos e contrastam com o verde das folhas, isto talvez facilite a detecção por outras fêmeas (Vasconcellos-Neto & Monteiro, 1993).

Alguns estudos demonstram que as fêmeas de algumas espécies de insetos ajustam o tamanho da oviposição frente à adversidades ambientais como a quantidade e/ou qualidade do alimento disponível para a prole (Lawrence, 1990; Kagata & Ohgushi, 2002); Vasconcellos-Neto, 1993; Cahenzli *et al.*, 2015), presença de ovos coespecíficos (Ulmer *et al.*, 2003), competição intraespecífica (Goubault *et al.* 2007), nestas situações as fêmeas podem gerar ovos em diferentes quantidades e de diferentes tamanhos, geralmente produzindo poucos ovos grandes ou numerosos ovos pequenos, evidenciando a existência de uma demanda conflitante, que pode gerar mudanças no fenótipo da prole (Hardy *et al.* 1992; Goubault *et al.* 2007; Cahenzi *et al.*, 2015). Neste trabalho vimos que as fêmeas de *M. polymnia*, assim como observado em fêmeas de *M. lysimnia* por Vasconcellos-Neto & Monteiro (1993), ajustam a quantidade de ovos colocados sobre as plantas, mas não observamos alterações na estrutura dos ovos, no entanto mudanças no fenótipo podem ocorrer devido às larvas desenvolverem-se em diferentes densidades, conforme observamos, as larvas solitárias possuem cápsula cefálica menor e fêmeas oriundas de larvas criadas sozinhas possuem menor comprimento alar. Semelhante a este trabalho, as larvas da vespa parasitóide de lepidópteros *Goniozus nephantidis* dão origem a machos e fêmeas menores quando são criadas em grandes grupos, no entanto, as fêmeas sofrem uma maior redução no tamanho que os machos (Hardy *et al.*, 1992). De um modo geral fêmeas necessitam de um tamanho corporal maior do que machos para produzirem e abrigarem ovos, então larvas de futuras fêmeas que não se alimentam adequadamente devem sofrer um custo maior, principalmente no sucesso reprodutivo.

A mortalidade não diferiu entre as larvas criadas em diferentes densidades, no entanto, as larvas desenvolvem-se mais rápido e atingem tamanho maior quando se alimentam em grupos do que quando estão isoladas. As larvas que se alimentam em grupos podem

experimental facilitação de alimentação ao superarem barreiras físicas das plantas, como folhas duras, tricomas e espinhos, com mais facilidade que se estivessem sozinhas (Ghent, 1960; Clark & Faeth, 1998; Denno & Benrey, 1997, Fiorentino *et al.* 2014). As larvas de *M. polymnia* cortam as nervuras das folhas, provavelmente como um modo de reduzir o fluxo de seiva contendo compostos secundários de defesa da planta, larvas solitárias podem ter mais dificuldade ou levar mais tempo e uma maior demanda energética para fazer incisões que larvas em grandes grupos. Adicionalmente, as larvas de *M. polymnia* produzem seda na superfície das folhas, isto facilita o deslocamento sobre os tricomas, larvas isoladas visualmente produziram menos seda e provavelmente tiveram maior dificuldade em se deslocarem sobre as folhas. Apesar de larvas solitárias não serem uma condição natural na espécie *M. polymnia*, esta situação pode ocorrer devido a ação de predadores e/ou mortalidade causada por condições ambientais e pela planta hospedeira de má qualidade.

Fisher (1930) disse que insetos aposemáticos e impalatáveis tenderiam a colocar ovos agrupados, uma vez que uma larva provada por um predador iria reforçar a proteção das irmãs. Os ovos de *M. polymnia* não são aposemáticos, mas chamam a atenção por serem brancos, depositados na face superior, contrastando com o fundo verde das folhas. Não há informações sobre palatabilidade de ovos e larvas na literatura, no entanto, observamos em campo predação de ovos por aranha da família Salticidae, parasitismo de ovos (adquirem coloração chumbo) por vespa e de larvas por moscas família Tachinidae. Neste sentido, quais fatores ecológicos poderiam contribuir para que *M. polymnia* agregue seus ovos? Primeiro, as larvas podem ter benefícios da vida em grupo resultantes da maior eficiência na defesa contra predadores e parasitoides e na facilitação de alimentação (produção da seda). Segundo, fatores que incidem sobre as fêmeas poderiam levar a agregação de ovos. Por exemplo, plantas hospedeiras de boa qualidade (*S. robustum*) ocorrem em pequenos grupos distantes, caso “optassem” por colocar ovos solitários as fêmeas poderiam ter um alto gasto energético e grande incerteza de encontrar novas plantas disponíveis sem ovos prévios. Terceiro, as fêmeas de *M. polymnia* colocam ovos em maior frequência quando as condições climáticas estão nubladas ou uma chuva fina (Vasconcellos-Neto, comunicação pessoal), estas condições são menos frequentes que dias ensolarados, mesmo durante a primavera e verão, levando às fêmeas a terem uma curta janela de condições climáticas favoráveis para oviposição, isso favorece oviposições agregadas (Stamp, 1980). Quarto, e por fim, os adultos são aposemáticos e impalatáveis, isto leva a um baixo ou nenhum risco de predação. As fêmeas de diversas espécies de herbívoros são mais vulneráveis à predação no momento da oviposição, e oviposições agregadas representam um

maior risco, pois demandam mais tempo e aumenta a exposição a predadores (Stamp, 1980; Mayhew, 1997).

Considerações Finais

Nesta tese alcançamos os objetivos delineados em cada capítulo. A partir dos resultados obtidos podemos concluir que as fêmeas de *M. polymnia* são criteriosas e podem aumentar as chances de sobrevivência da prole. Podemos enumerar como principais resultados:

- 1) As larvas de *M. polymnia* têm o corpo branco e possuem a cápsula cefálica de coloração castanho claro a partir do segundo ínstar, isto a diferencia de outras espécies de *Mechanitis*.
- 2) As fêmeas ovipositam em maior frequência em *S. robustum* e *S. scuticum* e menor em *S. mauritianum*, apesar da maior abundância da última espécie.
- 3) A performance larval correlaciona-se positivamente à escolha das fêmeas. As larvas alimentadas com folhas de *S. robustum* e *S. scuticum* apresentam maior sobrevivência e ganho de peso.
- 4) As fêmeas reconhecem a presença de ovos co-específicos sobre a planta hospedeira e preferem ovipositar em plantas sem ovos
- 5) As fêmeas avaliam o porte da planta hospedeira e colocam ovos de acordo com a quantidade de alimento disponível
- 6) Larvas criadas sozinhas têm um desenvolvimento mais lento que larvas criadas em grupos e as fêmeas adultas atingem menor comprimento alar

A partir destes resultados outras questões surgem, como por exemplo, as fêmeas de populações em diferentes localidades apresentam diferença na preferência por *S. robustum* ou podem haver diferenças genéticas que formem populações com diferentes preferências? As fêmeas preferem ovipositar em uma planta de boa qualidade com oviposição prévia ou em uma planta de qualidade inferior sem ovos? O que seria pior para uma larva, viver sozinha em uma planta de boa qualidade ou em grupo em uma planta de má qualidade? As fêmeas reconhecem a presença de outros herbívoros (percevejos, gafanhotos, pulgões) ou sinais de herbivoria sobre as plantas hospedeiras? Outras espécies de Ithomiineos possuem a mesma capacidade de selecionar plantas hospedeiras de boa qualidade para as larvas? As descobertas presentes nesta tese trazem interessantes e importantes informações sobre o comportamento reprodutivo de *M. polymnia* e abrem caminho para novas questões.

Referências

Allen PE (2010) Group size effects on survivorship and adult development in the gregarious larvae of *Euselasia chrysippe* (Lepidoptera, Riodinidae). *Insects Sociaux* 57:199-204.

Andersson M (1994) Sexual selection. Princeton University Press, Princeton.

Arvanitis L, Wiklund C, Ehrlén J (2007) Butterfly seed predation: effects of landscape characteristics, plant ploidy level and population structure. *Oecologia* 152:275-285.

Arvanitis L, Wiklund C, Ehrlén J (2008) Plant ploidy level influences selection by butterfly seed predators. *Oikos* 117:1020-1025.

Awmack CS & Leather SR (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47:844-871.

Ballabeni P, Wlodarczyk M, Rahier M (2001) Does enemy-free space for eggs contribute to a leaf beetle's oviposition preference for a nutritionally inferior host plant? *Functional Ecology* 15.

Barros-Bellanda HCH, Zucoloto FS (2002) Effects of intraspecific competition and food deprivation on the immature phase of *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera, Pieridae). *Iheringia* 92:93-98.

Bates, H. W. (1862) Contributions to an insect fauna of the Amazon Valley. *Transactions of the Linnean Society of London* 23:495-566

Beccaloni GW, Vilorio AL, Hall SK & Robison GS (2008) Catalogue of the Host Plants of Neotropical Butterflies. London, S.E.A 1-536.

Beccaloni, GW (1997) Ecology, behaviour and natural history of ithomiine butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae) and their mimics in Ecuador. *Tropical Lepidoptera* 8:103-124

Benrey B, F. Denno R (1997) The Slow-Growth-High-Mortality Hypothesis: A Test Using the Cabbage Butterfly 78:987-999

Benson WW (1972) Natural Selection for Mullerian mimicry in *Heliconius erato* in Costa Rica. *Science* 176:936-939

Benson WW (1978) Resource partitioning in passion vine butterflies. *Evolution* 32:493-518.

Bernays EA (1998) The value of being a resource specialist: Behavioral support for a neural hypothesis. *American Naturalist* 15:451-464.

Bernays EA, Chapman RF (1994) *Host Plant Selection by Phytophagous Insects*. Chapman & Hall, New York, 312p.

Brodeur J, Vet Louise E M (1995) Relationships between parasitoid host range and host defense: a comparative study of egg encapsulation in two related parasitoid species. *Physiological Entomology* 20:7-12

Brown KS (1979) *Ecologia geográfica e evolução nas florestas tropicas*. Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP 265p.

Brown KS (1984) Adult-obtained pyrrolizidine alkaloids defend ithomiine butterflies against a spider predator. *Nature* 309:707-709

Brown KS (1985) Chemical ecology of dehydropyrrolizidine alkaloids in adult Ithomiinae (Lepidoptera, Nymphalidae). *Revista Brasileira de Biologia* 44:435-460.

Brown KS, Freitas AVL (1994) Juvenile stages of Ithomiinae: overview and systematics (Lepidoptera, Nymphalidae). *Tropical Lepidoptera* 5:9-20

Brown, KS (1988) Mimicry, aposematism and crypsis in Neotropical Lepidoptera: the importance of dual signals. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 113:83-101

Burger J, Gochfeld M (2001) Smooth-billed ani (*Crotophaga ani*) predation on butterflies in Mato Grosso, Brazil: risk decreases with increased group size. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 49:482-492.

Cahenzli F, Wenk BA, Erhardt A (2015) Female butterflies adapt and allocate their progeny to the host-plant quality of their own larval experience. *Ecology* 96:1966-1973

Campbell SA, Stastny M (2015) Benefits of gregarious feeding by aposematic caterpillars depend on group age structure. *Oecologia* 177:715-21

Casey TM, Joobs B, Fitzgerald TD, Yurlina ME, Young PA (1988) Synchronized group foraging, thermoregulation, and growth of eastern tent caterpillars in relation to microclimate. *Physiological Zoology* 61:372-377

Chen KW, Chen Y (2018) Slow-growth high-mortality: A meta-analysis for insects. *Insect Science* 25:337-351

Chen YZ, Lin L, Wang CW, Yeh CC, Hwang SY (2004) Response of two *Pieris* (Lepidoptera, Pieridae) species to fertilization of a host plant. *Zoological Studies* 43:778-786.

Chew FS, Robbins RK (1984) Egg laying in butterflies 65-79pp. In: Vane-Wright RI, Ackery PR (eds) *The Biology of Butterflies*. Princeton University Press, Princeton, NJ 429p.

Clancy KM, Price PW (1987) Rapid Herbivore Growth Enhances Enemy Attack: Sublethal Plant Defenses Remain a Paradox. *Ecology* 68:733-737

Clark BR, Faeth SH (1998) The evolution of egg clustering in butterflies: A test of the egg desiccation hypothesis. *Evolutionary Ecology* 12:543-552.

Clark KE, Hartley SE, Johnson SN (2011) Does mother know best? The preference–performance hypothesis and parent–offspring conflict in aboveground–belowground herbivore life cycles. *Ecological Entomology* 36:117-124

Cornelissen T, Fernandes GW, Vasconcellos-Neto J (2008) Size does matter: variation in herbivory between and within plants and the plant vigor hypothesis. *Oikos* 117:1121-1130.

Courtney SP (1984) The evolution of egg clustering by butterflies and other insects. *The American Naturalist* 123:276-281

Craig TP & Itami JK (1989) A strong relationship between oviposition preference and larval performance in a shoot-galling sawfly. *Ecology* 70:1691-1699.

Craig TP, Ohgushi T (2002) Preference and performance are correlated in the spittlebug *Aphrophora pectoralis* on four species of willow. *Ecological Entomology* 27:529-540.

Cronin JT, Abrahamson WG, Craig TP (2001) Temporal Variation in Herbivore Host-Plant Preference and Performance: Constraints on Host-Plant Adaptation. *Oikos* 93:312-320

De Bruyn L, Scheirs J, Verhagen R (2002) Nutrient stress, host plant quality and herbivore performance on a leaf-mining fly on grass *Oecologia* 130:594-599.

Denno R, Benrey B (1997) Aggregation facilitates larval growth in the neotropical nymphalid butterfly *Chlosyne janais*. *Ecological Entomology* 22:133-141

De-Silva DL, Mota LL, Chazot N, Mallarino R, Silva-Brandão K, Piñerez LMG, Freitas AVL, Lamas G, Joron M, Mallet J, Giraldo CE, Uribe S, Särkinen T, Knapp S, Jiggins CD, Willmott KR, Elias M (2017) North Andean origin and diversification of the largest ithomiine butterfly genus. *Scientific Reports* 7: 45966

Edgar J, Culvenor C, Pliske T (1976) Isolation of lactone structurally related to the esterifying acids of pyrrolizidine alkaloids, from the costal fringes of male Ithomiinae. *Journal of Chemical Ecology* 2:263-270

Egan SP & Funk DJ (2006) Individual advantages to ecological specialization: Insights on cognitive constraints from three conspecific taxa. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 273:843-484.

Faria ML, Fernandes GW (2001) Vigour of a dioecious shrub and attack by a galling herbivore. *Ecological Entomology* 26:37-45.

Fiorentino VL, Murphy SM, Stoepler TM, Lill JT (2014) Facilitative effects of group feeding on performance of the saddleback caterpillar (Lepidoptera: Limacodidae). *Environmental Entomology* 43:131-139

Fisher RA (1930) *The genetical theory of natural selection*. At the Clarendon Press, Oxford 308p.

Fordyce JA (2005) Clutch size plasticity in the lepidoptera 125-144pp. In: Ananthakrishnan TN, Whitman DW (eds) *Insects and Phenotypic Plasticity: Diversity of Responses*. Science Publishers, Inc, Enfield, NH 213p.

Forister ML (2004) Oviposition preference and larval performance within a diverging lineage of lycaenid butterflies. *Ecological Entomology* 29:264-272.

Fox CW & Lalonde RG (1993) Host confusion and the evolution of insect diet breadths. *Oikos* 67:577-581.

Freitas AVL (1993) Biology and Population dynamics of *Placidula euryanassa*, arelic ithomiine butterfly (Lepidoptera: Ithomiinae). *Journal of the Lepidopterist's Society* 47:87-105

Friberg M, Wiklund C (2009) Host plant preference and performance of the sibling species of butterflies *Leptidea sinapis* and *Leptidea reali*: a test of the trade-off hypothesis for food specialisation. *Oecologia* 159:127-137.

García-Robledo C, Horvitz C C (2012) Parent–offspring conflicts, “optimal bad motherhood” and the “mother knows best” principles in insect herbivores colonizing novel host plants. *Ecology and Evolution* 2:1446-1457

Ghent A (1960) A study of the group-feeding behavior of larvae of the jack pine sawfly, *Neodiprion pratti banksiannae*. *Behaviour* 16:110-148

Giraldo CE, Ramírez-Restrepo L, Escobar F, Uribe S (2014) Life cycle and host plants of *Mechanitis menapis doryssus* (Danainae: Ithomiini) in Mexico. *Southwestern Entomologist* 39: 761-772

Giraldo CE, Uribe SI (2010a) Registro de *Mechanitis polymnia* (Lepidoptera: Ithomiinae) en *Solanum jamaicense* y ciclo de vida en laboratorio. *Revista Colombiana de Entomología* 36:165-168

Giraldo CE, Uribe SI (2010b) *Solanum hirtum* as a host plant for *Mechanitis menapis menapis* (Lepidoptera: Ithomiinae). *Colombia Revista Colombiana de Entomología* 36:169-171

Giraldo CE, Uribe SI (2012) Taxonomy of *Mechanitis* (F.) (Lepidoptera, Nymphalidae) from the West Colombian Andes: An Integrative Approach. *Neotropical Entomology* 41:472-484

Golikhajeh N, Naseri B & Razmjou J (2016) Effect of geographic origin of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) and sugar beet cultivar on nutritional indices of this pest. *Invertebrate Survival Journal* 13:221-228

Goubault M, Mack AFS, Hardy ICW (2007) Encountering competitors reduces clutch size and increases offspring size in a parasitoid with female-female fighting. *Proceedings of the Royal Society: Biological Sciences* 274:2571-2578

Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M & Roslin T (2010) A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 3:383-393.

Gripenberg S, Morriën E, Cudmore A, Salminen JP, Roslin T (2007) Resource selection by female moths in a heterogeneous environment: what is a poor girl to do? *Journal of Animal Ecology* 76:854-865

Hardy ICW, Griffiths NT, Godfray HCJ (1992) Clutch size in a parasitoid wasp: A manipulation experiment. *Journal of Animal Ecology* 61:121-129

Hebert PDN (1983) Egg dispersal and adult feeding behavior in the lepidoptera. *Canadian Entomologist* 115:1477-1481

Heisswolf A, Obermaier E, Poethke HJ (2005) Selection of large host plants for oviposition by a monophagous leaf beetle: nutritional quality or enemy-free space. *Ecological Entomology* 30:299-306.

Hemati SA, Naseri GN, Ganbalani GN, Dastjerdi HR & Golizadeh A (2012) Effect of different host plants on nutritional indices of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Insect Science* 12:1-15.

Hilker M, Meiners T (2002) *Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition*. Blackwell Verlag GmbH, Berlin 376p.

Hill RI, Elias M, Dasmahapatra KK, Jiggins CD, Koong G, Willmott KR, Mallet J (2012) Ecologically relevant cryptic species in the highly polymorphic Amazonian butterfly *Mechanitis mazaesus s.l.* (Lepidoptera: Nymphalidae; Ithomiini). *Biological Journal of the Linnean Society* 106:540-560

Hinton H (1946) On the morphology and nomenclature of setae of the lepidopterous larvae with notes on the phylogeny of the Lepidoptera. *Transactions of the Entomological Society of London* 97:1-35

Howlett BG, Clarke AR, Madden JL (2001) The influence of leaf age on oviposition preference of *Chrysophtharta bimaculata* (Olivier) and the establishment of neonates. *Agricultural and Forest Entomology* 3:121-127.

Hufnagel M, Schillmiller AL, Ali J, Szendrei Z (2017) Choosy mothers pick challenging plants: Maternal preference and larval performance of a specialist herbivore are not linked. *Ecological Entomology* 42:33-41.

Hunter AF (2000) Gregariousness and repellent defences in the survival of phytophagous insects. *Oikos* 91:213-224

Inouye BD, Johnson DM (2005) Larval aggregation affects feeding rate in *Chlosyne poecile* (Lepidoptera, Nymphalidae). *Florida Entomologist* 88:247-252

Jaenike J (1978) On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology* 14:350-356.

Janz N (2002) Evolutionary Ecology of Oviposition Strategies 349-379pp. In: Hilker M, Meiners T (eds.) *Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition*. Blackwell Publishing, Germany 376p.

Janz N (2003) The cost of polyphagy: Oviposition decision time vs error rate in a butterfly. *Oikos* 100:493-496.

Janz N, Nylin S, Wedell N (1994) Host plant utilization in the comma butterfly: sources of variation and evolutionary implications. *Oecologia* 99:132-140

Kagata H, Ohgushi T (2002) Clutch size adjustment of a leaf-mining moth (Lyonetiidae: Lepidoptera) in response to resource availability. *Annals of the Entomological Society of America* 95:213-217.

Kaminski LA, Freitas AVL, Oliveira PS (2010) Interaction between mutualisms: ant-tended butterflies exploit enemy-free space provided by ant-treehopper associations. *The American Naturalist* 176:322-334.

Karban R, Agrawal AA (2002) Herbivore offense. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 33:641-664.

Kawasaki N, Miyashita T, Kato Y (2009) Leaf toughness changes the effectiveness of larval aggregation in the butterfly *Byasa alcinous bradanus* (Lepidoptera: Papilionidae). *Entomological Science* 12:135-140

Keeler MS, Chew FS (2008) Escaping an evolutionary trap: preference and performance of a native insect on an exotic invasive host. *Oecologia* 156:559-568

Kitching IJ (1985) Early stages and classification of milkweed butterflies (Lepidoptera, Danainae). *Zoological Journal of Linnean Society* 85: 1-97

König Malin AE, Wiklund C, Ehrlén J (2016) Butterfly oviposition preference is not related to larval performance on a polyploid herb. *Ecology and Evolution* 6:2781-2789

Krause J, Ruxton GD (2002) *Living in Groups*. Oxford University Press, Oxford 224p.

Ladner DT, Altizer S (2005) Oviposition preference and larval performance of North American monarch butterflies on four *Asclepias* species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 116:9-20.

Larsson S, Ekbom B (1995) Oviposition mistakes in herbivorous insects: Confusion or a step towards a new host plant? *Oikos* 72:155-160

Lawrence WS (1990) The effects of group size and host species on development and survivorship of a gregarious caterpillar *Halisidota caryae* (Lepidoptera: Arctiidae). *Ecological Entomology* 15:53-62

Leitão-Filho HdF (1992) A Flora arbórea da Serra do Japi 40-63 pp. In: Morellato LPC (ed) *História Natural da Serra do Japi Ecologia e preservação de uma área florestal no Sudeste do Brasil*. Editora Unicamp, Campinas 321p.

Levins R & MacArthur R (1969) An hypothesis to explain the incidence of monophagy. *Ecology* 50:910-911.

Lima T, Von Zuben CJ (2016) *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae): Oviposition behavior in previous oviposition situation. *Neotropical Entomology* 45:612-617

Martin LA & Pullin AS (2004) Host plant specialization and habitat restriction in an endangered insect, *Lycaena dispar batavus* (Lepidoptera: Lycaenidae) I. Larval feeding and oviposition preferences. *European Journal of Entomology* 101:51-56.

Mayhew PJ (1997) Adaptive Patterns of Host-Plant Selection by Phytophagous Insects. *Oikos* 79:417-428

Mayhew PJ (2001) Herbivore host choice and optimal bad motherhood. *Trends in Ecology and Evolution* 16:165-167.

Midéga CAO, Khan ZR, Pickett JA, Nylin S (2011) Host plant selection behaviour of *Chilo partellus* and its implication for effectiveness of a trap crop. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 138:40-47.

Moreira LF, Teixeira NC, Santos NA, Valim JOS, Maurício RM, Guedes RNC, Oliveira MGA, Campos WG (2016) Diamondback moth performance and preference for leaves of *Brassica oleracea* of different ages and strata. *Journal of Applied Entomology* 140:627-635

Morellato LPC (1992) Sazonalidade e dinâmica de ecossistemas florestais na Serra do Japi 98-111 pp. In: Morellato LPC (ed) História Natural da Serra do Japi Ecologia e preservação de uma área florestal no Sudeste do Brasil. Editora Unicamp, Campinas 321p.

Motta PC (1998) Estudos Macro e Microevolutivos nas Borboletas Ithomiinae (Nymphalidae). Tese de doutorado. Unicamp. 164 p.

Münzbergová Z, Skuhrovec J, Marsík P (2015) Large differences in the composition of herbivore communities and seed damage in diploid and autotetraploid plant species. *Biological Journal of the Linnean Society* 115:443-452.

Navasero RC, Ramaswamy SB (1993) Influence of plant age, water stress, larval damage, and presence of conspecific eggs on oviposition by *Heliothis virescens* (F.) on cotton. *Journal of Applied Entomology* 115:97-106.

Nomakuchi S, Masumoto T, Sawada K, Sunahara T, Itakura N, Suzuki N (2001) Possible age-dependent variation in egg-loaded host selectivity of the Pierid butterfly, *Anthocharis scolymus* (Lepidoptera: Pieridae): A field observation. *Journal of Insect Behavior* 14:451-458

Nylin S & Janz N (1993) Oviposition preference and larval performance in *Polygonia c-album* (Lepidoptera, Nymphalidae): The choice between bad and worse. *Ecological Entomology* 18:394-398.

Obermaier E, Pfeiffer B, Linsenmair KE (2001) Mortality and parasitism in West African tortoise beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Entomologia Generalis* 25:189-203.

Odendaal FJ (1989) Mature egg number influences the behavior of female *Battus philenor* butterflies. *Journal of Insect Behavior* 2:15-25

Pinto HJ (1992) Clima da Serra do Japi 30-39pp. In: Historia Natural Da Serra Do Japi: Ecologia e Preservação De Uma Área Florestal No Sudeste Do Brasil. Editora Unicamp, Campinas. 321p

Pliske TE, Edgar JA, Culvenor CCJ (1976) The chemical basis of attraction of Ithomiinae butterflies to plants containing pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Chemical Ecology* 2:255-262

Portugal APA, Trigo JR (2005) Similarity of cuticular lipids between a caterpillar and its host plant: A way to make prey undetectable for predatory ants? *Journal of Chemical Ecology* 31:2551-2561

Potter KA, Bronstein J, Davidowitz G (2012) Choice oviposition site by *Manduca sexta* and its consequences for egg and larval performance. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 144:286-293.

Prokopy RJ, Averill AL, Cooley SS, Roitberg, CA (1982) Associative learning in egg-laying site selection by apple maggot flies. *Science* 218:76-77

Prokopy RJ, Papaj, DR, Cooley SS, Kallet C (1986) On the nature of learning in oviposition site acceptance by apple maggot flies. *Animal Behaviour* 34:98-107

Prokopy RJ, Roitberg BD (2001) Joining and avoidance behavior in nonsocial insects *Annual Review of Entomology* 46:631-665

Prudic KL, Oliver JC, Bowers MD (2005) Soil nutrients on oviposition preference, larval performance, and chemical defense of a specialist insect herbivore. *Oecologia* 143:578-587.

R Core Team (2015) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>

Ramos RR, Rodrigues D, Freitas AVL (2012) Oviposition preference and larval performance in a *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera, Nymphalidae) population from southeastern Brazil: Is there a positive relationship? *Journal of Natural History* 46: 669-681.

Rasband W (1997) ImageJ: Image Processing and Analysis in Java. <http://imagej.nih.gov/ig>

Rausher M D (1979) Egg recognition: Its advantage to a butterfly. *Animal Behavior*, 27:1034-1040

Rausher MD, Papaj DR (1983) Host plant selection by *Battus philenor* butterflies: evidence for individual differences in foraging behavior. *Animal Behaviour* 31:341-347.

Reader T, Hochuli DF (2003) Understanding gregariousness in a larval Lepidopteran: The roles of host plant, predation, and microclimate. *Ecological Entomology* 28:729-737

Refsnider JM & Janzen FJ (2010) Putting eggs in one basket: Ecological and evolutionary hypothesis for variation in oviposition-site choice. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 41:39-57

Rodrigues D, Kaminski LA, Freitas AVL, Oliveira PS (2010) Trade-offs underlying polyphagy in a facultative ant-tended florivorous butterfly: the role of host plant quality and enemy-free space. *Oecologia* 163:719-728.

Rodrigues D, Moreira GRP (1999) Feeding preference of *Heliconius erato* (Lep.: Nymphalidae) in relation to leaf age and consequences of larval performance. *Journal of the Lepidopterists' Society* 53:108-113.

Ronnas C, Larsson S, Pitacco A, Battisti A (2010) Effects of colony size on larval performance in a processionary moth. *Ecological Entomology* 35:436-445

Roslin T & Salminen JP (2008) Specialization pays off: Contrasting effects of two types of tannins on oak specialist and generalist moth species. *Oikos* 117:1560-1568.

Santana AFK, Rodrigues D, Zucoloto FS (2017) Larval aggregation in a Neotropical butterfly: risky behaviors, per capita risk, and larval responses in *Ascia monuste orseis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 71:174-184.

Santana AFK, Zago RC, Zucoloto FS (2011) Effects of sex, host-plant deprivation and presence of conspecific immatures on the cannibalistic behavior of wild *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera, Pieridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 55:95-101.

Santana AFK, Zucoloto FS (2016) Benefits of egg clusters in the evolution of larval aggregation in the neotropical butterfly *Ascia monuste orseis*: Reduction of egg failure and enhanced larval hatching. *Journal of the Lepidopterists' Society* 70:72-74.

Scheirs J (2002) Integrating optimal foraging and optimal oviposition theory in plant-insect research. *Oikos* 96:187-191

Scheirs J, De Bruyn L & Verhagen R (2000) Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 267: 2065-2069.

Schulz S, Beccaloni G, Brown KS, Boppré M, Freitas AVL, Ockenfels P, Trigo JR (2004) Semiochemicals derived from pyrrolizidine alkaloids in male ithomiine butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae: Ithomiinae). *Biochemical Systematics and Ecology* 32:699-713

Schulz S, Francke W, Edgar J, Schneider D (1988) Volatile compounds from androconial organs of danaine and ithomiine butterflies. *Zeitschrift für Naturforschung* 43:99-104

Scriber J & Slansky F Jr (1981) The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology* 26:183-211.

Sendoya SF, Freitas AVL, Oliveira PS (2009) Egg-laying butterflies distinguish predaceous ants by sight. *The American Naturalist* 174:134-140.

Seymour R (1974) Convective and evaporative cooling in sawfly larvae. *Journal of Insect Physiology* 20:2447-2457

Sheppard CA & Friedman S (1990) Influence of host plant, foliar phenology and larval dietary history on *Lymantria dispar* larval nutritional indices. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 55:247-255.

Shikano I, Akhtar Y, Isman MB (2010) Relationship between adult and larval host plant selection and larval performance in the generalist moth, *Trichoplusia ni*. *Arthropod-Plant Interactions* 4:197-205.

Shiojiri K, Takabayashi J (2003) Effects of specialist parasitoids on oviposition preference of phytophagous insects: encounter-dilution effects in a tritrophic interaction. *Ecological Entomology* 28:573-578.

Sillén-Tullberg B (1988) Evolution of gregariousness in aposematic butterfly larvae - a phylogenetic analysis. *Evolution* 42:293-305

Singer MS, Stireman JO (2003) Does anti-parasitoid defense explain host plant selection by a polyphagous caterpillar? *Oikos* 100:554-562.

Smith C L, Smilowitz Z (1976) Growth and development of *Pieris rapae* larvae parasitized by *Apanteles glomeratus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 19:189-195

Soo Hoo CF & Fraenkel G (1966) The consumption, digestion, and utilization of food plants by a polyphagous insect, *Prodenia eridania* (Cramer). *Journal of Insect Physiology* 12:711-730

Stamp NE (1980) Egg deposition patterns in butterflies: Why do some species cluster their eggs rather than deposit them singly? *American Naturalist* 115:367-380.

Stamp NE, Bowers MD (1988) Direct and indirect effects of predatory wasps (*Polistes* sp., Vespidae) on gregarious caterpillars (*Hemileuca leucina*, Saturniidae). *Oecologia* 75:619-624

Stanton ML, Cook RE (1983) Source of intraspecific variation in the host plant seeking behavior of *Colias* butterflies. *Oecologia* 60:365-370.

Stehr FW. 1987 Order Lepidoptera. In: Stehr FW, editor. *Immature insects*. Vol. 1. Dubuque (IA): Kendall-Hunt Publishing Company. 288–305.

Thompson JN & Pellmyr O (1991) Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 36:65-89.

Thompson JN (1988a) Variation in preference and specificity in monophagous and oligophagous swallowtail butterflies. *Evolution* 42: 118-128.

Thompson JN (1988b) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47:3-14.

Thompson JN (1988c) Evolutionary genetics of oviposition preference in swallowtail butterflies. *Evolution* 42:1223-1234.

Thompson JN, Pellmyr O (1991) Evolution of oviposition behavior and host preference in lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 36:65-89.

Trigo JR, Brown K (1990) Variation of pyrrolizidine alkaloids in Ithomiinae: a comparative study between species feeding on Apocynaceae and Solanaceae. *Chemoecology* 1:22-29

Trigo JR, Brown KS, Witte L, Hartmann T, Ernst L, Barata ELS (1996) Pyrrolizidine alkaloids: different acquisition and use patterns in Apocynaceae and Solanaceae feeding ithomiinae butterflies (Lepidoptera, Nymphalidae). *Biological Journal of Linnean Society* 58:99-123

Tullberg BS, Gamberale-Stille G, Solberck C (2000) Effects of food plant and group size on predator defense: Differences between two co-occurring aposematic Lygaeidae bugs. *Ecological Entomology* 25:220-225

Ulmer B, Gillott C, Erlandson M (2003) Conspecific eggs and bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae), oviposition site selection. *Environmental Entomology* 32:529-534

van Driesche R G, Bellows T S (1988) Host and parasitoid recruitment for quantifying losses from parasitism, with reference to *Pieris rapae* and *Cotesia glomerata*. *Ecological Entomology* 13:215-222

van Nouhuys S, Singer MC, Nieminen M (2003) Spatial and temporal patterns of caterpillar performance and the suitability of two host plant species. *Ecological Entomology* 28:193-202.

Vasconcellos-Neto J (1991) Interactions between ithomiinae butterflies and Solanaceae: feeding and reproductive strategies In: Price PW, Lewinshon TM, Fernandes GW, Benson WW (eds) *Plant-Animal interactions: Evolutionary Ecology in Tropical and Temperate Regions*. John Wiley & Sons, New York 693p.

Vasconcellos-Neto J, Monteiro RF (1993) Egg inspection and evaluation of host plant by the butterfly *Mechanitis lysimnia* (Nymph., Ithomiinae) before laying eggs: a mechanism to reduce intraspecific competition. *Oecologia* 95:431-438.

Wahlberg N, Leneveu J, Kodandaramaiah U, Pena C, Nylin S, Freitas AV, Brower AV (2009) Nymphalid butterflies diversify following near demise at the Cretaceous/Tertiary boundary. *Proceedings of the Royal Society: Biological Sciences* 276:4295-302

Waldbauer GP (1968) The consumption and utilization of food by insects. *Advances in Insect Physiology* 5:229-288.

Wiklund C (1981) Generalist vs. specialist oviposition behavior in *Papilio machaon* (Lepidoptera) and functional aspects on the hierarchy of oviposition preferences. *Oikos* 36:163-170.

Williams KS (1983) The coevolution of *Euphydryas chalcedona* butterflies and their larval host plants. *Oecologia* 56:336-340

Williams NS (1999) Slow-growth, high-mortality—a general hypothesis, or is it? *Ecological Entomology* 24:490-495

Willmott KR, Freitas AVL (2006) Higher-level phylogeny of the Ithomiinae (Lepidoptera: Nymphalidae): classification, patterns of larval hostplant colonization and diversification. *Cladistics* 22:297-368

Wise NJ, Kieffer DL, Abrahamson WG (2006) Costs and benefits of gregarious feeding in the meadow spittlebug, *Philaneus spumarius*. *Ecological Entomology* 31:548-555

Zytynska SE, Preziosi RF (2011) Genetic interactions influence host preference and performance in a plant-insect system. *Evolutionary Ecology* 25:1321-1333.

Zytynska SE, Preziosi RF (2013) Host preference of plant genotypes is altered by intraspecific competition in a phytophagous insect. *Arthropod-Plant Interactions* 7:349-357.

Apêndices

Apêndice I



COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
Universidade Estadual de Campinas
Caixa Postal 6109. 13083-970, Campinas, SP, Brasil
Fone (19) 3521-6378. email: cpgib@unicamp.br



DECLARAÇÃO

Em observância ao §5º do Artigo 1º da Informação CCPG-UNICAMP/001/15, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Tese de Doutorado, intitulada "*Seleção de planta hospedeira, performance larval e descrição de estágios imaturos na borboleta *Mechanitis polymnia casabranca* (Haensch, 1905) (Nymphalidae, Danainae)*", desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Ecologia do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura:

Nome do(a) aluno(a): Márcio Romero Marques Carvalho

Assinatura:

Nome do(a) orientador(a): André Victor Lucci Freitas

Data: 20/12/2018

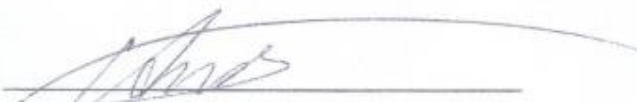
Apêndice II

Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **Seleção de planta hospedeira, performance larval e descrição de estágios imaturos na borboleta *Mechanitis polymnia casabranca* (Haensch, 1905) (Nymphalidae, Danainae)**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 20 de dezembro de 2018

Assinatura: 
Nome do(a) autor(a): Márcio Romero Marques Carvalho
RG n.º 084.993.298-0

Assinatura: 
Nome do(a) orientador(a): André Victor Lucci Freitas
RG n.º 19.296.024