



ÁBNER ELPINO-CAMPOS

CARACTERÍSTICAS DA PLANTA HOSPEDEIRA, ONTOGÊNESE E
COMPORTAMENTO ALIMENTAR DAS LARVAS DE *Heliconius erato phyllis*
(FABRICIUS, 1775) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

Área de Concentração: Biologia e
Comportamento Animal

Orientador: Prof. Dr. Gilson R. P. Moreira

Co-orientadores: Prof^a. Dr^a. Rosy Mary dos Santos Isaias (UFMG) e Prof. Dr. Luis Frederico Pinheiro Dick (UFRGS)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre, RS

2010

Características da planta hospedeira, ontogênese e comportamento alimentar das
larvas de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Nymphalidae)

ÁBNER ELPINO-CAMPOS

Aprovado em _____

Prof. Dr. Kleber Del-Claro (UFU)

Prof^a. Dr^a. Elisete Ana Barp (UnC)

Prof^a. Dr^a. Simone Mundstock Jahnke (UFRGS)

Dedico aos meus pais, Lázaro e Glória, pelo dom da vida e à minha esposa Rúbia pela compreensão e carinho demonstrados ao longo da minha trajetória acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente e de forma especial a Deus.

Ao professor Gilson R.P. Moreira, por aceitar o desafio de me orientar mesmo não me conhecendo previamente. Pelo auxílio nos meses iniciais em Porto Alegre, acolhendo-me em sua residência até que tivesse autonomia, sempre serei agradecido. Pela dedicação em todas as etapas do meu doutorado, pelo profissionalismo, paciência e principalmente pelos ensinamentos transmitidos, tão importantes para a formação de seus orientados.

À professora Rosy Isaias, por ter me recebido em Belo Horizonte, pela dedicação em esclarecer as minhas freqüentes dúvidas, pelos ensinamentos relacionados às técnicas para cortes de histologia vegetal, indispensáveis para a realização deste trabalho.

Ao professor Frederico Dick, pela orientação nos testes de dureza das mandíbulas. Pelo ensino e auxílio na adaptação das técnicas próprias da metalurgia para análises em material orgânico.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Morfologia e Comportamento de Insetos, que me acompanharam nestes anos de doutorado, Ana Kristina (Tina), Ana Aymone, Bruna Ramos, Danessa Boligon, Darli Massardo, Denis Silva, Denise Dell'Aglio, Elisete, Érica Giani, Evelyn Gonçalves, Josielma Hofman, Kim Barão, Lucas Kaminski, Leonardo Joge, Mariana D'Incao, Rodrigo Eltz, Queli Cardoso e as recém-chegadas Carolina Millan e Sabrina Campos. Obrigado pelo companheirismo, discussões, esclarecimento de dúvidas, pelos momentos de descontração, pelas festas, pelos momentos sérios, os trabalhos de campo e os de laboratório. Agradecimento especial à Danessa, Darli, Gislene Lopes e ao Denis pelas leituras e sugestões sobre a tese, bem como à "Big Tina", pela parceria durante os experimentos.

Aos colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFMG, pela acolhida nos dias em Belo Horizonte e ao técnico Wagner Afonso pela ajuda com os cortes histológicos.

Aos colegas do Laboratório de Processos Eletroquímicos e Corrosão (ELETROCORR) do Departamento de Metalurgia da UFRGS, em especial aos Engs. Luiz Andres, Joel Rodrigues, MSc. Cristina Weber e ao professor Francisco Kiss pelo apoio fundamental no uso do Microdurômetro de Vickers, nas politrizes e demais aparelhos.

Aos colegas dos Laboratórios de Bioecologia de Insetos, Entomologia Sistemática, Carcinologia e Helminologia que de alguma maneira contribuíram para a realização desta tese.

À MSc. Ana Aymone por ter fornecido os dados referentes às distâncias entres as cerdas A1 da cápsula cefálica de *Heliconius erato phyllis* analisadas em sua monografia de conclusão de curso, AYMONE (2006).

A todos os amigos que me acompanharam na minha trajetória acadêmica, desde o colégio, graduação, mestrado e agora doutorado. Obrigado pelo convívio e pelos momentos de alegria.

À Sra. Ana Masieiro, por ser minha segunda mãe aqui em Porto Alegre, bem como a todos os amigos conquistados nesta terra querida, principalmente do Coral da Cruz, pelo apoio e por terem se mostrado como verdadeira família no RS, me acolhendo como se fossemos velhos conhecidos.

À minha querida esposa, Rúbia por me amar assim de forma tão especial e por ser minha companheira nesses anos de convivência.

Agradeço aos meus amados pais, Lázaro e Glória, à minha irmã Kézia, sobrinhos Gabryell, Adryell, Rafaell e a todos de minha família, original e adquirida, pelo apoio e incentivo sempre presentes, pelo amor incondicional e compreensão das

minhas escolhas que às vezes nos distanciam fisicamente, mas sempre estaremos unidos no coração. Amo vocês.

Aos professores, colegas e funcionários do PPG-Biologia Animal e do Departamento de Zoologia da UFRGS.

À CAPES pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

	páginas
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
APRESENTAÇÃO	xvii
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO GERAL	01
1.1. Histórico da interação inseto-planta	01
1.2. Estrutura das mandíbulas	02
1.3. Características das plantas e interação inseto-planta	06
1.4. Generalidades sobre <i>Passiflora</i> Linnaeus (Passifloraceae)	08
1.5. <i>Heliconius erato phyllis</i> (Fabricius, 1775) (Lepidoptera, Nymphalidae)	09
1.6. Referências bibliográficas	11
CAPÍTULO 2. VARIAÇÃO NA DUREZA E ESPESSURA FOLIAR DAS PLANTAS HOSPEDEIRAS (PASSIFLORACEAE) E DANOS CAUSADOS PELA LARVA DE <i>Heliconius erato phyllis</i> (FABRICIUS, 1775) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE)	22
2.1. Introdução	22
2.2. Material e Métodos	24
2.2.1. Caracterização das passifloráceas	24
2.2.2. Caracterização do dano	26
2.2.3. Análise estatística	26
2.3. Resultados	27
2.3.1. Caracterização fenotípica das passifloráceas	27
2.3.1. Caracterização dos danos	35
2.4. Discussão	42

2.5. Referências bibliográficas.....	54
CAPÍTULO 3. DUREZA DAS MANDÍBULAS DAS LAGARTAS DE <i>Heliconius erato phyllis</i> (FABRICIUS, 1775) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE) CRIADAS EM DUAS HOSPEDEIRAS (PASSIFLORACEAE).....	60
3.1. Introdução.....	60
3.2. Material e Métodos.....	62
3.2.1. Obtenção e criação das larvas.....	62
3.2.2. Determinação da dureza das mandíbulas.....	63
3.2.3. Análise estatística.....	69
3.3. Resultados.....	69
3.4. Discussão.....	74
3.5. Referências bibliográficas.....	79
CAPÍTULO 4. VARIAÇÕES QUANTITATIVAS NO COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE LARVAS DE <i>Heliconius erato phyllis</i> (FABRICIUS, 1775) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE) FRENTE A CINCO PASSIFLORÁCEAS.....	83
4.1. Introdução.....	83
4.2. Material e Métodos.....	87
4.2.1. Criação das larvas.....	87
4.2.2. Comportamento alimentar.....	88
4.2.3. Análise estatística.....	89
4.3. Resultados.....	90
4.4. Discussão.....	105
4.5. Referências bibliográficas.....	111
CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES.....	118
APÊNDICE.....	120

LISTA DE FIGURAS

páginas

- Figura 2.1.** Variação na dureza ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=15 ramos) em relação a idade das folhas em ramos de passifloráceas do RS. A, *P. misera*; B, *P. suberosa*; C, *P. caerulea*; D, *P. edulis*; E, *P. alata*. 28
- Figura 2.2.** Variação na espessura foliar ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=15 ramos) em relação a idade das folhas em ramos de passifloráceas do RS. A, *P. misera*; B, *P. suberosa*; C, *P. caerulea*; D, *P. edulis*; E, *P. alata*. 30
- Figura 2.3.** Variação na espessura da nervura central ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=15 ramos) em relação a idade das folhas em ramos de passifloráceas do RS. A, *P. misera*; B, *P. suberosa*; C, *P. caerulea*; D, *P. edulis*; E, *P. alata*. 32
- Figura 2.4.** Dureza das folhas ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=150) nas diferentes espécies de passifloráceas. Colunas seguidas de letras distintas diferem significativamente (ANOVA, medidas repetidas, seguida de testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$). 37
- Figura 2.5.** Espessura do limbo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=150) nas diferentes espécies de passifloráceas. Colunas seguidas de letras distintas diferem significativamente (ANOVA, medidas repetidas, seguida de testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$). 38
- Figura 2.6.** Espessura da nervura central ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=150) nas diferentes espécies de passifloráceas. Colunas seguidas de letras distintas diferem significativamente (ANOVA, medidas repetidas, seguida de testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$). 39
- Figura 2.7.** Danos causados por larvas de primeiro e quinto ínstares de *H. erato phyllis* em *P. suberosa*. A, face adaxial do limbo, com cortes na borda foliar; B, face abaxial evidenciando a raspagem do limbo; C, face abaxial com corte da nervura central; D, corte parcial da gavinha. Barras = 1 cm, 0,5 mm, 0,5 mm e 1mm, respectivamente. 40
- Figura 2.8.** Cortes histológicos transversais de *P. suberosa*, de folhas intactas (esquerda) e danificadas por *H. erato phyllis* (direita). A, limbo foliar; B, raspagem do limbo; C, nervura central; D, corte parcial da nervura central; E, gavinha, F, corte parcial da gavinha. Barras = 150, 150, 250, 250, 200 e 200 μ m, respectivamente. 41
- Figura 2.9.** Variação quantitativa dos danos causados por larvas de primeiro ao quinto ínstar de *H. erato phyllis* (de A a E, respectivamente) em *P. misera*. Ramos com folhas jovens situam-se na coluna da direita e, com folhas velhas, na esquerda. RA, região

apical; F1 a F10, primeira à décima folha, respectivamente; CA, caule. Números associados às legendas representam o total de observações por ínstar/idade foliar para o corte (barras vazias), corte da nervura/feixe vascular (barras cheias, pretas) e raspagem do limbo (barras cheias, cinzas).....43

Figura 2.10. Variação quantitativa dos danos causados por larvas de primeiro ao quinto ínstar de *H. erato phyllis* (de A a E, respectivamente) em *P. suberosa*. Ramos com folhas jovens situam-se na coluna da direita e, com folhas velhas, na esquerda. RA, região apical; F1 a F10, primeira à décima folha, respectivamente; CA, caule. Números associados às legendas representam o total de observações por ínstar/idade foliar para o corte (barras vazias), corte da nervura/feixe vascular (barras cheias, pretas) e raspagem do limbo (barras cheias, cinzas).....45

Figura 2.11. Variação quantitativa dos danos causados por larvas de primeiro ao quinto ínstar de *H. erato phyllis* (de A a E, respectivamente) em *P. caerulea*. Ramos com folhas jovens situam-se na coluna da direita e, com folhas velhas, na esquerda. RA, região apical; F1 a F10, primeira à décima folha, respectivamente; CA, caule. Números associados às legendas representam o total de observações por ínstar/idade foliar para o corte (barras vazias), corte da nervura/feixe vascular (barras cheias, pretas) e raspagem do limbo (barras cheias, cinzas).....47

Figura 2.12. Variação quantitativa dos danos causados por larvas de primeiro ao quinto ínstar de *H. erato phyllis* (de A a E, respectivamente) em *P. edulis*. Ramos com folhas jovens situam-se na coluna da direita e, com folhas velhas, na esquerda. RA, região apical; F1 a F10, primeira à décima folha, respectivamente; CA, caule. Números associados às legendas representam o total de observações por ínstar/idade foliar para o corte (barras vazias), corte da nervura/feixe vascular (barras cheias, pretas) e raspagem do limbo (barras cheias, cinzas).....49

Figura 3.1. Face interna da mandíbula direita de *H. erato phyllis* em microscopia eletrônica de varredura. A, primeiro; e B, quinto ínstar. Barras correspondem 50 e 200µm, respectivamente. Fonte: SILVEIRA (2002).....64

Figura 3.2. Procedimento metalográfico utilizado para determinação da microdureza de Vickers. A, molde cilíndrico de cobre utilizado para inclusão; B, mandíbula embutida em resina acrílica; C, detalhe da face externa da mandíbula, lixada e polida; D, detalhe do terceiro dente com impressão piramidal. **lu**, lúmen da mandíbula; **de**, terceiro dente; **im**, impressão piramidal. Linha tracejada delimita a margem externa da mandíbula. Barras = 3mm (A e B), 200 e 10µm (C e D, respectivamente).....66

Figura 3.3. Representação esquemática do microdurômetro (A) e da impressão piramidal (B) (adaptado de <http://www.twi.co.uk/content/jk74.html>; acesso em 12.09.2009).....68

Figura 3.4. Mapeamento da localização específica dos compostos químicos da cutícula na mandíbula de uma larva de *H. erato phyllis*, em espectroscopia de energia dispersiva (EDS). A, microscopia eletrônica de varredura em elétrons secundários; B, carbono; C, oxigênio; D, silício; E, enxofre; F, cloro; G, zinco; H, microscopia eletrônica de varredura em elétrons retroespalhados (backscattered).....70

Figura 3.5. Microscopia eletrônica de varredura em elétrons secundários da mandíbula da larva de *H. erato phyllis* (A) e espectros obtidos por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) na extremidade do terceiro dente (B), meio do terceiro dente (C); na resina, no lúmen da mandíbula (D), e na cutícula da mandíbula, fora da região incisora (E).....71

Figura 3.6. Microdureza de Vickers ($\bar{X} \pm$ erro padrão) para as mandíbulas de larvas de *H. erato phyllis* criadas em *P. misera* (barras vazias) e *P. suberosa* (barras cheias) ao longo da ontogênese.....72

Figura 3.7. Variação na microdureza de Vickers para mandíbulas de larvas de *H. erato phyllis* ao longo da ontogênese, em *P. misera* e *P. suberosa*.....75

Figura 3.8. Crescimento da microdureza de Vickers (A) e das distâncias entre as cerdas A1 (B) em valores log-transformados (ANCOVA, $F=45,96$, $p<0,0001$). Dados relativos à distância entre as cerdas foram obtidos de AYMONE (2006).....76

Figura 4.1. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ / comportamento) destinado aos diferentes comportamentos efetuados por larvas de *H. erato phyllis*, quando observados em *P. misera* (A), *P. suberosa* (B), *P. caerulea* (C), *P. edulis* (D) e *P. alata* (E). RE, repousando; AL, alimentando; DE, deslocando; PR, provando alimento; CN, cortando nervura. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os atos comportamentais, dentro de uma dada planta hospedeira (testes múltiplos de Tukey; $p<0,05$).....95

Figura 4.2. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ / passiflorácea) destinado aos diferentes comportamentos (A, repousando; B, alimentando; C, deslocando; D, provando; e E, cortando nervura) efetuados por larvas de *H. erato phyllis*, quando observados em *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata*. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as passifloráceas (testes múltiplos de Tukey; $p<0,05$).....97

Figura 4.3. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ por tratamento) destinado aos diferentes comportamentos no primeiro, terceiro e quinto ínstares (de A a C, respectivamente) de *H. erato phyllis*, quando observados em folhas jovens (barras vazias) e folhas velhas (barras cheias) de *P. misera*. RP, repouso; AL, alimentação; DE, deslocamento; PR, prova do alimento; CN, corte da nervura. Asteriscos indicam diferença significativa

entre os dois tipos de folhas para cada ato comportamental considerado (testes *U* de Mann-Whitney; $p < 0,05$).103

Figura 4.4. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ por tratamento) destinado aos diferentes comportamentos no primeiro, terceiro e quinto ínstaes (de A a C, respectivamente) de *H. erato phyllis*, quando observados em folhas jovens (barras vazias) e folhas velhas (barras cheias) de *P. suberosa*. RP, repouso; AL, alimentação; DE, deslocamento; PR, prova do alimento; CN, corte da nervura. Asteriscos indicam diferença significativa entre os dois tipos de folhas para cada ato comportamental considerado (testes *U* de Mann-Whitney; $p < 0,05$).104

Figura 4.5. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ por tratamento) destinado aos diferentes comportamentos no primeiro, terceiro e quinto ínstaes (de A a C, respectivamente) de *H. erato phyllis*, quando observados em folhas jovens (barras vazias) e folhas velhas (barras cheias) de *P. caerulea*. RP, repouso; AL, alimentação; DE, deslocamento; PR, prova do alimento; CN, corte da nervura. Asteriscos indicam diferença significativa entre os dois tipos de folhas para cada ato comportamental considerado (testes *U* de Mann-Whitney; $p < 0,05$).106

Figura 4.6. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ por tratamento) destinado aos diferentes comportamentos no primeiro, terceiro e quinto ínstaes (de A a C, respectivamente) de *H. erato phyllis*, quando observados em folhas jovens (barras vazias) e folhas velhas (barras cheias) de *P. edulis*. RP, repouso; AL, alimentação; DE, deslocamento; PR, prova do alimento; CN, corte da nervura. Asteriscos indicam diferença significativa entre os dois tipos de folhas para cada ato comportamental considerado (testes *U* de Mann-Whitney; $p < 0,05$).107

LISTA DE TABELAS

- Tabela 2.1.** Análise de covariância comparando as inclinações e intersecções das regressões lineares dos parâmetros físicos nas cinco espécies de passifloráceas..... 34
- Tabela 2.2.** Análise de variância (ANOVA um fator) com medidas repetidas (fator idade foliar) do efeito da dureza, espessura do limbo e espessura da nervura central dos ramos de *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata*. Asteriscos indicam diferença estatística significativa ($\alpha=0,05$)..... 36
- Tabela 3.1.** Análise de variância (ANOVA dois fatores) sobre a influência da planta e ontogênese no índice de dureza de Vickers nas mandíbulas das larvas de *H. erato phyllis*, quando criadas em *P. misera* e *P. suberosa*. Números seguidos por asteriscos indicam influências significativas ($\alpha=0,05$)..... 73
- Tabela 4.1.** Análise de variância (ANOVA três fatores) sobre a influência da planta, ontogênese e comportamentos das larvas de *H. erato phyllis*, frente a cinco passifloráceas. Números seguidos por asteriscos indicam influências significativas ($\alpha=0,05$)..... 91
- Tabela 4.2.** Variação no tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; em minutos) dedicado ao repouso e aos demais comportamentos em atividade nos diferentes instares larvais ($n=20$ / instar) de *H. erato phyllis* sobre cinco espécies de passifloráceas, durante seis horas (= 360 minutos) de observação..... 92
- Tabela 4.3.** Análise de variância (ANOVA um fator), com medidas repetidas (fator instar) sobre o efeito de cinco passifloráceas em relação aos comportamentos (repousando, alimentando, deslocando, provando e cortando nervura) efetuados por larvas de *H. erato phyllis*. Asteriscos indicam diferença estatística significativa ($\alpha=0,05$)..... 93
- Tabela 4.4.** Análise de variância (ANOVA um fator) com medidas repetidas (fator instar) do efeito dos comportamentos efetuados por larvas de *H. erato phyllis* em relação a cinco passifloráceas (*P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata*). Asteriscos indicam diferença estatística significativa ($\alpha=0,05$)..... 94
- Tabela 4.5.** Análise de variância (ANOVA um fator), com medidas repetidas (fator instar), do efeito sobre a variação no número de refeições, respectivas durações e intervalos, efetuadas por larvas de *H. erato phyllis* observadas em cinco passifloráceas (*P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata*). Asteriscos indicam diferença estatística significativa ($\alpha=0,05$)..... 100

Tabela 4.6. Variação temporal ($\bar{X} \pm$ erro padrão) no número de refeições, respectiva duração e intervalos efetuadas por larvas de *H. erato phyllis* (n = 100 / passiflorácea), ao longo da ontogênese, em seis horas de observação sobre cinco espécies de passifloráceas. Letras diferentes indicam diferença significativa do parâmetro entre as plantas (Anova, um fator, medidas repetidas - instar, seguida de testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$). 101

Tabela 4.7. Equações de regressão linear correspondentes ao tempo designado a cada ato comportamental ao longo do estágio larval de *H. erato phyllis* (n=20 / instar / hospedeira) em cinco espécies de passifloráceas. Asteriscos indicam variação significativa ao longo da ontogênese ($\alpha < 0,05$). 102

RESUMO

No contexto da herbivoria, a interação inseto-planta é um sistema dinâmico. As plantas apresentam características que influenciam a preferência e o desempenho dos herbívoros, como por exemplo, a variação da dureza e espessura do limbo foliar, de forma dependente à espécie e à idade da estrutura considerada. Por sua vez, os insetos podem responder às barreiras das plantas por mecanismos fisiológicos e comportamentais. Há registro de nove espécies de passifloráceas utilizadas por *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) para o Rio Grande do Sul. As larvas deste herbívoro, entretanto, alimentam-se preferencialmente de *Passiflora misera* Humboldt, Bonpland & Kunth, que confere maior performance, apesar de apresentar menor quantidade de nutrientes que outras hospedeiras utilizadas (ex. *Passiflora suberosa* Linnaeus). Desta forma, o desempenho associado ao consumo de uma passiflorácea possivelmente relaciona-se, não só ao conteúdo nutricional desta, mas também aos mecanismos morfológicos e comportamentais envolvidos na alimentação. Neste trabalho, verificamos se a dificuldade em acessar o alimento, imposta pela dureza e espessura das folhas das hospedeiras e pelas limitações estruturais das mandíbulas de *H. erato phyllis*, reflete ou não alterações na utilização da planta, analisando os danos causados a estas e o comportamento das larvas deste herbívoro. Para tanto *P. misera*, *P. suberosa*, *Passiflora caerulea* Linnaeus, *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora alata* Dryander foram cultivadas, sendo folhas jovens e velhas dessas passifloráceas caracterizadas quanto à dureza e espessura, tanto do limbo como da nervura central. A frequência dos danos causados à *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. edulis* foi avaliada, em relação à idade da folha e ao longo da ontogênese larval. Quantificou-se, também, o índice de microdureza de Vickers das mandíbulas para larvas criadas em *P. misera* e *P. suberosa*. Adicionalmente, o tempo relativo aos comportamentos

(repousando, alimentando, deslocando, provando e cortando nervura) foi quantificado nas cinco passifloráceas, tanto em folhas jovens quanto nas velhas. Os dados obtidos evidenciaram a existência de variação expressiva em relação à idade da folha, quanto à dureza e espessura para as espécies de passifloráceas utilizadas pelas larvas de *H. erato phyllis*. O tipo e a frequência do dano (corte do limbo, raspagem e corte da nervura central) foram influenciados pela variação desses parâmetros físicos, sendo que a raspagem do limbo ocorreu quando larvas de primeiro ínstar foram criadas em folhas velhas. Houve influência ontogenética no incremento de dureza das mandíbulas, porém não foram detectados indícios de que a planta hospedeira influencie no aumento deste parâmetro nessas estruturas. As larvas empregaram grande parte do tempo em repouso, independente da espécie de hospedeira e, na maioria dos casos, dedicaram mais tempo à alimentação em *P. misera*. Larvas observadas em *P. alata* dedicaram mais tempo ao repouso e menos tempo à alimentação realizando de uma a duas refeições com pequena duração, a cada seis horas. Esta discrepância no tempo destinado a todos os comportamentos das larvas em *P. alata* se deve, provavelmente, a fatores químicos inerentes a esta passiflorácea. Lagartas de primeiro ínstar em folhas velhas de *P. suberosa* e *P. caerulea* despenderam maior tempo no deslocamento, demonstrando que a procura por um sítio de alimentação favorável é de fundamental importância para esta fase do desenvolvimento, evidenciando assim que a dureza foliar constitui fator limitante para ínstaes iniciais, neste heliconíneo.

Palavras-chave: heliconíneos, *Passiflora*, ecologia comportamental, herbivoria, dureza foliar, dureza mandibular

ABSTRACT

The plant-insect interaction is a dynamic system. Variation in plant morphological traits such as hardness and thickness of the leaves can influence preference and performance of herbivores, depending upon the species and age of the plant structure taking into. On the other hand, insects can respond to these barriers through physiological and behavioral mechanisms. Nine species of passion vine are used by *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) in Rio Grande do Sul State. However, their larvae feed preferentially on *Passiflora misera* Humboldt, Bonpland & Kunth, which provide greater performance, despite having a lower amount of nutrients when compared to other host plants (e.g. *Passiflora suberosa* Linnaeus). Thus, the performance related to consumption of a particular passion vine possibly relates not only to their nutritional value, but also to morphological and behavioral mechanisms involved on feeding by these butterfly larvae. In this study, we investigate whether the difficulty in accessing food, imposed by the hardness and thickness of host leaves when in association to structural limitations on the mandibles of *H. erato phyllis* larvae, lead in turn to changes in host plant use. We examined the plant hosts damages and also larval behavior of this herbivore on five cultivated passion vine: *P. misera*, *P. suberosa*, *Passiflora caerulea* Linnaeus, *Passiflora edulis* Sims and *Passiflora alata* Dryander. Young and old leaves of these passion vine species were characterized in terms of hardness and thickness for the blade and the midrib. The frequency of differences on damage caused to *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea* and *P. edulis* was evaluated in relation to leaf age throughout larval ontogeny. Vickers hardness index was quantified for mandibles dissected from larvae reared on *P. misera* and *P. suberosa*. Additionally, the time spent in different behaviors (resting, feeding, walking, tasting and vein cutting) was quantified for the five passion vine, while feeding on both young and old leaves.

The data showed the existence of expressive variation in hardness and thickness according to leaf age for the passion vine species used by *H. erato phyllis* larvae. The type (cutting blade, scraping and vein cutting) and frequency of damages were influenced by the variation of such leaf parameters. Scraping occurred when first instar were reared on old leaves. There was an ontogenetic influence on mandibular hardness, which increases with larval age. However, there was no evidence that the host plant influences the hardness in these structures throughout ontogeny. Independently of the host taken into account, larvae employed most of the time resting. In several cases, they devoted more time feeding in *P. misera*. In *P. alata*, they spent more time resting and less time feeding, having up to only two meals of short duration each, at every six hours. This discrepancy in time is probably due to the presence of deterrent chemicals present in this passion vine. In old leaves of *P. suberosa* and *P. caerulea*, first instar larvae spent more time moving, thus showing that the search for a suitable food site is extremely important for this stage of development. Thus, we demonstrate that leaf hardness is a limiting factor for the early larval instars in this heliconian butterfly.

Keywords: heliconians, *Passiflora*, behavioral ecology, herbivory, leaf hardness, mandibular hardness

APRESENTAÇÃO

A presente tese está dividida em cinco capítulos, sendo o primeiro introdutório, abrangendo todo o tema abordado. Os três capítulos subseqüentes são autônomos, de forma que cada um apresenta seções independentes relativas à introdução do tema estudado, métodos empregados, resultados obtidos, discussão e referências bibliográficas, que serão formatados, posteriormente, de acordo com as normas de publicação das revistas a serem submetidos. Optou-se por apresentar tabelas e figuras ao longo do texto. O último capítulo, conclusivo, sintetiza o encontrado neste estudo. As referências bibliográficas seguem as normas da Revista Brasileira de Zoologia.

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Histórico da interação inseto-planta

Insetos e plantas desenvolveram uma estreita associação ao longo do processo evolutivo, apresentando diversos graus de interação, que vão desde generalistas até as mais especializadas (BERNAYS 1998). Dentre a diversidade das espécies de animais conhecidos, mais de um quarto, aproximadamente, constitui-se de insetos que se alimentam de tecidos vegetais (BERNAYS 1998, LABANDEIRA 2002, GRIMALDI & ENGEL 2005). As plantas colonizaram o ambiente terrestre há mais de 400 milhões de anos, juntamente com o surgimento das linhagens de artrópodos viventes. Há aproximadamente 300 milhões de anos atrás, os insetos herbívoros já apresentavam partição de recursos e várias formas de adaptações alimentares, incluindo as guildas dos mastigadores, comedores de esporos, sugadores e lambedor-sugadores (LABANDEIRA 1997, 2002, 2007, MAYHEW 2007). Destes, acredita-se que o aparelho bucal ancestral seja o mastigador. Esses outros tipos surgiram e se diversificaram diversas vezes de maneira independente, havendo analogias entre as estruturas principais (LABANDEIRA 1997).

A história evolutiva da interação inseto-planta pode ser dividida em quatro fases segundo LABANDEIRA (1997, 2006). A primeira ocorreu do Siluriano Superior ao Devoniano Superior onde diversos artrópodos, dentre eles os insetos pterigotos, se alimentavam de plantas vasculares primitivas e fungos. Há registros de quatro associações com plantas nesse período, sendo que duas se relacionam com a herbivoria de partes fotossintéticas dos ramos e folhas, externas (espécies com peças bucais típicas das lagartas viventes – mastigadores) e internas (perfurador-sugadores). A segunda, entre o Mississipiano Superior e o fim do Permiano, caracterizada pela predominância na utilização de pteridófitas e uso de algumas espermatófitas como

hospedeiras, além do surgimento de novos tipos de aparelho bucal. A terceira, entre o Triássico Médio até o presente, se constituiu na fase dos ortopteróides (sentido amplo), hemipteróides e herbívoros holometábolos basais, utilizando-se de pteridófitas e gimnospermas. Por fim, a quarta, do Cretáceo Inferior ao presente, com os ortopteróides, hemipteróides derivados e holometábolos alimentando-se de angiospermas.

1.2. Estrutura das mandíbulas

O comportamento animal é a expressão da forma e está intimamente ligado à morfologia, fisiologia e ecologia destes, cujas variações se constituem nas causas imediatas da evolução dos comportamentos (ALCOCK 1989, BERNAYS 2001, DEL-CLARO 2004). A estrutura, a forma e a função das mandíbulas se relacionam com o hábito alimentar dos insetos herbívoros e auxiliam no entendimento da ecologia comportamental da interação inseto-planta e, em particular, da evolução do comportamento alimentar desses organismos, bem como na compreensão da diversidade de insetos (CHAPMAN 1995, LABANDEIRA 1997, 2002, 2006, BERNAYS 2001, MAYHEW 2007).

Nos Thysanura e em Pterygota, as mandíbulas se articulam com a cápsula cefálica em dois pontos (côndilos anterior e posterior), que limitam o movimento destas em um único plano (SNODGRASS 1950, MATSUDA 1965, CHAPMAN 1995, ENGEL & GRIMALDI 2004). Essa condição (dicondílica) proporciona movimentos transversais e com isso o alimento, pode ser cortado pela região distal das mandíbulas (SNODGRASS 1950, CHAPMAN 1995, GRIMALDI & ENGEL 2005). Porém, nos hexápodos entognatos e em Archaeognatha, onde a articulação ocorre por apenas um côndilo (condição monocondílica) há apenas a trituração de partículas relativamente moles (por exemplo,

hifas de fungos e líquens), por meio de movimentos de rotação da mandíbula (SNODGRASS 1935, MATSUDA 1965, CHAPMAN 1995, GRIMALDI & ENGEL 2005).

Um par de músculos inserido em apódemas, localizados em cada um dos lados do plano de articulação, é responsável pelos movimentos de abdução e adução nas mandíbulas dicondíllicas (SNODGRASS 1935, 1950). Em insetos hipognatos (i.e. lagartas de lepidópteros exófagos e muitos ortópteros), ambos os músculos originam-se na porção antero-dorsal da cápsula cefálica; já em insetos prognatos e opistognatos (i.e. maioria dos coleópteros e hemípteros, respectivamente) originam-se na porção posterior da cabeça (CHAPMAN 1995). O músculo adutor é responsável por fechar as mandíbulas e gerar grande parte da força empregada para cortar o alimento; por isso, é maior que o abductor e ocupa, praticamente, quase toda a cápsula cefálica (DAS 1937, SNODGRASS 1935, CHAPMAN 1995, VEGLIANTE 2005). O tamanho e a forma da cápsula cefálica dos insetos mastigadores estão intimamente ligados ao tamanho deste músculo. Sabe-se que larvas de *Pseudaletia unipuncta* (Haworth, 1809) (Lepidoptera, Noctuidae), quando criadas em dieta alimentar mais dura (folhas jovens e maduras das gramíneas dos gêneros *Triticum* Linnaeus e *Cynodon* Richard, respectivamente), quando comparada à dieta alimentar artificial (menos rígida), apresentam tanto a cápsula cefálica quanto o músculo adutor maiores (BERNAYS 1986). O mesmo padrão foi observado para os ortópteros da família Acrididae, *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) e *Chorthippus curtipennis* (Harris, 1835), onde a largura da cabeça foi significativamente maior quando criados em gramíneas mais rígidas (BERNAYS 1986). Dessa forma, insetos com cápsulas cefálicas maiores estariam aptos a se alimentar com maior eficiência de gramíneas relativamente mais duras (CHAPMAN 1995).

As mandíbulas dos insetos mastigadores apresentam duas áreas distintas em sua morfologia externa. A parte distal, contendo dentes incisores, é responsável por cortar o alimento e se constitui na região incisora. A área proximal, responsável por

triturar o alimento, denomina-se região molar (CHAPMAN 1995). Dependendo da linhagem de inseto considerado e do tipo de alimento utilizado, essas regiões estão ou não presentes e são mais ou menos desenvolvidas. Por exemplo, os insetos predadores geralmente apresentam mandíbulas longas, pontiagudas, com poucos dentes tanto na área incisora como na região molar. Já insetos herbívoros mastigadores, como ortópteros, possuem mandíbulas curtas, com dentes incisores longos (= cúspides) e região molar rígida, corrugada (CHAPMAN 1995). Em algumas larvas de Lepidoptera estudadas, constatou-se que a mordida é a única ação mecânica aparentemente aplicada no alimento (exemplo, KERPEL 2004).

As adaptações existentes na forma das mandíbulas dos insetos herbívoros mastigadores estão correlacionadas aos hábitos alimentares e à natureza do recurso utilizado (DAS 1937, SNODGRASS 1935, BERNAYS 1991). Espécies que utilizam plantas arbustivas e herbáceas apresentam mandíbulas com região incisora pouco desenvolvida e cúspides separadas. Já espécies graminívoras têm área incisora com dentes grandes e cúspides unidas (CHAPMAN 1964, BERNAYS 1991). BERNAYS & JANZEN (1988) constataram que larvas de lepidópteros de Saturnidae e Sphingidae apresentam duas formas de mandíbulas diferenciadas, de acordo com o tipo de alimento utilizado. As pequenas, com região incisora pouco desenvolvida, são características de saturnídeos que se alimentam de folhas velhas e duras. Por outro lado esfingídeos, que utilizam folhas jovens e macias, possuem mandíbulas longas e denteadas.

Por serem responsáveis pelo corte do alimento em fragmentos menores, capazes de serem ingeridos e transferidos ao intestino, as mandíbulas, além de possuírem musculatura resistente, têm a cutícula extremamente esclerotizada, principalmente na região incisora (HILLERTON *et al.* 1982, CHAPMAN 1995). A cutícula dos insetos pode ser classificada como macia e flexível ou como dura e não flexível,

propriedades mecânicas estas que estão ligadas a funções de partes corporais em específico (VINCENT & WEGST 2004).

A cutícula, secretada pela epiderme, pode ser dividida em três regiões: endocutícula, exocutícula e epicutícula (NEVILLE 1970, ANDERSEN 1979, KLOWDEN 2007). A epicutícula, não elástica, contém esclerotina, sendo constituída em maior parte por lipídeos livres ou ligados a proteínas em suas camadas externas e sua função principal é evitar a desidratação, sendo ainda coberta por uma camada de cera. A endocutícula e a exocutícula, também denominadas juntas de procutícula, constituem-se primariamente de um complexo de quitina imersa em uma matriz protéica (VINCENT & WEGST 2004).

A quitina é um dos biopolímeros mais abundantes e importantes na natureza, depois da celulose (KHOR 2001, MERZENDORFER & ZIMOCH 2003) e, de forma similar, é um polissacarídeo linear e se diferencia nos grupos funcionais: hidroxila (OH) para celulose e grupos acetamino (NHCOCH_3) para quitina (KHOR 2001, AZEVEDO *et al.* 2007, MEYERS *et al.* 2008). As cadeias de quitina se unem formando nanofibrilas, que são depositadas em lamelas, durante o período da noite, com pequenas diferenças na angulação, o que produz um arranjo helicoidal. As deposições durante o dia são unidirecionais e, através desta característica pode-se, inclusive, determinar a idade de um inseto adulto (NEVILLE 1970, CHAPMAN 1995, GORB 2001, VINCENT & WEGST 2004).

Grande parte da dureza do exoesqueleto é causada pela esclerotinização da exocutícula, uma modificação secundária das proteínas cuticulares devido à incorporação de produtos polifenólicos oxidados e derivados de catecolaminas, mas em alguns casos, a dureza pode estar relacionada ao acentuado caráter hidrofóbico das proteínas nestas cutículas, ou mesmo da interação com metais, como zinco, manganês e até mesmo ferro, entretanto este último processo ainda necessita ser elucidado (ANDERSEN 1979, VINCENT & WEGST 2004, KLOWDEN 2007).

1.3. Características das plantas e interação inseto-planta

A interação inseto-planta, dentro do contexto da herbivoria, é um sistema dinâmico e sujeito à mudança constante. As plantas apresentam características que influenciam a preferência e desempenho dos insetos herbívoros, como substâncias do metabolismo primário, secundário e fatores físicos, bem como uma fenologia variável (LARSSON 2002). Por sua vez, os insetos podem responder às barreiras das plantas através de diversos mecanismos fisiológicos e comportamentais (BERNAYS 1998, LARSSON 2002, MELLO & SILVA-FILHO 2002).

Os espinhos, os tricomas, a dureza de alguns tecidos vegetais, a presença de ceras, o tamanho, a forma e a cor do órgão vegetal constituem características físicas que podem limitar a atuação dos insetos (BERNAYS & CHAPMAN 1994). Como exemplo, verificou-se que os tricomas de *Passiflora adenopoda* DC. (Passifloraceae) se constituem em barreiras eficientes, pois dificultam a locomoção e alimentação das larvas de heliconíneos que utilizam tais plantas, além de muitas vezes causarem o extravasamento da hemolinfa das largatas destes, levando-as à morte (GILBERT 1971). Larvas de *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) (Coleoptera, Chrysomelidae) apresentam alta mortalidade nos ínstares iniciais quando alimentadas com folhas de *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae) de alta densidade de tricomas, causada supostamente pela ingestão de fragmentos dos mesmos (MEDEIROS & MOREIRA 2005, BOLIGON 2007, BOLIGON *et al.* 2009). A dureza das folhas em si pode impedir ou reduzir o consumo destas pelos herbívoros. Esta característica física pode estar ligada à disponibilidade de água, ao teor de nutrientes do solo, a mudanças ambientais ou mesmo à variação na idade foliar (FEENY 1970, RAUPP 1985, MEDINA *et al.* 1990, SILVEIRA 2002). Até mesmo a presença de ceras nas plantas pode comprometer o consumo, indiretamente por dificultar a fixação e locomoção dos insetos (FERNANDES 1994, BERNAYS & CHAPMAN 1994). Por último, a forma, cor e tamanho da folha são

importantes para o reconhecimento da hospedeira pelos seus herbívoros (BERNAYS & CHAPMAN 1994, GAUER 2000).

Os insetos herbívoros, por sua vez, frente às barreiras das plantas, apresentam mecanismos para sobrepujá-las. Larvas de *G. spadicea*, por exemplo, removem os tricomas de *S. sisymbriifolium* para atingir o mesofilo foliar, dedicando maior tempo à remoção destas estruturas comparado ao tempo empregado na ingestão do alimento, quando observados em folhas com alta densidade de tricomas (BOLIGON 2007). Diversos insetos, por exemplo muitas lagartas e coleópteros, cortam as nervuras e pecíolos das folhas, voluntariamente, pouco antes da ingestão. Tal comportamento ocasionaria a diminuição do turgor hídrico nas extremidades distais ao dano, atenuando a resistência do limbo foliar ao corte, além de bloquear a passagem dos canais de látex, resinas e substâncias do metabolismo secundário (DUSSOURD & EISNER 1987, DUSSOURD & DENNO 1991, DUSSOURD 1993, 1997, 1999, CLARKE & ZALUCKI 2000). Os primeiros ínstares larvais de alguns heliconíneos, quando em contato com tecidos duros de passifloráceas, inadequados para a alimentação, tendem a raspar o limbo para se alimentar apenas do mesofilo foliar (ALEXANDER 1961, RODRIGUES & MOREIRA 1999, BIANCHI 2005).

Os insetos herbívoros podem ser classificados como generalistas ou especialistas (BERNAYS & CHAPMAN 1994). Por se alimentarem de uma grande variedade de espécies de plantas, os generalistas podem ter sua performance influenciada, ocorrendo por exemplo redução do crescimento e sobrevivência larval, anormalidades estruturais no estágio de pupa, atraso na emergência do adulto e redução do número de gerações (MENNA-BARRETO & ARAÚJO 1985, PÉRICO & ARAÚJO 1991, LAZAREVIĆ *et al.* 1998, HUNTER & McNEIL 1997, TIKKANEN *et al.* 2000, BIANCHI & MOREIRA 2005). Entretanto, a maioria dos insetos herbívoros é relativamente especialista, usando um restrito número de hospedeiras com compostos químicos

similares (PRICE 1997, BERNAYS 2001). Em adição, essas substâncias se tornam importantes por serem sinais seguros de identificação da hospedeira, facilitando o reconhecimento dessas. Além disso, a especialização pode indiretamente proporcionar que o recurso alimentar seja utilizado por poucos herbívoros, o que pode minimizar a competição (BERNAYS 2001).

1.4. Generalidades sobre *Passiflora* Linnaeus (Passifloraceae)

Passiflora constitui-se num dos gêneros de Passifloraceae que ocorre no Brasil, juntamente com *Ancistrothyrsus* Harms, *Dilkea* Masters e *Mitostemma* Masters (SACCO 1980, CERVI 1997, MILWARD-DE-AZEVEDO & BAUMGRATZ 2004). Possui aproximadamente 400 espécies, agrupadas em 23 subgêneros. Para o Brasil, estima-se em 130 o número de espécies, com maior número na região amazônica (KILLIP 1938, SACCO 1980, CERVI 1997).

Das 29 espécies de *Passiflora* registradas para os estados mais meridionais do Brasil, 15 são encontradas no Rio Grande do Sul. Destas, as que apresentam maior abundância são: subgênero *Decaloba* (= *Plectostemma*) – *Passiflora capsularis* Linnaeus, *Passiflora misera* Humboldt, Bonplant & Kunth, *Passiflora suberosa* Linnaeus; subgênero *Passiflora* (= *Granadilla*) – *Passiflora actinia* Hooker, *Passiflora alata* Dryander, *Passiflora caerulea* Linnaeus, *Passiflora edulis* Sims, *Passiflora elegans* Masters, *Passiflora tenuifila* Killip (KILLIP 1938, SACCO 1980, CERVI 1997, MONDIN 2001, MACDOUGAL & FEUILLET 2004, MILWARD-DE-AZEVEDO & BAUMGRATZ 2004, MOREIRA, G.R.P, UFRGS, comunicação pessoal).

Os subgêneros *Dysosmia* e *Passiflora* apresentam estreita associação e formam um clado distinto juntamente com *Decaloba*, sendo este último mais derivado que os dois primeiros (BENSON *at al.* 1975, MUSCHNER *et al.* 2003, YOCKTENG & NADOT 2004). As borboletas da tribo Heliconiini, em sua fase larval, se alimentam exclusivamente de

passifloráceas, com exceção de *Eueides procula vulgiformis* Butler & Druce, 1872 que consome folhas de *Erblichia odorata* Seemann (Turneraceae) (JANZEN 1983). BENSON *et al.* (1975) propuseram que gêneros mais primitivos de heliconíneos utilizam passifloras mais primitivas como hospedeiras, e que os mais derivados estariam intimamente relacionados com passifloráceas mais derivadas, como no caso da maioria das espécies do gênero *Heliconius* Kluk, 1780 que, geralmente, se alimentam de espécies do subgênero *Decaloba*.

1.5. *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera, Nymphalidae)

Heliconius erato phyllis (Fabricius, 1775) apresenta ampla distribuição em todo território brasileiro, excetuando-se a região amazônica (BROWN & MIELKE 1972, HOLZINGER & HOLZINGER 1994). Pode ser encontrada em matas abertas ou perturbadas e em florestas densas ocorre em áreas de clareiras ou com grande incidência solar (BROWN-JR 1992). Juntamente com outras espécies do gênero *Heliconius*, apresenta, na fase adulta, comportamentos mais complexos que outros ninfalídeos (GILBERT 1975). Dentre esses, se destacam: acuidade visual diferenciada, dentro de um grande espectro de cor (STRUWE 1972, BARP 2006); memorização acentuada, alta capacidade quanto à orientação geográfica e capacidade de inspecionar as plantas hospedeiras quanto à disponibilidade de recursos e presença de co-específicos (GILBERT 1982, MUGRABI-OLIVEIRA & MOREIRA 1996a); formação de agrupamentos noturnos (dormitórios comunais), o que proporciona proteção (TURNER 1971, DI MARE 1984, BROWN-JR. 1992); alimentação a base de pólen, além do néctar, o que confere maior longevidade e produção de oócitos ao longo de toda a vida das fêmeas (GILBERT 1972, DUNLAP-PIANKA *et al.* 1977); dentre outros comportamentos (ver GILBERT 1975).

As espécies mais freqüentemente utilizadas por esse heliconíneo no Rio Grande do Sul, são *P. suberosa* e *P. misera* (MENNA-BARRETO & ARAÚJO 1985, PÉRICO 1995,

RODRIGUES & MOREIRA 2002). Os adultos, além de alimentarem-se com néctar (fonte de açúcares), utilizam também o pólen de diversas espécies de angiospermas, principalmente *Lantana camara* Linnaeus e *Stachytarpheta cayennensis* Richard (GILBERT 1972, ROMANOWSKI *et al.* 1985, RAMOS & FREITAS 1999, CORRÊA *et. al.* 2001, BARP 2006).

Diversos estudos relacionados à biologia, ecologia e comportamento das larvas deste heliconíneo têm sido desenvolvidos nas últimas duas décadas, o que permitiram fazer as seguintes inferências quanto à interação entre esta espécie e as passifloráceas: 1) as fêmeas ovipositam preferencialmente na região apical (MUGRABI-OLIVEIRA & MOREIRA 1996a, b), as larvas tendem a se alimentar de tecidos jovens nos ínstaes iniciais, evoluindo para a base do ramo de acordo com o desenvolvimento larval (RODRIGUES & MOREIRA 1999); 2) há preferência inata das larvas e dos adultos por *P. misera* (KERPEL & MOREIRA 2005), a qual proporciona um maior tamanho das pupas, dos adultos e maior fecundidade das fêmeas para larvas criadas em *P. misera* (MENNA-BARRETO & ARAÚJO 1985, PÉRICO 1995, RODRIGUES & MOREIRA 2002, 2004); 3) há um maior desgaste das mandíbulas de larvas que se desenvolvem em folhas velhas de *P. suberosa* e *P. misera*, sendo este desgaste maior naquelas criadas em *P. suberosa*, que se apresenta mais dura e espessa que a primeira (SILVEIRA 2002); 4) há maior consumo e digestibilidade para larvas que se alimentam em *P. misera*, comparado àquelas em *P. suberosa* (KERPEL 2004).

Dentro deste contexto, entretanto, permanecem ainda inexploradas algumas questões relacionadas à descrição e quantificação dos comportamentos de alimentação deste heliconíneo frente às passifloras que conferem maior sucesso adaptativo (subgênero *Decaloba*) em comparação àquelas que apresentam defesas expressivas, sejam elas morfológicas e/ou químicas, bem como o tipo de dano causado pelas larvas a estas hospedeiras. As características físicas das folhas das

passifloráceas utilizadas por *H. erato phyllis* no estado do Rio Grande do Sul necessitam ser investigadas, assim como os índices de dureza mandibular das larvas deste lepidóptero. Ou seja, espera-se que existam variações de dureza e espessura foliar nas espécies de passifloráceas ao longo do desenvolvimento do ramo, bem como diferenças nos índices de dureza da região incisora das mandíbulas das larvas nelas criadas. Da mesma forma, é esperado que o tempo empregado nos comportamentos de alimentação possa sofrer alteração ao longo da ontogênese larval, em função tanto da espécie de passiflorácea, como da idade da folha em que são criadas. Ainda, espera-se, em consequência, que tais modificações influenciem os comportamentos e os danos causados por este heliconíneo às suas hospedeiras.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos gerais, em relação às principais passifloráceas utilizadas pelas larvas de *H. erato phyllis* no Rio Grande do Sul, ao longo da ontogênese: 1) avaliar os níveis de dureza foliar das diferentes hospedeiras; 2) descrever os tipos de danos foliares causados pelas larvas nessas hospedeiras; 3) verificar comparativamente a dureza das mandíbulas das larvas nelas criadas; 4) quantificar o tempo relativo aos comportamentos das larvas em relação à espécie de passiflorácea e idade da folha.

1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ALCOCK, J. 1989. **Animal behavior: an evolutionary approach**. Sunderland, Sinauer Associates, Inc, XVII+596p.

ALEXANDER, A.J. 1961. A study of the biology and behavior of the caterpillars, pupae and emerging butterflies of the subfamily Heliconiinae in Trinidad, West Indies. Part I. Some aspects of larval behavior. **Zoologica** 46 (1): 1-25.

¹ Referências de acordo com a Revista Brasileira de Zoologia, http://www.sbzoologia.org.br/sistema/up_anexos/998c44e765bcbec87f86a853e52b0aaf.pdf, acessado em 17.11.2009

- ANDERSEN, S.O. 1979. Biochemistry of insect cuticle. **Annual Review of Entomology** **24** (1): 29-61.
- AZEVEDO V.V.C.; S.A. CHAVES; D.C. BEZERRA; M.V. LIA FOOK & A.C.F.M. COSTA. 2007. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos** **2** (3): 27-34.
- BARP, E.A. 2006. **Ecologia comportamental de *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae) frente à variação espaço-temporal dos recursos florais**. Tese de doutorado, Ecologia, UFRGS, XVIII+127p.
- BENSON, W.W.; K.S. BROWN-JR. & L.E. GILBERT. 1975. Coevolution of plants and herbivores: passion flower butterflies. **Evolution** **29** (4): 659-680.
- BERNAYS, E.A. 1986. Diet-induced head allometry among foliage-chewing insects and its importance for graminivores. **Science** **231** (4737): 495-497.
- BERNAYS, E.A. 1991. Evolution of insect morphology in relation to plants. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London** **333** (1267): 257-264.
- BERNAYS, E.A. 1998. Evolution of feeding behavior in insect herbivores. **BioScience** **48** (1): 35-44.
- BERNAYS, E.A. 2001. Neural limitations in phytophagous insects: implications for diet breadth and evolution of host affiliation. **Annual Review of Entomology** **46** (1):703-727.
- BERNAYS, E.A. & D.H. JANZEN.1988. Saturniid and sphingid caterpillars: two ways to eat leaves. **Ecology** **69** (4): 1153-1160.
- BERNAYS, E.A. & R.F. CHAPMAN. 1994. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York, Chapman & Hall, XIV+312p.
- BIANCHI, V. 2005. **Implicações ecológicas das plantas hospedeiras e da agregação larval sobre *Dione juno juno* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Nymphalidae)**. Porto Alegre, Tese de Doutorado em Ecologia, UFRGS, XVI+112p.

- BIANCHI, V. & G.R.P. MOREIRA. 2005. Preferência alimentar, efeito da planta hospedeira e da densidade larval na sobrevivência e desenvolvimento de *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **22** (1): 43-50.
- BOLIGON, D.S. 2007. **Variação nos tricomas de *Solanum sisymbriifolium* (Solanaceae) e herbivoria por larvas de *Gratiana spadicea* (Coleoptera, Chrysomelidae)**. Porto Alegre, Dissertação de mestrado, Biologia Animal, UFRGS, Brasil, IX+62p.
- BOLIGON, D.S.; L. MEDEIROS; R.M.S. ISAIAS & G.R.P. MOREIRA. 2009. Constraints on larval feeding morphology and selective removal of host-plant trichomes by a monophagous cassidine beetle, p. 15-30 *In*: P. JOLIVET; J. SANTIAGO-BLAY & M. SCHMITT (Eds.). **Research on Chrysomelidae**. Leiden, Koninklijke Brill, Vol. II.
- BROWN-JR., K.S. 1992. Borboletas da Serra do Japí: diversidade, habitats, recursos alimentares e variação temporal, p. 142-187. *In*: L.P.C. MORELLATO (Ed.). **História natural da Serra do Japí: Ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil**. Campinas, Unicamp/Fapesp, 322p.
- BROWN-JR., K.S. & O.H.H. MIELKE. 1972. The heliconians of Brazil (Lepidoptera: Nymphalidae). Part II. Introduction and general comments, with a supplementary revision of the tribe. **Zoologica** **57** (1): 1-40.
- CERVI, A.C. 1997. Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **Fontqueria** **45**: 1-92.
- CHAPMAN, R.F. 1964. The structure and wear of mandibles in some African grasshoppers. **Proceedings of the Zoological Society of London** **142** (1): 107-121.

- CHAPMAN, R.F. 1995. Mechanics of food handling by chewing insects, p. 3-31. *In*: R.F. CHAPMAN & G. DE BOER (Eds.). **Regulatory mechanisms in insect feeding**. New York, Chapman & Hall, XXVI+398p.
- CLARKE, A.R. & M.P. ZALUCKI. 2000. Foraging and vein-cutting behaviour of *Euploea core corinna* (W. S. Macleay) (Lepidoptera: Nymphalidae) caterpillars feeding on latex-bearing leaves. **Australian Journal of Entomology** **39** (4): 283-290.
- CORRÊA, C.A.; B.E. IRGANG & G.R.P. MOREIRA. 2001. Estrutura floral das angiospermas usadas por *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera, Nymphalidae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia** **90** (1): 71-84.
- DAS, G.M. 1937. The musculature of the mouth-parts of insect larvae. **Quartely Journal of Microscopical Science** **80** (1): 39-80.
- DEL-CLARO, K. 2004. **Comportamento animal – uma introdução à ecologia comportamental**. Jundiaí, Conceito, 132p.
- DI MARE, R.A. 1984. **Dinâmica populacional e efeitos do endocruzamento em *Heliconius erato phyllis***. Porto Alegre, Dissertação de mestrado, Genética, UFRGS, 134p.
- DUNLAP-PIANKA, H.; C.L. BOGGS & L.E. GILBERT. 1977. Ovarian dynamics in heliconiine butterflies: programmed senescence versus eternal youth. **Science** **197** (4302): 487-490.
- DUSSOURD, D.E. 1993. Foraging with finesse: caterpillar adaptations for circumventing plant defenses, p. 92-131. *In*: N.E. STAMP & T.M. CASEY (Eds.). **Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging**. New York, Chapman and Hall, 587p.
- DUSSOURD, D.E. 1997. Plant exudates trigger leaf-trenching by cabbage loopers, *Trichoplusia ni* (Noctuidae). **Oecologia** **112** (3): 362-369.

- DUSSOURD, D.E. 1999. Behavioral sabotage of plant defense: do vein cuts and trenches reduce insect exposure to exudate? **Journal of Insect Behavior** **12** (4): 501-514.
- DUSSOURD, D.E & R.F. DENNO. 1991. Deactivation of plant defense: correspondence between insect behavior and secretory canal architecture. **Ecology** **72** (4): 1383-1396.
- DUSSOURD, D.E. & T. EISNER. 1987. Vein-cutting behavior: insect counterploy to the latex defense of plants. **Science** **237** (4817): 898-901.
- ENGEL M.S. & D.A. GRIMALDI. 2004. New light shed on the oldest insect. **Nature** **427** (6975): 627-630.
- FEENY, P. 1970. Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. **Ecology** **51** (4):565-581
- FERNANDES, G.W. 1994. Plant mechanical defenses against insect herbivory. **Revista Brasileira de Entomologia** **38** (2): 421-433.
- GAUER, E.A.B. 2000. **Caracterização de duas formas de *Passiflora suberosa* Linnaeus (Passifloraceae) e seleção por *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae)**. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Biologia Animal, UFRGS, 92p.
- GILBERT, L.E. 1971. Butterfly-plant coevolution: has *Passiflora adenopoda* won the selectional race with Heliconiine butterflies? **Science** **172** (3983): 585-586.
- GILBERT, L.E. 1972. Pollen feeding and reproductive biology of *Heliconius* butterflies. **Proceedings of the National Academy of Sciences** **69** (6): 1403-1407.
- GILBERT, L.E. 1975. Ecological consequences of a coevolved mutualism between butterflies and plants, p. 210-240. *In*: L.E. GILBERT & P.H. RAVEN (Eds.). **Coevolution of animals and plants**, Austin, University of Texas Press, 263p.
- GILBERT, L.E. 1982. The coevolution of a butterfly and a vine. **Scientific American** **247** (2): 110-121.

- GORB, S. 2001. **Attachment devices of insect cuticle**. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, VI+305p.
- GRIMALDI, D. & M.S. ENGEL. 2005. **Evolution of the insects**. Cambridge, Cambridge University Press, XVI+796p.
- JANZEN, D.H. 1983. *Erblichia odorata* Seem. (Turneraceae) is a larval host plant of *Eueides procula vulgiformis* (Nymphalidae: Heliconiini) in Santa Rosa National Park, Costa Rica. **Journal of the Lepidopterists' Society** **37** (1): 70-77.
- HILLERTON, J.E.; S.E. REYNOLDS & J.F.V. VINCENT. 1982. On the indentation hardness of insect cuticle. **Journal of Experimental Biology** **96** (1): 45-52.
- HOLZINGER, H. & R. HOLZINGER. 1994. **Heliconius and related genera**. Venette, Sciences Naturelles, 328p.
- HUNTER, M.D. & J.N. MCNEIL. 1997. Host-plant quality influences diapause and voltinism in a polyphagous insect herbivore. **Ecology** **78** (4): 977-986.
- KERPEL, S.M. 2004. **Influência do conteúdo nutricional de *Passiflora suberosa* e *Passiflora misera* na performance, nutrição, digestão e comportamento de escolha de *Heliconius erato phyllis***. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Ecologia, UFRGS, XVII+163p.
- KERPEL, S.M. & G.R.P. MOREIRA. 2005. Absence of learning and local specialization on host plant selection by *Heliconius erato*. **Journal of Insect Behavior** **18** (3): 433-452.
- KHOR, E. 2001. **Chitin: fulfilling a biomaterials promise**. Oxford, Elsevier Science, XII+136p.
- KILLIP, E.P. 1938. The American species of Passifloraceae. **Publication Field Museum Botanical Serie** **19** (1): 1-613.
- KLOWDEN, M.J. 2007. **Physiological systems in insects**. San Diego, Academic Press, X+688p.

- LABANDEIRA, C.C. 1997. Insect mouthparts: Ascertaining the paleobiology of insect feeding strategies. **Annual Review of Ecology and Systematics** **28** (1): 153-193.
- LABANDEIRA, C.C. 2002. The history of associations between plants and animals, p.26-74. *In*: C.M. HERRERA & O. PELLMYR (Eds.). **Plant-animal interactions: an evolutionary approach**. London, Blackwell Science, XII+313p.
- LABANDEIRA, C.C. 2006. The four phases of plant-arthropod associations in deep time. **Geologica Acta** **4** (4): 409-438.
- LABANDEIRA, C.C. 2007. The origin of herbivory on land: Initial patterns of plant tissue consumption by arthropods. **Insect Science** **14** (4): 259-275.
- LARSSON, S. 2002. Resistance in trees to insects – an overview of mechanisms and interactions, p. 1-29. *In*: M.R. WAGNER (Ed.). **Mechanisms and deployment of resistance in trees to insects**. Hingham, Kluwer Academic Publishers, X+332p.
- LAZAREVIĆ. J. V. PERIĆ-MATARUGA; J. IVANOVIĆ & M. ANDJELKOVIĆ. 1998. Host plant effects on the genetic variation and correlations in the individual performance of the Gypsy Moth. **Functional Ecology** **12** (1): 141-148.
- MACDOUGAL, J.M. & C. FEUILLET. 2004. Systematics, p. 27-31. *In*: Ulmer, T. & J.M MacDougal (Eds.). **Passiflora: passionflowers of the world**. Portland, Timber Press, 430p.
- MATSUDA, R. 1965. Morphology and evolution of the insect head. **Memoirs of the American Entomological Institute** **4** (8): 1-334.
- MAYHEW, P.J. 2007. Why are there so many insect species? Perspectives from fossils and phylogenies. **Biological Reviews** **82** (3): 425-454.
- MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA 2005. Larval feeding behavior of *Gratiana spadicea* (Klug) (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) on its host plant, *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae): interaction with trichomes. **The Coleopterists Bulletin** **59** (2): 339-350.

- MEDINA, E.; V. GARCIA & E. CUEVAS. 1990. Sclerophylly and oligotrophic environments: relationships between leaf structure, mineral nutrient content, and drought resistance in tropical rain forests of the upper Rio Negro region. **Biotropica** **22** (1): 51-64.
- MELLO, M.O. & M.C. SILVA-FILHO. 2002. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology** **14** (2): 71-81.
- MENNA-BARRETO, Y. & A.M. ARAÚJO. 1985. Evidence for host plant preferences in *Heliconius erato phyllis* from southern Brazil (Nymphalidae). **Journal of Research on the Lepidoptera** **24** (1): 41-46.
- MERZENDORFER, H. & L. ZIMOCH. 2003. Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. **The Journal of Experimental Biology** **206** (24): 4393-4412.
- MEYERS, M.A.; P.Y. CHEN; A.Y.M. LIN & Y. SEKI. 2008. Biological materials: Structure and mechanical properties. **Progress in Materials Science** **53** (1): 1-206.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A. & J.F.A. BAUMGRATZ. 2004. *Passiflora* L. subgênero *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) na região Sudeste do Brasil. **Rodriguésia** **55** (85): 17-54.
- MONDIN, C.A. 2001. *Passiflora organensis* Gardner (Passifloraceae), primeira citação de ocorrência para o Rio Grande do Sul. **Pesquisas (Botânica)** **51** (1): 147-150.
- MUGRABI-OLIVEIRA, E. & G.R.P. MOREIRA. 1996a. Conspecific mimics and low host plant availability reduce egg laying by *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **13** (4): 929-937.
- MUGRABI-OLIVEIRA, E. & G.R.P. MOREIRA. 1996b. Size of and damage on shoots of *Passiflora suberosa* (Passifloraceae) influence oviposition site selection of *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **13** (4): 939-953.

- MUSCHNER, V.C.; A.P. LORENZ; A.C. CERVI; S.L. BONATTO; T.T. SOUZA-CHIES; F.M. SALZANO & L.B. FREITAS. 2003. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora* (Passifloraceae). **American Journal of Botany** **90** (8): 1229-1238.
- NEVILLE, A.C. 1970. Cuticle ultrastructure in relation to the whole insect, p. 17-39. *In*: A.C. NEVILLE (Ed.). **Insect Ultrastructure**. Oxford, Blackwell Scientific, 185p.
- PÉRICO, E. 1995. Interação entre quatro espécies de Heliconiini (Lepdoptera: Nymphalidae) e suas plantas hospedeiras (Passifloraceae) em uma floresta secundária do Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências** **3** (2): 3-18.
- PÉRICO, E. & A.M. ARAÚJO. 1991. Suitability of host plants (Passifloraceae) and their acceptableness by *Heliconius erato* and *Dryas iulia* (Lepidoptera, Nymphalidae). **Evolución Biológica** **5**: 59-74.
- PRICE, P.W. 1997. **Insect ecology**. New York, John Wiley & Sons, XII+874p.
- RAMOS, R.R. & A.V.L. FREITAS. 1999. Population biology and wing color variation in *Heliconius erato phyllis* (Nymphalidae). **Journal of the Lepidopterists' Society** **53** (1): 11-21.
- RAUPP, M.J. 1985. Effects of leaf toughness on mandibular wear of the leaf beetle, *Plagiodera versicolora*. **Ecological Entomology** **10** (1): 73-79.
- RODRIGUES, D. & G.R.P. MOREIRA. 1999. Feeding preference of *Heliconius erato* (Lep.: Nymphalidae) in relation to leaf age and consequences for larval performance. **Journal of the Lepidopterists' Society** **53** (3): 108-113.
- RODRIGUES, D. & G.R.P. MOREIRA. 2002. Geographical variation in larval host-plant use by *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) and consequences for adult life history. **Brazilian Journal of Biology** **62** (2): 321-322.
- RODRIGUES, D. & G.R.P. MOREIRA. 2004. Seasonal variation in larval host plants and consequences for *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) adult body size. **Austral Ecology** **29** (4): 437-445.

- ROMANOWSKI H.P.; R. GUS & A.M. ARAÚJO. 1985. Studies on the genetics and ecology of *Heliconius erato* (Lepid.; Nymph:). III. Population size, preadult mortality, adult resources and polymorphism in natural populations. **Revista Brasileira de Biologia** **45** (4): 563-569.
- SACCO, J.C. 1980. Passifloráceas, p.1-132. *In*: R. REITZ. (Org.). **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues, 132p.
- SILVEIRA, M.A.P.A. 2002. **Variação da dureza da folha em *Passiflora*, efeito no desgaste das mandíbulas de *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae) e conseqüências sobre a herbivoria**. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Biologia Animal, UFRGS, VIII+44p.
- SNODGRASS, R.E. 1935. **Principles of insect morphology**. New York, McGraw Hill Company, X+667p.
- SNODGRASS, R.E. 1950. Comparative studies on the jaws of mandibulate arthropods. **Smithsonian Miscellaneous Collections** **116** (1): 1-85.
- STRUWE, G. 1972. Spectral sensitivity of the compound eye in butterflies (*Heliconius*). **Journal of Comparative Physiology** **79** (2): 191-196.
- TIKKANEN, O-P.; P. NIEMELÄ & J. KERÄNEN. 2000. Growth and development of a generalist insect herbivore, *Operophtera brumata*, on original and alternative host plants. **Oecologia** **122** (4): 529-536.
- TURNER, J.R.G. 1971. Experiments on the demography of tropical butterflies. II. Longevity and home-range behaviour in *Heliconius erato*. **Biotropica** **3** (1): 21-31.
- VEGLIANTE, F. 2005. Larval head anatomy of *Heterogynis penella* (Zygaenoidea, Heterogynidae), and a general discussion of caterpillar head structure (Insecta, Lepidoptera). **Acta Zoologica** **86** (3): 167-194.
- VINCENT, J.F.V. & U.G.K. WEGST. 2004. Design and mechanical properties of insect cuticle. **Arthropod Structure & Development** **33** (3): 187-199.

YOCKTENG, R. & S. NADOT. 2004. Phylogenetic relationships among *Passiflora* species based on the glutamine synthetase nuclear gene expressed in chloroplast (ncpGS). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 31 (1): 379-396.

2. VARIAÇÃO NA DUREZA E ESPESSURA FOLIAR DAS PLANTAS HOSPEDEIRAS (PASSIFLORACEAE) E DANOS CAUSADOS PELA LARVA DE *Heliconius erato phyllis* (FABRICIUS, 1775) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE)

2.1. INTRODUÇÃO

As plantas apresentam características que influenciam a preferência, uso e performance dos herbívoros. Estruturas morfológicas, como os tricomas, bem como a dureza e espessura de alguns tecidos vegetais, constituem-se em características físicas limitantes ao ataque pelos mesmos (BERNAYS & CHAPMAN 1994). Sabe-se que a disponibilidade de água, nutrientes do solo, mudanças ambientais ou mesmo idade foliar se relacionam à dureza das folhas (FEENY 1970, RAUPP 1985, MEDINA *et al.* 1990, GAUER 2000, SILVEIRA 2002, BARP *et al.* 2006). Dessa forma, os insetos fitófagos enfrentam duas barreiras principais ao se alimentarem: no contato, a natureza da superfície foliar, e após, durante a ingestão, a dureza das folhas (BERNAYS 1991).

Folhas jovens geralmente são mais frágeis e delgadas, quando comparada às velhas. FEENY (1970), estudando a interação entre o carvalho (*Quercus robur* Linnaeus) e seus herbívoros, observou mudanças drásticas na dureza e espessura das folhas maduras, provavelmente devido à deposição de celulose e outros componentes na parede celular, além da redução no teor de água das células. Segundo esse autor, lagartas de *Operophtera brumata* Linnaeus, 1758 alimentadas com estas folhas apresentaram taxa de crescimento inferior àquelas criadas apenas com folhas jovens. COLEY (1983) constatou a existência de alta correlação entre as taxas de herbivoria e a dureza foliar, sendo a razão de consumo mais acentuada em folhas jovens. Assim, a presença de folhas jovens na planta hospedeira pode influenciar, tanto na escolha,

como na distribuição espacial e temporal de seus herbívoros (COLEY 1980, COLEY & BARONE 2001, LARSSON 2002).

Lagartas de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera, Nymphalidae) alimentam-se exclusivamente de passifloráceas (BENSON *et al.* 1975). Os primeiros ínstares iniciam o consumo pela região apical do ramo de suas hospedeiras, sendo que esta preferência diminui ao longo da ontogênese (RODRIGUES & MOREIRA 1999). Para o Rio Grande do Sul (RS), as espécies freqüentemente utilizadas por este heliconíneo são *Passiflora suberosa* Linnaeus e *Passiflora misera* Humbold, Bonpland & Hunth (MENNA-BARRETO & ARAÚJO 1985, PÉRICO 1995, RODRIGUES & MOREIRA 2002), sendo *P. misera* preferida tanto por larvas como por adultos, comparada a *P. suberosa* (KERPEL 2004, KERPEL & MOREIRA 2005). Entretanto, outras espécies podem ser também utilizadas, como por exemplo *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora caerulea* Linnaeus, com relativo sucesso. Porém, *Passiflora alata* Curtis é considerada letal para estas lagartas no RS (PÉRICO & ARAÚJO 1991), apesar de existirem registros de oviposição nesta espécie (BIEZANKO 1949, BROWN & MIELKE 1972, PÉRICO & ARAÚJO 1991, DELL'ERBA *et al.* 2005). SILVEIRA (2002), ao comparar *P. suberosa* e *P. misera*, quanto a dureza e espessura foliar, obteve maiores índices para *P. suberosa* e para as folhas maduras de ambas as espécies. Ao avaliar o desgaste das mandíbulas das larvas, a autora constatou maior desgaste na região incisora para larvas criadas em folhas duras. KERPEL (2004) observou que plantas de *P. suberosa* e *P. misera* cultivadas com adição de nitrogênio apresentaram folhas mais tenras, com maior quantidade de água, macro e micronutrientes. Essa autora também demonstrou que larvas criadas em *P. misera* têm maior taxa de crescimento, devido ao maior consumo e maior digestibilidade, em relação a *P. suberosa*.

Altas taxas de mortalidade dos insetos herbívoros podem também estar relacionadas a dificuldades na exploração de alimentos, em virtude de limitações

estruturais inerentes ao aparelho bucal dos mesmos. Por exemplo, as ninfas de primeiro ínstar de *Parabemisia myricae* (Kuwana, 1927) (Hemiptera, Aleyrodidae) não conseguem perfurar as folhas velhas de limoeiros, *Citrus limon* (Linnaeus), em virtude do tamanho do estilete deste ínstar não ser longo o suficiente para atingir o floema (WALKER 1985). Alta mortalidade é observada nos primeiros ínstaes do coleóptero *Paropsis atomaria* Olivier, 1807 (Chrysomelidae) quando as folhas jovens de sua hospedeira, *Eucalyptus blakelyi* Maiden, não estão disponíveis (LARSSON 2002). RODRIGUES & MOREIRA (1999) observaram que lagartas recém-eclodidas de *H. erato phyllis*, quando alimentadas com folhas velhas de *P. suberosa* não conseguem cortá-las, sendo que as poucas sobreviventes utilizam-se da raspagem dos tecidos mais velhos.

Assim, é sabido que há potencialmente grande variação na dureza e espessura entre folhas jovens e velhas e entre as espécies de passifloráceas utilizadas no Rio Grande do Sul por *H. erato phyllis*, e que estes fatores físicos podem influenciar na interação entre essas e os heliconíneos. No presente estudo, objetiva-se caracterizar tais hospedeiras quanto à dureza e espessura da lâmina foliar e da nervura central, ao longo do desenvolvimento do ramo, bem como os danos correspondentes causados pelas lagartas de *H. erato phyllis*, durante a ontogênese larval, em relação à idade da folha.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Caracterização das passifloráceas

Foram usadas plantas de *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata*, com objetivo de caracterizá-las quanto à dureza foliar, bem como a espessura, tanto do limbo quanto da nervura central.

Os ramos utilizados foram obtidos de plantas cultivadas, a partir de mudas coletadas nos seguintes locais: *P. misera* e *P. suberosa* – Horto Florestal Barba Negra (Barra do Ribeiro – RS, 30°23'S e 51°12'W); *P. caerulea* – Floresta Nacional (Flona) de São Francisco de Paula – RS (29°24'S e 50°22'W); *P. edulis* e *P. alata* – Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia (UFRGS – 30°04'S e 51°8'W – Porto Alegre, RS). As mudas de *P. misera* e *P. suberosa* foram cultivadas em vasos de plástico preto de 50 cm de altura, contendo o mesmo tipo de solo, e mantidas sob um telado (7m x 3,50m x 2,30m) existente no Departamento de Ecologia da UFRGS; já as mudas de *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata* foram cultivadas em canteiros existentes no departamento de Zoologia da UFRGS. Todas as plantas foram regadas a cada dois dias e vistoriadas diariamente, eliminando-se, na ocasião, herbívoros eventuais ocorrentes.

A dureza foliar foi determinada indiretamente, através da força necessária para perfurar 1 mm² de área foliar. Para tanto, foi utilizado um perfurômetro (FEENY 1970, adaptado por GAUER 2000). As folhas (n=10 folhas x 15 ramos/passiflorácea) foram posicionadas com a face adaxial para cima e as medidas foram padronizadas, sendo tomadas na região mediana da nervura central.

Para avaliar a espessura, tanto do limbo como da nervura central, foi feito um corte transversal a mão livre, com lâmina de metal afiada, nas proximidades do local perfurado. Os fragmentos foram montados em lâmina escavada/lamínula com gotas de água destilada, com o objetivo de evitar desidratação, e as medidas então obtidas sob microscópio Zeiss® Axiolab (aumento de 5 e 10 vezes), equipado com escala micrométrica. Foi realizada uma única medida por folha para cada parâmetro analisado e se utilizou como critério relativo de idade a ordem decrescente de inserção das folhas no ramo a partir da região apical.

2.2.2. Caracterização do dano

Larvas de *H. erato phyllis* (n=10/passiflorácea/tipo de ramo) foram criadas individualmente em ramos adicionais de *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. edulis*, das plantas descritas anteriormente. Os ramos foram de dois tipos: a) contendo apenas folhas jovens, da primeira apical até a quinta folha, e, b) com apenas folhas velhas, da sexta à décima folha (RODRIGUES & MOREIRA 1999). Os ramos foram acondicionados em garrafas plásticas com apoio de bambú, cobertos com tela de malha fina (FERRO 1998) e mantidos em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; 14horas/luz/dia), existente no laboratório de Morfologia e Comportamento de Insetos da UFRGS. As larvas foram vistoriadas diariamente, registrando-se o tipo de dano existente para verificação de sua freqüência ao longo da ontogênese larval, entre as espécies de passifloráceas e entre os tipos de folhas (jovens ou velhas). O dano foi fotografado e, após, a área foliar correspondente foi destacada e fixada em solução de Karnovsky (KARNOVSKY 1965).

Os procedimentos histológicos foram realizados no Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais. As amostras foram desidratadas em série etílica (JOHANSEN 1940), infiltradas em glicol-metacrilalato (Leica[®] Historesin) e seccionadas transversalmente em micrótomo rotatório (Leica Jung Biocut[®]) com espessura de $6\mu\text{m}$. As lâminas foram coradas com Azul de Toluidina 0,5%, pH 6,8 (O'BRIEN *et al.* 1964), montadas em água e fotografadas.

2.2.3. Análise estatística

Para avaliar a variação na dureza e espessura das folhas em relação à idade foliar, os dados foram submetidos à análise de regressão. Para comparar as equações quanto à inclinação e intersecção (dentro de cada parâmetro), realizou-se uma análise

de covariância a um critério de classificação (ANCOVA) (SOKAL & ROHLF 1995), com base nos dados linearizados (ln N), seguida por correção de Bonferroni. Foram realizadas ANOVA com medidas repetidas para comparar os parâmetros entre as espécies de passifloráceas, removendo o efeito da idade foliar, seguida de testes múltiplos de Tukey ($\alpha = 0,05$). As análises foram feitas utilizando o programa GraphPad Prism[®] (MOTULSKY & CHRISTOPOULOS 2003) e SPSS[®] (ARGYROUS 2005).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Caracterização fenotípica das passifloráceas

Foi observado um aumento progressivo dos parâmetros físicos analisados, ao longo da ontogênese foliar, para todas as passifloráceas (Figs. 2.1, 2.2 e 2.3). A relação entre as espécies, dos valores mais baixos aos mais altos, tanto da dureza como das espessuras do limbo foliar e da nervura central, apresentou a seguinte tendência: *P. misera* < *P. caerulea* < *P. suberosa* < *P. edulis* < *P. alata*.

Ao compararmos o coeficiente de inclinação das regressões lineares (Tabela 2.1) observa-se que houve diferença estatística entre todas as comparações com *P. edulis* referente ao parâmetro dureza foliar, sendo a taxa de crescimento deste mais pronunciado para esta passiflorácea em relação às demais. Mesmo padrão ocorre com os parâmetros espessura do limbo e da nervura central. Porém, as taxas de crescimento da espessura do limbo entre *P. suberosa* e *P. edulis* não diferiram estatisticamente. Comparando o coeficiente de intersecção (Tabela 2.1), o que indica às folhas mais jovens, verifica-se que praticamente todas as passifloráceas diferem na dureza, espessura do limbo e da nervura central; entretanto, *P. suberosa* e *P. edulis* não diferiram na espessura do limbo nesta idade foliar.

Figura 2.1. Variação na dureza ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=15 ramos) em relação a idade das folhas em ramos de passifloráceas do RS. A, *P. misera*; B, *P. suberosa*; C, *P. caerulea*; D, *P. edulis*; E, *P. alata*.

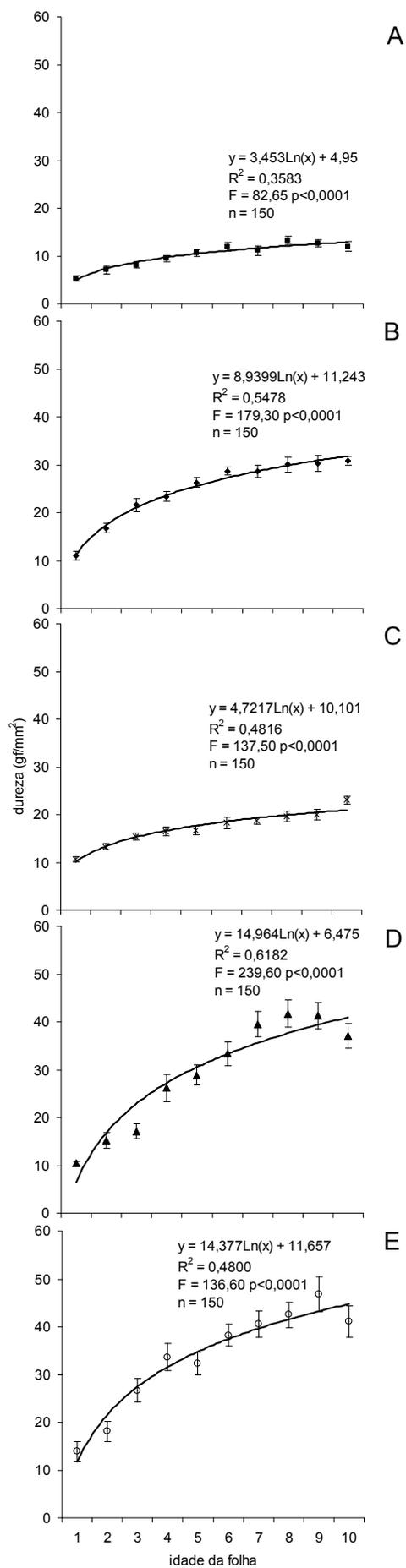


Figura 2.2. Variação na espessura foliar ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=15 ramos) em relação a idade das folhas em ramos de passifloráceas do RS. A, *P. misera*; B, *P. suberosa*; C, *P. caerulea*; D, *P. edulis*; E, *P. alata*.

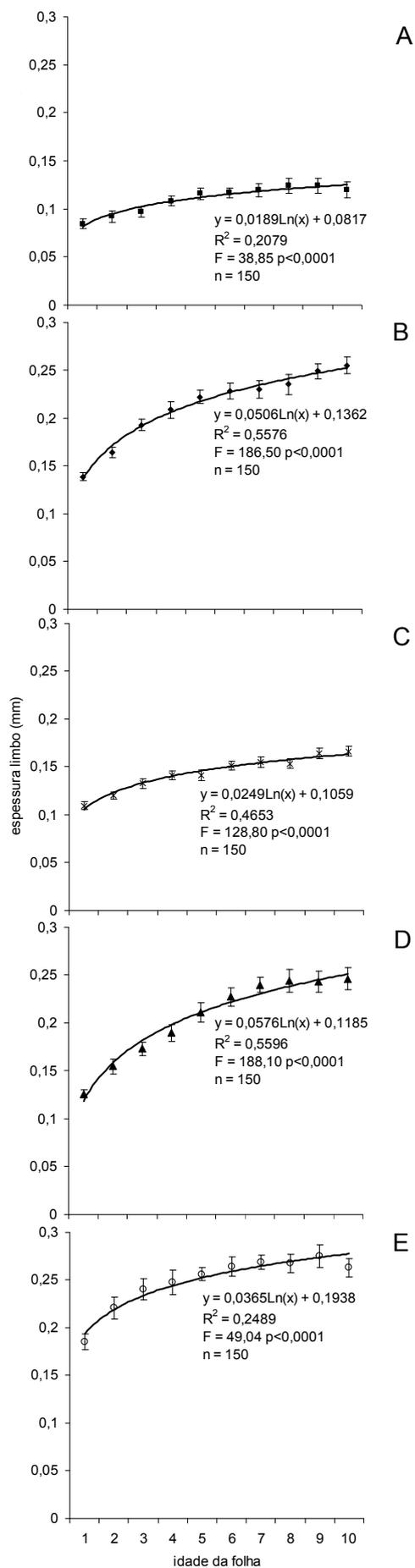


Figura 2.3. Variação na espessura da nervura central ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=15 ramos) em relação a idade das folhas em ramos de passifloráceas do RS. A, *P. misera*; B, *P. suberosa*; C, *P. caerulea*; D, *P. edulis*; E, *P. alata*.

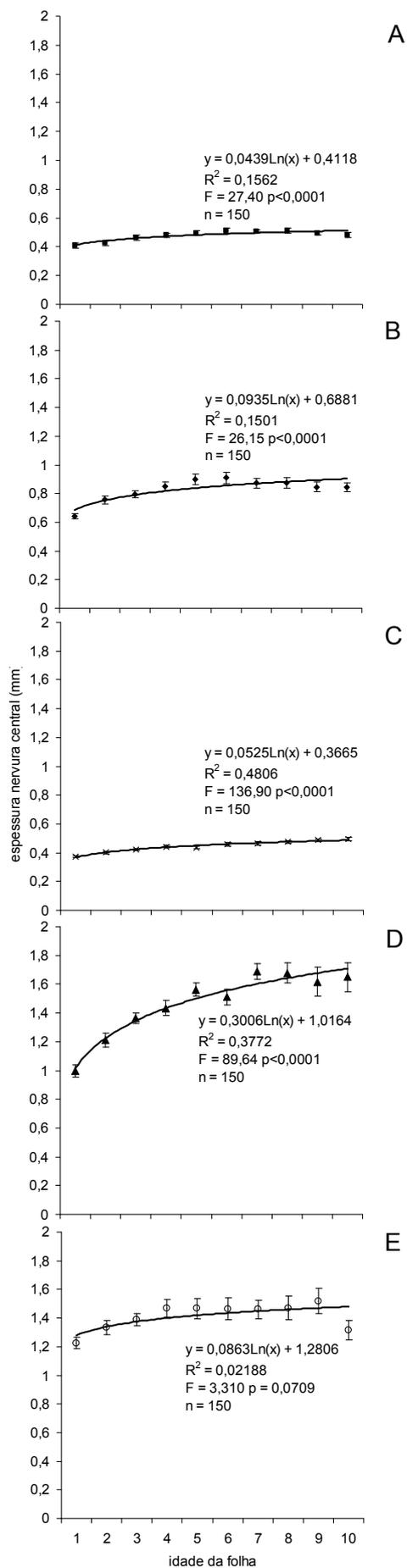


Tabela 2.1. Análise de covariância comparando as inclinações e intersecções das regressões lineares dos parâmetros físicos nas cinco espécies de passifloráceas.

Parâmetros	Comparação	Inclinações		Intersecções	
		F	ρ	F	ρ
Dureza foliar	<i>P. misera</i> x <i>P. suberosa</i>	0,1543	0,6947	644,073	<0,0001*
	<i>P. misera</i> x <i>P. caerulea</i>	3,6517	0,0569	282,245	<0,0001*
	<i>P. misera</i> x <i>P. edulis</i>	15,4523	0,0001*	#	#
	<i>P. misera</i> x <i>P. alata</i>	4,7038	0,0309	#	#
	<i>P. suberosa</i> x <i>P. caerulea</i>	8,5138	0,0038*	#	#
	<i>P. suberosa</i> x <i>P. edulis</i>	17,3191	<0,0001*	#	#
	<i>P. suberosa</i> x <i>P. alata</i>	4,3922	0,0369	#	#
	<i>P. caerulea</i> x <i>P. edulis</i>	47,3848	<0,0001*	#	#
	<i>P. caerulea</i> x <i>P. alata</i>	19,9278	<0,0001*	#	#
	<i>P. edulis</i> x <i>P. alata</i>	2,5536	0,1111	13,9938	0,0002*
Espessura do limbo	<i>P. misera</i> x <i>P. suberosa</i>	5,8519	0,0161	#	#
	<i>P. misera</i> x <i>P. caerulea</i>	0,1511	0,6978	171,956	<0,0001*
	<i>P. misera</i> x <i>P. edulis</i>	13,7324	0,0002*	#	#
	<i>P. misera</i> x <i>P. alata</i>	0,5145	0,4738	1280,15	<0,0001*
	<i>P. suberosa</i> x <i>P. caerulea</i>	7,6113	0,0062	#	#
	<i>P. suberosa</i> x <i>P. edulis</i>	3,0944	0,0796	5,4278	0,0205
	<i>P. suberosa</i> x <i>P. alata</i>	14,1427	0,0002*	#	#
	<i>P. caerulea</i> x <i>P. edulis</i>	18,6816	<0,0001*	#	#
	<i>P. caerulea</i> x <i>P. alata</i>	1,9747	0,1610	951,179	<0,0001*
	<i>P. edulis</i> x <i>P. alata</i>	26,1397	<0,0001*	#	#
Espessura da nervura	<i>P. misera</i> x <i>P. suberosa</i>	0,2167	0,6419	1048,05	<0,0001*
	<i>P. misera</i> x <i>P. caerulea</i>	3,5190	0,0616	25,5069	<0,0001*
	<i>P. misera</i> x <i>P. edulis</i>	18,7819	<0,0001*	#	#
	<i>P. misera</i> x <i>P. alata</i>	2,7944	0,0956	3381,94	<0,0001*
	<i>P. suberosa</i> x <i>P. caerulea</i>	1,2963	0,2558	1755,67	<0,0001*
	<i>P. suberosa</i> x <i>P. edulis</i>	13,4488	0,0003*	#	#
	<i>P. suberosa</i> x <i>P. alata</i>	3,9103	0,0489	#	#
	<i>P. caerulea</i> x <i>P. edulis</i>	11,3859	0,0008*	#	#
	<i>P. caerulea</i> x <i>P. alata</i>	11,4383	0,0008*	#	#
	<i>P. edulis</i> x <i>P. alata</i>	28,1188	<0,0001*	#	#

* Números seguidos por asteriscos indicam diferença significativa (correção de Bonferroni, $p < 0,005$)

Em virtude das inclinações serem muito diferentes, não foi possível testar se as intersecções diferem significativamente

Quando o efeito da idade da folha foi removido por meio da análise de variância com medidas repetidas (Tabela 2.2), *P. edulis* e *P. alata* apresentaram maior dureza foliar, seguidos por *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. misera* (Fig. 2.4). Com relação à espessura do limbo, *P. misera* e *P. caerulea* apresentaram menor espessura. Por outro lado, as folhas de *P. alata* foram mais espessas, e àquelas de *P. suberosa* e *P. edulis* iguais quanto a este parâmetro (Fig. 2.5). *P. alata* e *P. edulis* apresentaram também, maiores espessuras em relação à nervura central, seguidas por *P. suberosa*, enquanto que *P. misera* e *P. caerulea*, os menores valores para este parâmetro (Fig. 2.6).

2.3.2. Caracterização dos danos

As larvas de *H. erato phyllis* foram observadas causando danos a todas as estruturas vegetativas (região apical, folhas e caule) das passifloráceas analisadas. O principal dano correspondeu à diminuição da área foliar pelo consumo das mesmas, ou seja, o corte de todas as estruturas (ex. folhas, pecíolos, gavinhas e caule), começando pelas regiões distais e progredindo para as regiões proximais (Fig. 2.7A). Os primeiros ínstaes, quando em contato com folhas mais duras e espessas, removem a epiderme abaxial e o mesofilo foliar (parênquima paliçádico e clorofiliano), deixando a epiderme adaxial intacta (Figs. 2.7B, 2.8B). O corte da nervura principal é geralmente feito pela larva antes da alimentação propriamente dita. Nesse caso, ela corta parte desta estrutura, na face abaxial do limbo foliar, removendo a epiderme e danificando, totalmente ou parcialmente, o tecido vascular (xilema e floema); sem, no entanto, atingir a face adaxial, preservando a sustentação das estruturas distais ao dano, seja na lâmina foliar (Figs. 2.7C, 2.8D), quanto, por exemplo, numa gavinha (Figs. 2.7D, 2.8F). Embora ocorram ao longo da ontogênese, tais eventos especificamente, foram mais facilmente detectados e caracterizados nos ínstaes iniciais, onde a taxa de consumo foi menor.

Tabela 2.2. Análise de variância (ANOVA um fator) com medidas repetidas (fator idade foliar) do efeito da dureza, espessura do limbo e espessura da nervura central dos ramos de *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata*. Asteriscos indicam diferença estatística significativa ($\alpha=0,05$).

Parâmetro	Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	F	ρ
Dureza foliar	entre-passifloráceas	4	31,973	102,001	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	36	0,220		
	idade foliar	9	9,335	169,943	<0,0001*
	erro	70	0,313		
Espessura do limbo	entre-passifloráceas	4	16,681	94,888	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	36	0,042		
	idade foliar	9	1,951	165,084	<0,0001*
	erro	70	0,176		
Espessura da nervura	entre-passifloráceas	4	47,662	426,358	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	36	0,044		
	idade foliar	9	0,680	66,512	<0,0001*
	erro	70	0,112		

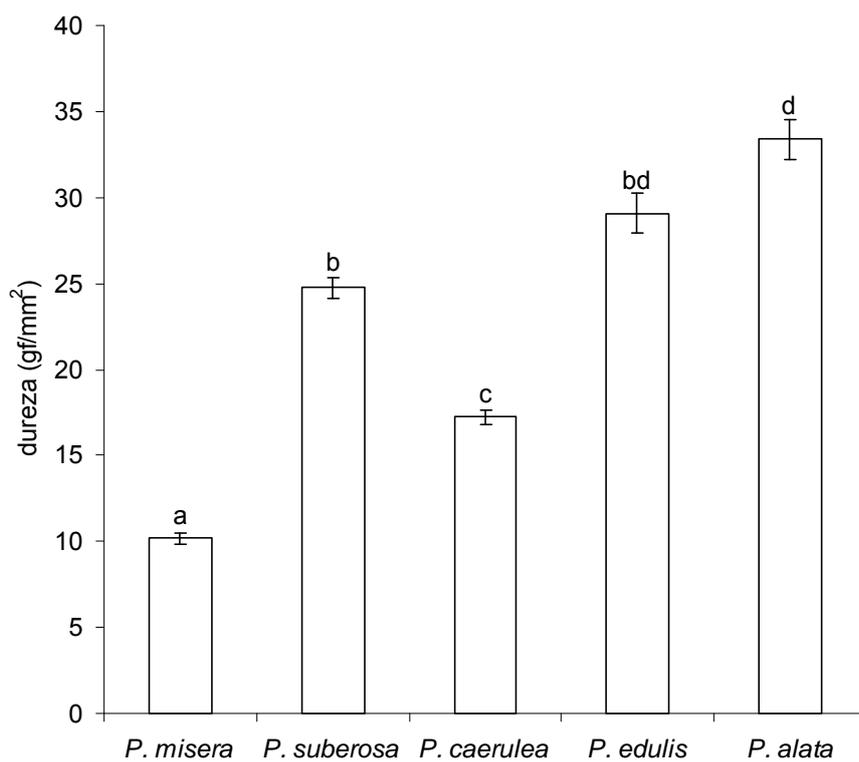


Figura 2.4. Dureza das folhas ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=150$) nas diferentes espécies de passifloráceas. Colunas seguidas de letras distintas diferem significativamente (ANOVA, medidas repetidas, seguida de testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$).

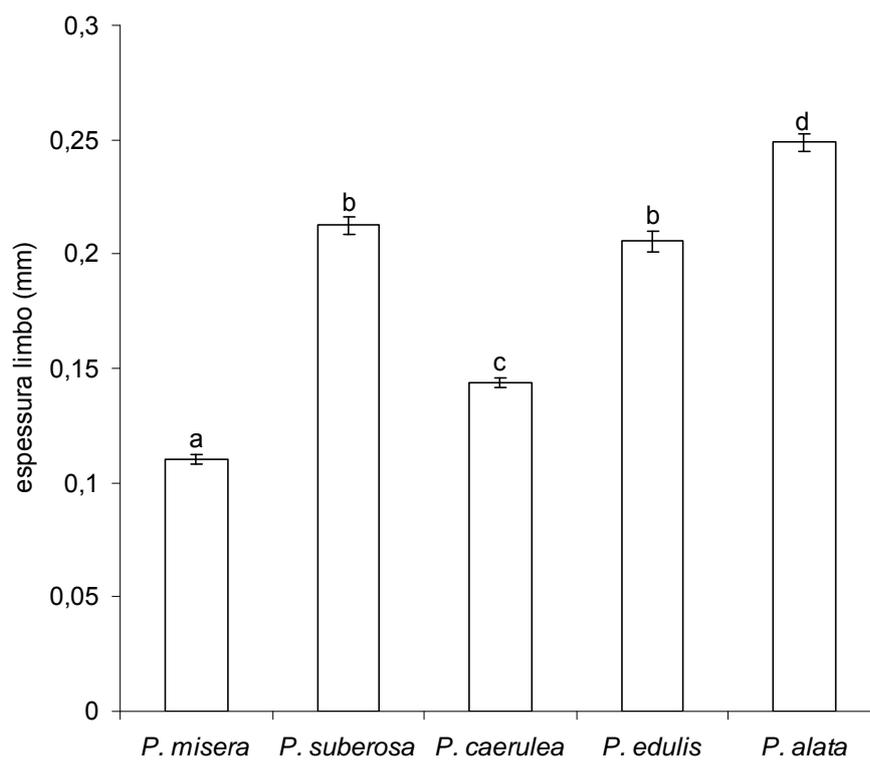


Figura 2.5. Espessura do limbo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=150$) nas diferentes espécies de passifloráceas. Colunas seguidas de letras distintas diferem significativamente (ANOVA, medidas repetidas, seguida de testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$).

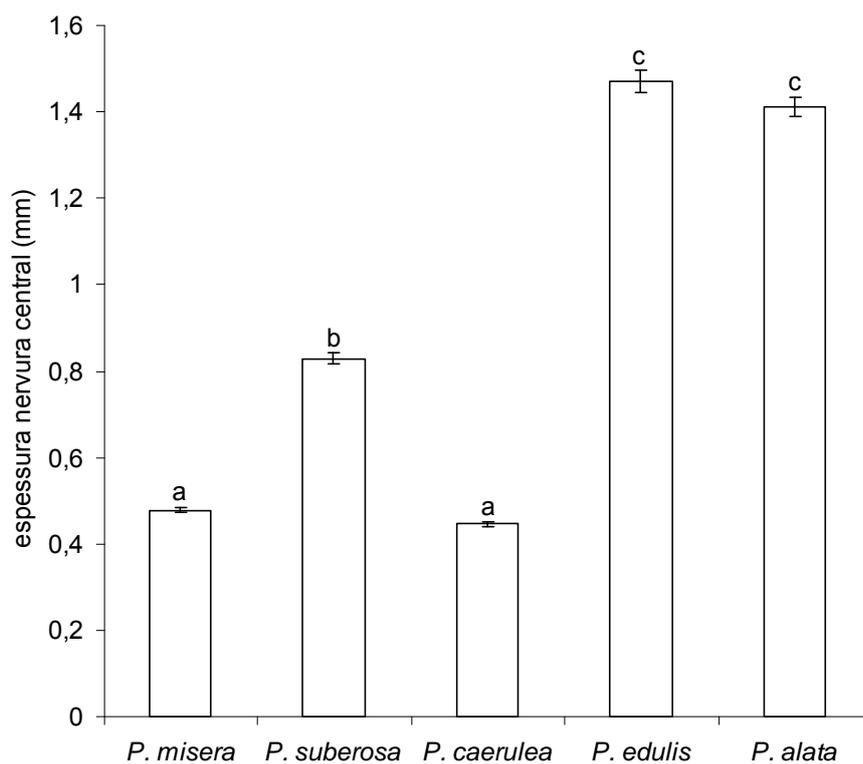


Figura 2.6. Espessura da nervura central ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=150) nas diferentes espécies de passifloráceas. Colunas seguidas de letras distintas diferem significativamente (ANOVA, medidas repetidas, seguida de testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$).

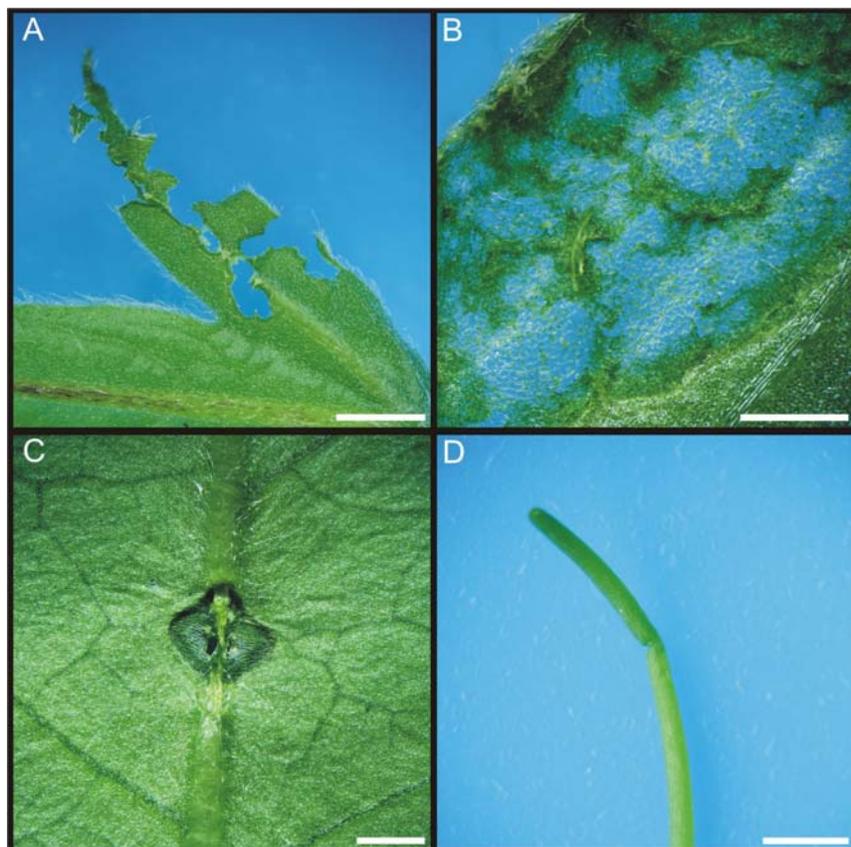


Figura 2.7. Danos causados por larvas de primeiro e quinto ínstares de *H. erato phyllis* em *P. suberosa*. A, face adaxial do limbo, com cortes na borda foliar; B, face abaxial evidenciando a raspagem do limbo; C, face abaxial com corte da nervura central; D, corte parcial da gavinha. Barras =1 cm, 0,5 mm, 0,5 mm e 1mm, respectivamente.

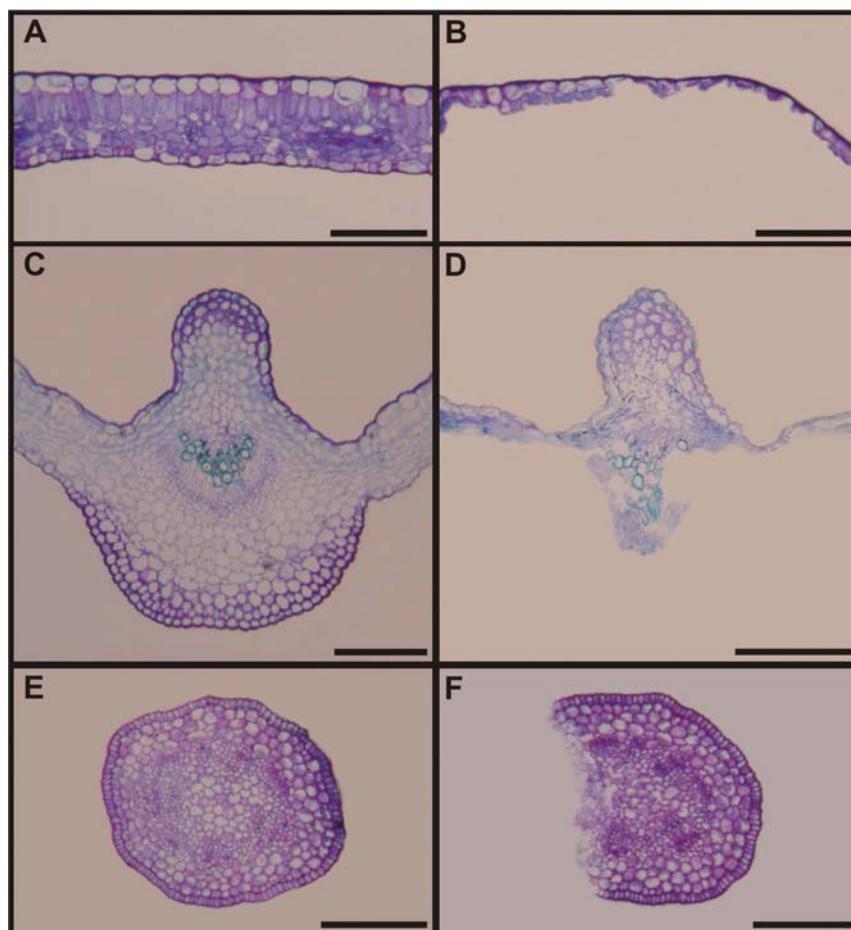


Figura 2.8. Cortes histológicas transversais de *P. suberosa*, de folhas intactas (esquerda) e danificadas por *H. erato phyllis* (direita). A, limbo foliar; B, raspagem do limbo; C, nervura central; D, corte parcial da nervura central; E, gavinha, F, corte parcial da gavinha. Barras = 150, 150, 250, 250, 200 e 200 μm , respectivamente.

Ao comparar a ocorrência dos danos causados pelas larvas às estruturas da planta, quando criadas em *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. edulis*, observou-se que o dano mais freqüente foi o corte total das estruturas destas passifloráceas (Figs. 2.9 a 2.12). A freqüência de observação deste tipo de dano tendeu a avançar progressivamente para folhas mais velhas, ao longo da ontogênese larval, independente da planta hospedeira. O corte da nervura foi observado em todas as espécies de passifloráceas e idades foliares. Entretanto, a raspagem do limbo foi observada, com maior freqüência, quando larvas de primeiro ínstar se alimentavam em folhas velhas (Figs. 2.9A, 2.10A e B, 2.11A, 2.12A).

Os danos causados pelos primeiros ínstaes, quando alimentados com folhas velhas, foram registrados nas folhas seis e sete de *P. suberosa* e *P. edulis* (Figs. 2.10 e 2.12); porém, em *P. misera* (Fig. 2.9) e *P. caerulea* (Fig. 2.11), foram observados danos em todas as folhas velhas. Danos causados ao caule foram freqüentemente observados nos ínstaes finais quando criados em ramos com folhas jovens e velhas de *P. misera* (Fig. 2.10) e em ramos com folhas jovens de *P. caerulea* (Fig. 2.11).

2.4. DISCUSSÃO

De maneira geral, as folhas jovens apresentaram similaridade entre as diferentes passifloráceas utilizadas pelas larvas de *H. erato phyllis* no RS, quanto aos parâmetros dureza e espessura foliar. Os dados evidenciaram, porém, a existência de aumento progressivo e diferenciado destes parâmetros, em relação ao aumento na idade da folha. Em conseqüência, houve um efeito significativo, intrínseco a cada passiflorácea em relação a esses parâmetros, quando a variável idade da folha foi removida das análises. Em consonância, a variação desses parâmetros, ao longo do

Figura 2.9. Variação quantitativa dos danos causados por larvas de primeiro ao quinto ínstar de *H. erato phyllis* (de A a E, respectivamente) em *P. misera*. Ramos com folhas jovens situam-se na coluna da direita e, com folhas velhas, na esquerda. RA, região apical; F1 a F10, primeira à décima folha, respectivamente; CA, caule. Números associados às legendas representam o total de observações por ínstar/idade foliar para o corte (barras vazias), corte da nervura/feixe vascular (barras cheias, pretas) e raspagem do limbo (barras cheias, cinzas).

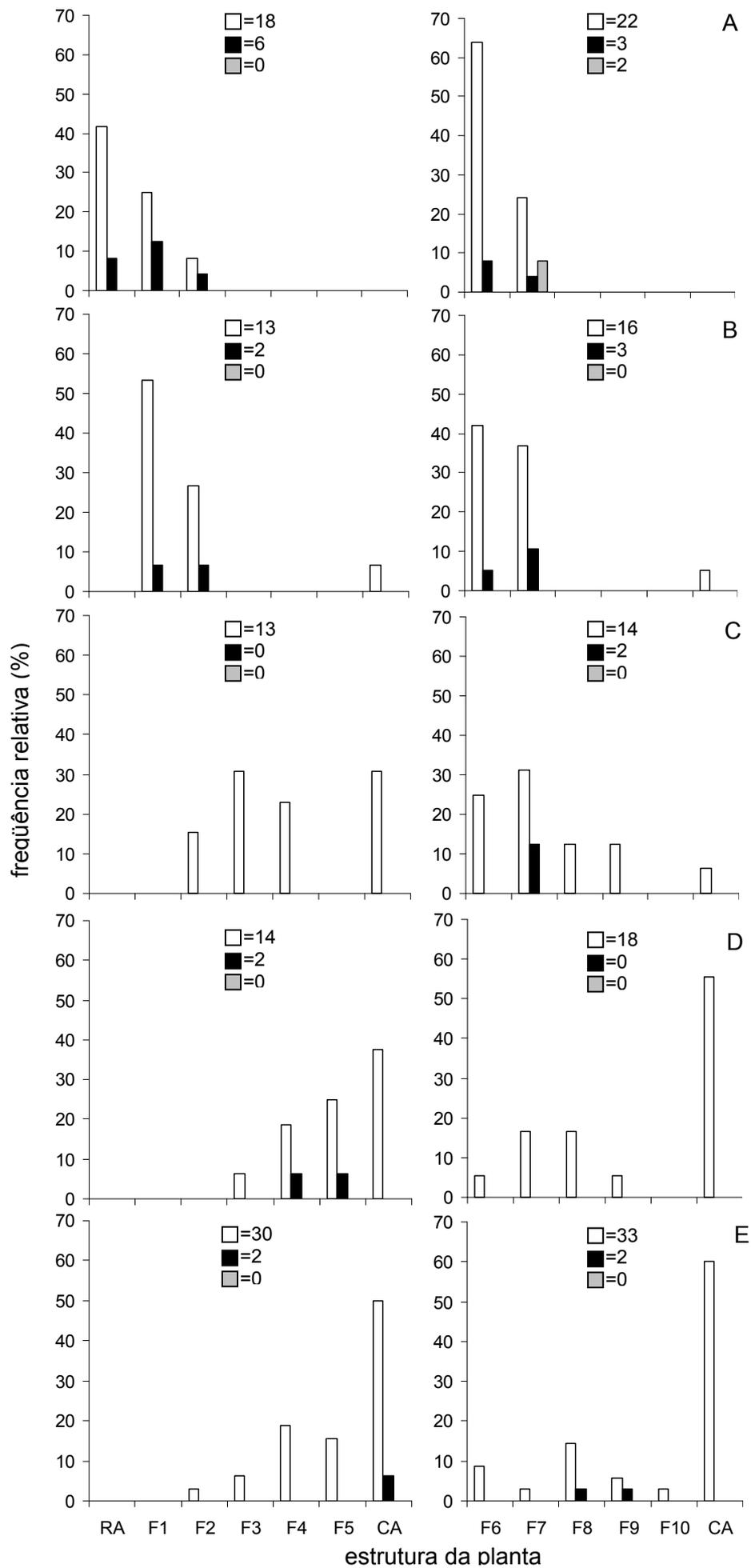


Figura 2.10. Variação quantitativa dos danos causados por larvas de primeiro ao quinto ínstar de *H. erato phyllis* (de A a E, respectivamente) em *P. suberosa*. Ramos com folhas jovens situam-se na coluna da direita e, com folhas velhas, na esquerda. RA, região apical; F1 a F10, primeira à décima folha, respectivamente; CA, caule. Números associados às legendas representam o total de observações por ínstar/idade foliar para o corte (barras vazias), corte da nervura/feixe vascular (barras cheias, pretas) e raspagem do limbo (barras cheias, cinzas).

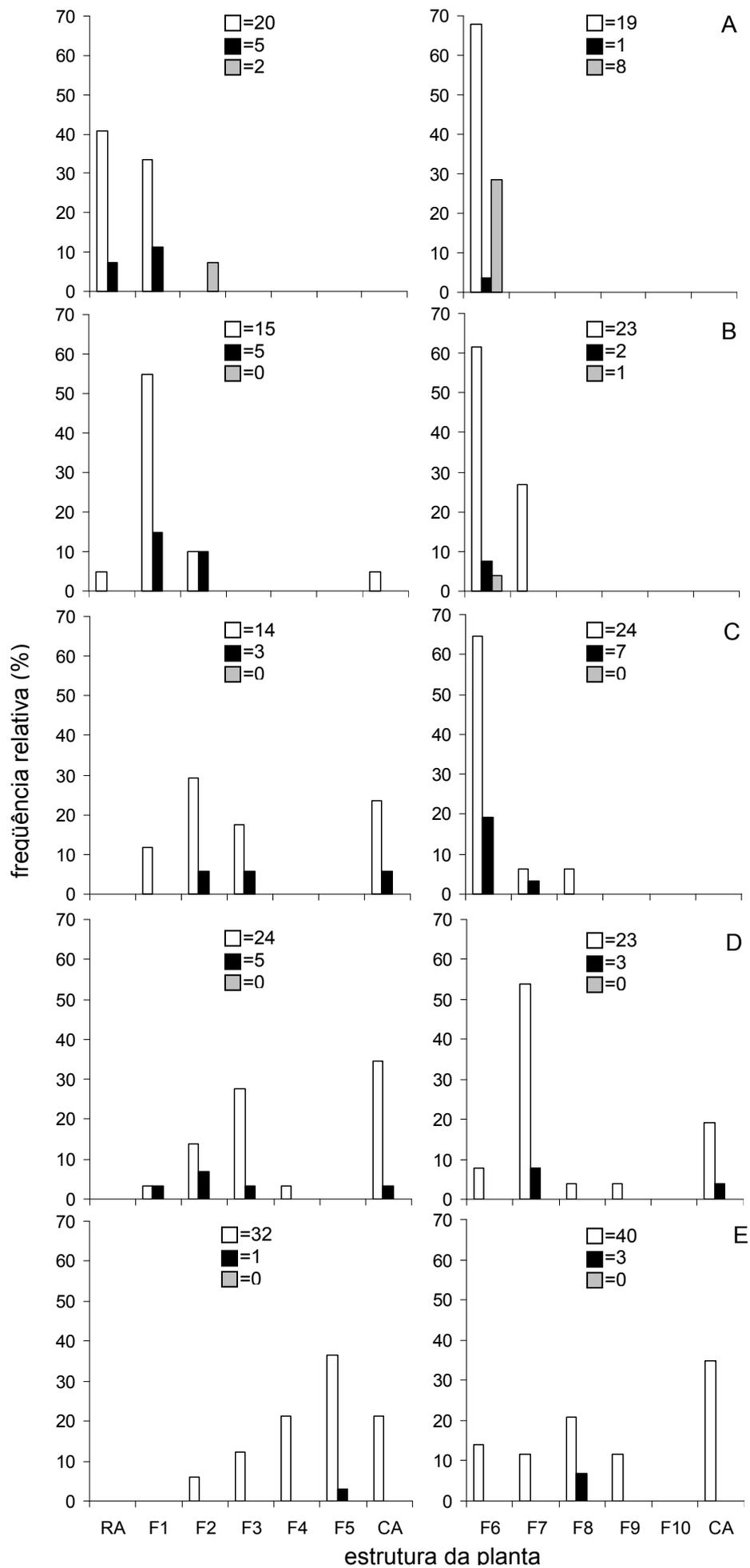


Figura 2.11. Variação quantitativa dos danos causados por larvas de primeiro ao quinto ínstar de *H. erato phyllis* (de A a E, respectivamente) em *P. caerulea*. Ramos com folhas jovens situam-se na coluna da direita e, com folhas velhas, na esquerda. RA, região apical; F1 a F10, primeira à décima folha, respectivamente; CA, caule. Números associados às legendas representam o total de observações por ínstar/idade foliar para o corte (barras vazias), corte da nervura/feixe vascular (barras cheias, pretas) e raspagem do limbo (barras cheias, cinzas).

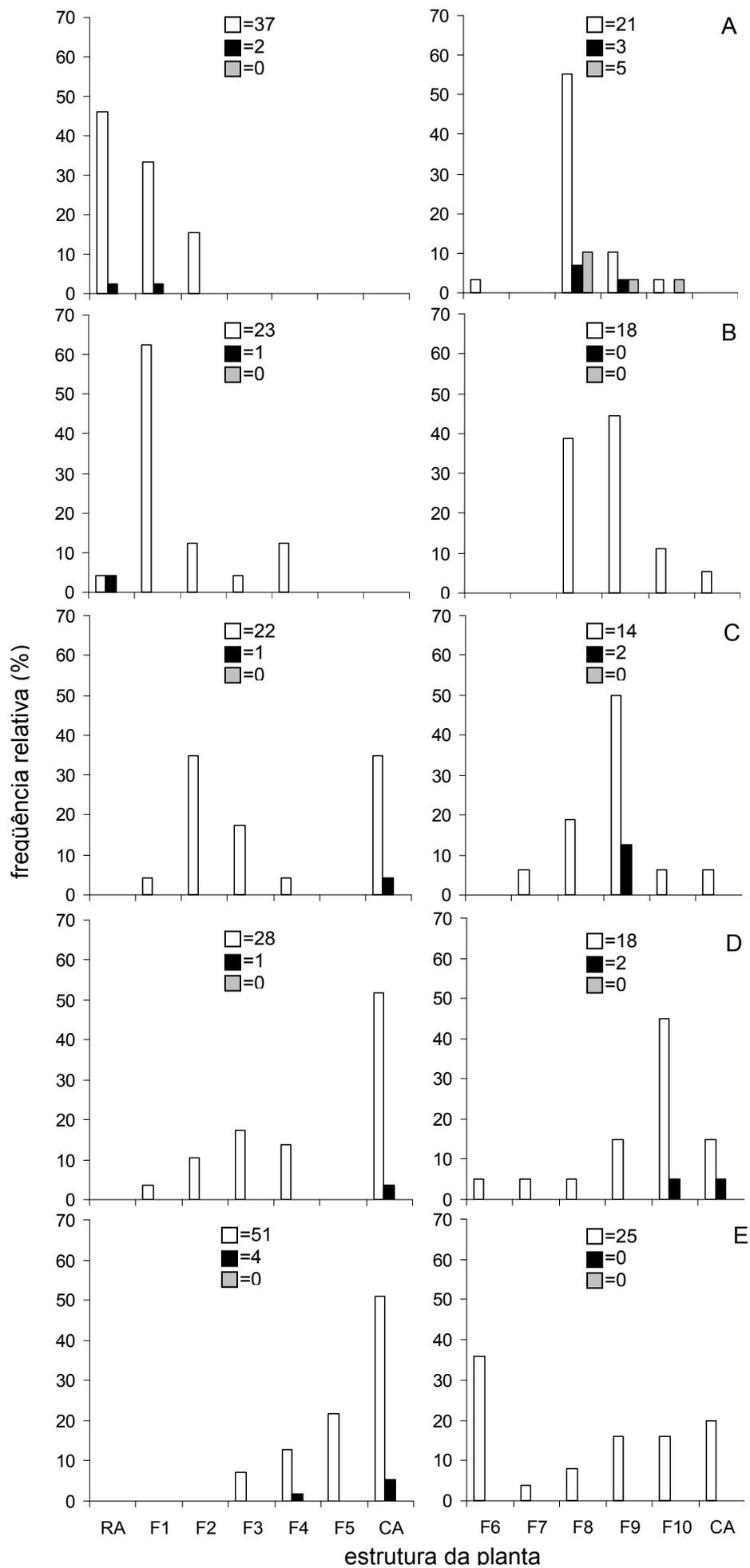
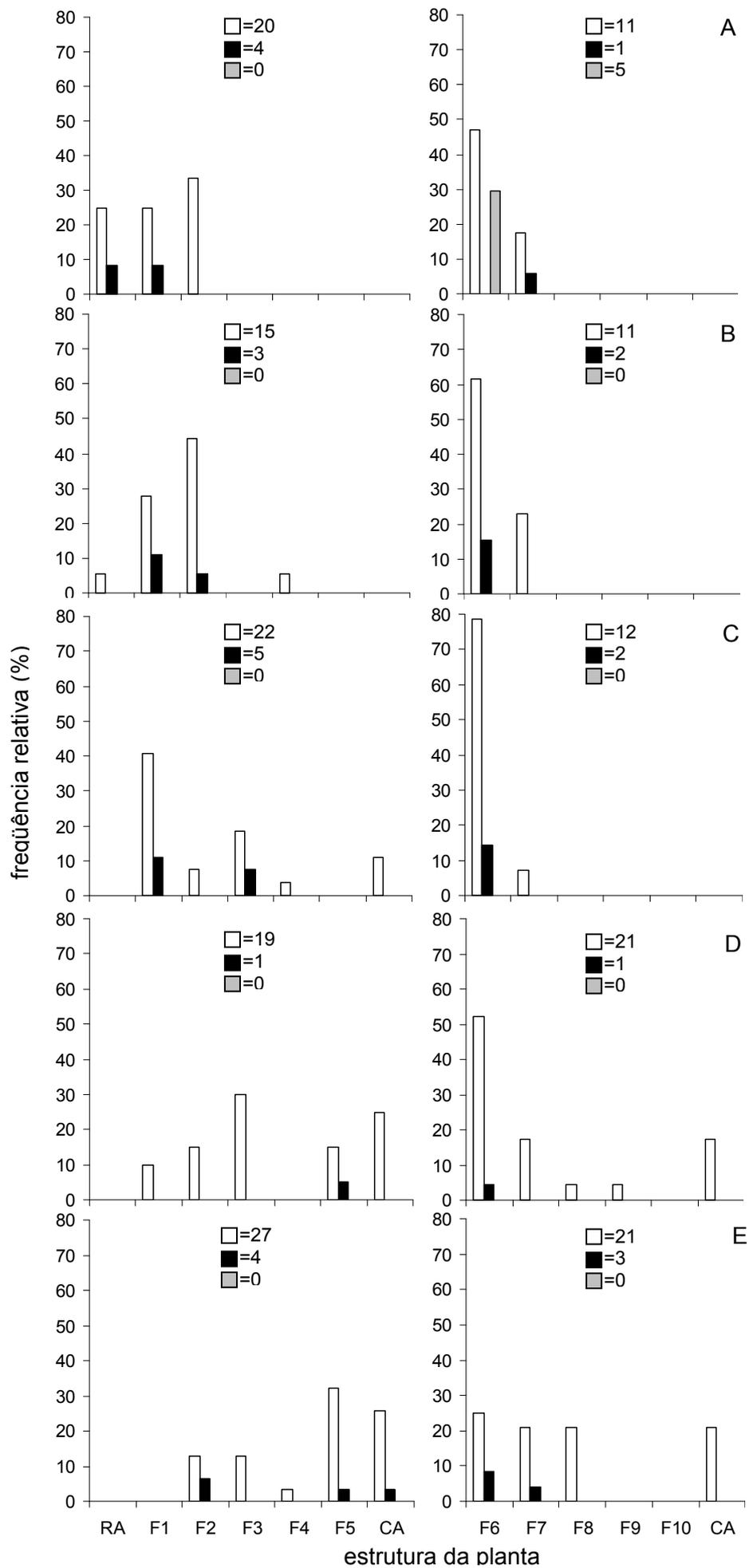


Figura 2.12. Variação quantitativa dos danos causados por larvas de primeiro ao quinto ínstar de *H. erato phyllis* (de A a E, respectivamente) em *P. edulis*. Ramos com folhas jovens situam-se na coluna da direita e, com folhas velhas, na esquerda. RA, região apical; F1 a F10, primeira à décima folha, respectivamente; CA, caule. Números associados às legendas representam o total de observações por ínstar/idade foliar para o corte (barras vazias), corte da nervura/feixe vascular (barras cheias, pretas) e raspagem do limbo (barras cheias, cinzas).



desenvolvimento foliar nos ramos influenciou no tipo e na freqüência dos danos causados pelas larvas a essas hospedeiras.

O aumento na dureza e na espessura foliar em relação à idade da folha é há tempo reconhecido. Em parte, os resultados aqui obtidos corroboram aqueles de SILVEIRA (2002), referentes a *P. misera* e *P. suberosa*. FEENY (1970) constatou que folhas jovens de carvalho (*Q. robur*) são mais finas e frágeis tornando-se mais espessas e resistentes com o aumento da idade. O mesmo pode ser observado para folhas de salgueiros (*Salix babylonica* Linnaeus e *Salix alba* Linnaeus) por RAUPP (1985). As espécies de passifloráceas tendem a seguir esse mesmo padrão (GAUER 2000, SILVEIRA 2002, BARP *et al.* 2006). O incremento na dureza das folhas pode ocorrer devido à deposição de celulose, hemicelulose, pectinas ou outros materiais depositados na parede celular (FEENY 1970, DICKISON 2000, LUCAS *et al.* 2000). Pode se relacionar, também, com o decréscimo no teor de água dentro das folhas velhas (FEENY 1970), bem como a mudanças ambientais, como disponibilidade de água, grau de insolação e nutrientes do solo (MEDINA *et al.* 1990, GAUER 2000, KERPEL 2004, BARP *et al.* 2006). Por fim, tanto a dureza, como a espessura das folhas, se associam com as camadas dos parênquimas paliçádico e esponjoso (ESAU 1965, LARCHER 1995, DICKISON 2000). Em estudo adicional, conduzido em parceria com o Laboratório de Anatomia Vegetal da UFRGS (DELLAGLIO *et al.*, dados inéditos), foi constatado, para essas passifloráceas, que o parênquima paliçádico do mesofilo é uniestratificado, e que o esponjoso se apresenta em diversas camadas. *P. suberosa* possui a maior altura do parênquima paliçádico quando comparado a *P. misera*, *P. caerulea*, *P. alata* e *P. edulis*, respectivamente, enquanto que as maiores alturas para o parênquima esponjoso foram encontradas em *P. alata* e *P. edulis*, seguido de *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. misera*.

Aspectos físicos, tais como a dureza e a espessura foliar, podem impedir ou reduzir a alimentação dos insetos herbívoros. FEENY (1970) concluiu que a dureza foliar é o fator proximal que limita larvas da mariposa *O. brumata* de se alimentarem de folhas velhas de carvalho. COLEY (1983), estudando as respostas dos herbívoros às dietas com folhas jovens e maduras de árvores tropicais, definiu que a razão de consumo se correlaciona com a dureza foliar, sendo que a herbivoria se reduz em folhas maduras. Larvas do pierídeo *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) apresentam menor desempenho quando alimentadas com folhas velhas de couve (*Brassica oleracea* Linnaeus) (BITTENCOURT-RODRIGUES & ZUCOLOTO 2009). Por fim, o desgaste das mandíbulas pode se relacionar com a dureza das folhas. Por exemplo, nas larvas do coleóptero *Plagioderia versicolora* (Laicharting, 1781), o desgaste da região incisora é maior quando alimentadas em folhas maduras de *S. babylonica* e *S. alba* (RAUPP 1985). O mesmo pode ser observado para as larvas de *H. erato phyllis*, onde há influência da idade foliar, tanto na performance, como no desgaste mandibular (RODRIGUES & MOREIRA 1999, SILVEIRA 2002).

Os mecanismos envolvidos no tipo de dano causado por *H. erato phyllis* às suas hospedeiras podem estar relacionados a características físicas e químicas destas, a limitações morfológicas das larvas e ao comportamento alimentar. RODRIGUES & MOREIRA (1999) constataram que as poucas larvas sobreviventes de ínstaes iniciais deste heliconíneo, quando transferidas para folhas velhas de *P. suberosa*, valeram-se da raspagem do limbo foliar em sua alimentação, decorrente, provavelmente da fragilidade das mandíbulas de primeiro ínstar, conforme é explorado no Capítulo 3. O mesmo tipo de dano foi observado para as larvas de primeiro e segundo ínstaes de *Heliconius melpomene* (Linnaeus, 1758), quando criadas em folhas velhas (ALEXANDER 1961), e de *Eueides isabella* (Stoll, 1781) *Eueides aliphera* (Godart, 1819), e *Dione juno*

juno (Cramer, 1779), tanto em folhas velhas quanto jovens de suas hospedeiras (ALEXANDER 1961, BIANCHI 2005).

ALEXANDER (1961) estudou o comportamento alimentar de 11 espécies de heliconíneos de Trinidad, e sugeriu que o corte da nervura pode ocorrer em virtude de: (1) ser um mecanismo de controle do fluxo de água para as extremidades do limbo foliar, ou (2) ser um mecanismo comportamental para marcar o território. Para esta autora, a segunda hipótese seria mais plausível, pois, segundo suas observações, o corte da nervura não danificaria o feixe vascular. Entretanto, não se valeu de técnicas de histologia vegetal para dar suporte à sua afirmação. Há registros na literatura sobre vários organismos que se utilizam do corte da nervura para reduzir o turgor hídrico da região distal ao corte, para diminuir a ingestão de compostos do metabolismo secundário, para neutralizar a ação de barreiras físicas (como o látex e resinas), bem como para a construção de abrigos (DUSSOURD & EISNER 1987, DUSSOURD & DENNO 1991, DUSSOURD 1993, 1997, 1999, CLARKE & ZALUCKI 2000, IDE 2004). No caso de *H. erato phyllis*, que ao contrário de outras espécies de heliconíneos, como por exemplo *Dryas iulia* (Fabricius, 1775) (MEGA 2004), não constrói refúgios foliares, supõe-se que tal comportamento estereotipado, que ocorre em todos os instares, esteja associado à um mecanismo de defesa a compostos químicos exudados durante à alimentação, os quais restam ser identificados.

Os primeiros instares larvais, em geral, apresentam pouca mobilidade, sendo, portanto, a primeira alimentação dos heliconíneos influenciada pela escolha de oviposição das fêmeas (ALEXANDER 1961, BROWN 1981). Os adultos de *H. erato phyllis* ovipositam preferencialmente nas regiões mais jovens da planta, que não apresentam indícios visuais de coespecíficos, em ramos intactos e com maior disponibilidade de folhas (MUGRABI-OLIVEIRA & MOREIRA 1996a, b). RODRIGUES & MOREIRA (1999) verificaram que a preferência alimentar desta espécie se relaciona à idade da folha,

onde os primeiros ínstaes se alimentam exclusivamente da região apical do ramo e esta preferência diminui nos ínstaes subseqüentes. Por esse motivo, os danos das larvas iniciais ocorreram, com maior freqüência, na região apical e progredirem para regiões mais velhas, ao longo da ontogênese. Quando transferidas para folhas de idade maior o padrão de dano se altera, não há corte da folha, mas sim uma simples raspagem. Dessa forma, verifica-se que fatores limitantes, como a dureza e a espessura das folhas das hospedeiras de *H. erato phyllis*, aliados a limitações morfológicas deste organismo (Capítulo 3), podem modular o tipo de dano e a sua freqüência. Essas características servem de base para o entendimento da interação existente entre este heliconíneo e as espécies de passifloráceas que lhe conferem melhor performance.

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS²

- ALEXANDER, A.J. 1961. A study of the biology and behavior of the caterpillars, pupae and emerging butterflies of the subfamily Heliconiinae in Trinidad, West Indies. Part I. Some aspects of larval behavior. **Zoologica** **46** (1): 1-25.
- ARGYROUS, G. 2005. **Statistics for research: with a guide to SPSS**. London, The Cromwell Press, XIV+401p.
- BARP, E.A.; G.L.G. SOARES; G. GOSMANN; A.M. MACHADO; C. VECCHI & G.R.P. MOREIRA. 2006. Phenotypic plasticity in *Passiflora suberosa* L. (Passifloraceae): induction and reversion of two morphs by variation in light intensity. **Brazilian Journal of Biology** **66** (3): 853-862.
- BENSON, W.W.; K.S. BROWN-JR. & L.E. GILBERT. 1975. Coevolution of plants and herbivores: passion flower butterflies. **Evolution** **29** (4): 659-680.

² Referências de acordo com a Revista Brasileira de Zoologia, http://www.sbzoologia.org.br/sistema/up_anexos/998c44e765bcbec87f86a853e52b0aaf.pdf, acessado em 17.11.2009

- BERNAYS, E.A. 1991. Evolution of insect morphology in relation to plants. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London** **333** (1267): 257-264.
- BERNAYS, E.A. & R.F. CHAPMAN. 1994. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York, Chapman & Hall, XIV+312p.
- BIANCHI, V. 2005. **Implicações ecológicas das plantas hospedeiras e da agregação larval sobre *Dione juno juno* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Nymphalidae)**. Porto Alegre, Tese de Doutorado em Ecologia, UFRGS, XVI+112p.
- BIEZANKO, C.M. 1949. **Acraeidae, Heliconiidae e Nymphalidae de Pelotas e seus arredores (Contribuição ao conhecimento da fisiografia do Rio Grande do Sul)**. Pelotas, Livraria Globo, 16p.
- BITTENCOURT-RODRIGUES, R.S. & F. ZUCOLOTO. 2009. How feeding on young and old leaves affects the performance of *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera, Pieridae). **Revista Brasileira de Entomologia** **53** (1): 102-106.
- BROWN-JR., K.S. 1981. The biology of *Heliconius* and related genera. **Annual Review Entomology** **26** (1): 427-456
- BROWN-JR., K.S. & O.H.H. MIELKE. 1972. The heliconians of Brazil (Lepidoptera: Nymphalidae). Part II. Introduction and general comments, with a supplementary revision of the tribe. **Zoologica** **57** (1): 1-40.
- CLARKE, A.R. & M.P. ZALUCKI. 2000. Foraging and vein-cutting behaviour of *Euploea core corinna* (W. S. Macleay) (Lepidoptera: Nymphalidae) caterpillars feeding on latex-bearing leaves. **Australian Journal of Entomology** **39** (4): 283-290.
- COLEY, P.D. 1980. Effects of leaf age and plant life history patterns on herbivory. **Nature** **284** (5756): 545-546.
- COLEY, P.D. 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. **Ecological Monographs** **53** (2): 209-234.

- COLEY, P.D. & J.A. BARONE. 2001. Ecology of defenses, p. 11-21. *In*: S. LEVIN (Ed.) **Encyclopedia of biodiversity**. San Diego, Academic Press.
- DELL'ERBA, R; L.A. KAMINSKI & G.R.P. MOREIRA. 2005. O estágio de ovo dos Heliconiini (Lepidoptera, Nymphalidae) do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia** **95** (1): 29-46.
- DICKISON, W.G. 2000. **Integrative plant anatomy**. San Diego, Academic Press, XVII+533p.
- DUSSOURD, D.E. 1993. Foraging with finesse: caterpillar adaptations for circumventing plant defenses, p. 92-131. *In*: N.E. STAMP & T.M. CASEY (Eds.). **Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging**. New York, Chapman and Hall, 587p.
- DUSSOURD, D.E. 1997. Plant exudates trigger leaf-trenching by cabbage loopers, *Trichoplusia ni* (Noctuidae). **Oecologia** **112** (3): 362-369.
- DUSSOURD, D.E. 1999. Behavioral sabotage of plant defense: do vein cuts and trenches reduce insect exposure to exudate? **Journal of Insect Behavior** **12** (4): 501-514.
- DUSSOURD, D.E & R.F. DENNO. 1991. Deactivation of plant defense: correspondence between insect behavior and secretory canal architecture. **Ecology** **72** (4): 1383-1396.
- DUSSOURD, D.E. & T. EISNER. 1987. Vein-cutting behavior: insect counterploy to the latex defense of plants. **Science** **237** (4817): 898-901.
- ESAU, K. 1965. **Plant anatomy**. New York, Toppan Company, XX+767p.
- FEENY, P. 1970. Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. **Ecology** **51** (4): 565-581.
- FERRO, V.G. 1998. **Criação de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae) em condições semi-naturais**. Porto Alegre, Dissertação de Bacharelado em Biologia (UFRGS), 49p.

- GAUER, E.A.B. 2000. **Caracterização de duas formas de *Passiflora suberosa* Linnaeus (Passifloraceae) e seleção por *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae)**. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Biologia Animal, UFRGS, 92p.
- IDE, J.-Y. 2004. Leaf trenching by Indian red admiral caterpillars for feeding and shelter construction. **Population Ecology** **46** (3): 275-280.
- JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, MacGraw-Hill Book Company, XI+523 p.
- KARNOVSKY, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cellular Biology** **27** (1): 137-138.
- KERPEL, S.M. 2004. **Influência do conteúdo nutricional de *Passiflora suberosa* e *Passiflora misera* na performance, nutrição, digestão e comportamento de escolha de *Heliconius erato phyllis***. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Ecologia, UFRGS, XVII+163p.
- KERPEL, S.M. & G.R.P. MOREIRA. 2005. Absence of learning and local specialization on host plant selection by *Heliconius erato*. **Journal of Insect Behavior** **18** (3): 433-452.
- LARCHER, W. 1995. **Physiological plant ecology: ecophysiological and stress physiology of functional groups**. Berlin, Springer Verlag, 506p.
- LARSSON, S. 2002. Resistance in trees to insects – an overview of mechanisms and interactions, p. 1-29. *In*: M.R. WAGNER (Ed.). **Mechanisms and deployment of resistance in trees to insects**. Hingham, Kluwer Academic Publishers, X+332p.
- LUCAS P.W.; I.M. TURNER; N.J. DOMINY & N. YAMASHITA. 2000. Mechanical defences to herbivory. **Annals of Botany** **86** (5): 913-920.

- MEGA, N.O. 2004. **O comportamento de larvas de *Dryas iulia alcionea* (Lepidoptera: Nymphalidae): implicações ecológico-evolutivas**. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Genética e Biologia Molecular, UFRGS, 94p.
- MEDINA, E.; V. GARCIA & E. CUEVAS. 1990. Sclerophylly and oligotrophic environments: relationships between leaf structure, mineral nutrient content, and drought resistance in tropical rain forests of the upper Rio Negro region. **Biotropica** **22** (1): 51-64.
- MENNA-BARRETO, Y. & A.M. ARAÚJO. 1985. Evidence for host plant preferences in *Heliconius erato phyllis* from southern Brazil (Nymphalidae). **Journal of Research on the Lepidoptera** **24** (1): 41-46.
- MOTULSKY, H.M. & A. CHRISTOPOULOS. 2003. **Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting**. San Diego, GraphPad Software Inc., 351p. Available online at: www.graphpad.com/manuals/prism4/regressionbook.pdf [Accessed:17.11.2009]
- MUGRABI-OLIVEIRA, E. & G.R.P. MOREIRA. 1996a. Conspecific mimics and low host plant availability reduce egg laying by *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **13** (4): 929-937.
- MUGRABI-OLIVEIRA, E. & G.R.P. MOREIRA. 1996b. Size of and damage on shoots of *Passiflora suberosa* (Passifloraceae) influence oviposition site selection of *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **13** (4): 939-953.
- O'BRIEN TP; N. FEDER & M.E. McCULLY. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma** **59** (2):368-373.
- PÉRICO, E. 1995. Interação entre quatro espécies de Heliconiini (Lepidoptera: Nymphalidae) e suas plantas hospedeiras (Passifloraceae) em uma floresta secundária do Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências** **3** (2): 3-18.

- PÉRICO, E. & A.M. ARAÚJO. 1991. Suitability of host plants (Passifloraceae) and their acceptableness by *Heliconius erato* and *Dryas iulia* (Lepidoptera, Nymphalidae). **Evolución Biológica** 5: 59-74.
- RAUPP, M.J. 1985. Effects of leaf toughness on mandibular wear of the leaf beetle, *Plagiodera versicolora*. **Ecological Entomology** 10 (1): 73-79.
- RODRIGUES, D. & G.R.P. MOREIRA. 1999. Feeding preference of *Heliconius erato* (Lep.: Nymphalidae) in relation to leaf age and consequences for larval performance. **Journal of the Lepidopterists' Society** 53 (3): 108-113.
- RODRIGUES, D. & G.R.P. MOREIRA. 2002. Geographical variation in larval host-plant use by *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) and consequences for adult life history. **Brazilian Journal of Biology** 62 (2): 321-322.
- SILVEIRA, M.A.P.A. 2002. **Variação da dureza da folha em *Passiflora*, efeito no desgaste das mandíbulas de *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae) e conseqüências sobre a herbivoria**. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Biologia Animal, UFRGS, VIII+44p.
- SOKAL, R.R. & F.J. ROHLF. 1995. **Biometry**. New York, W.H. Freeman, XVIII+859p.
- WALKER, G.P. 1985. Stylet penetration by the bayberry whitefly, as affected by leaf age in lemon, *Citrus limon*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 39 (2): 115-121.

3. DUREZA DAS MANDÍBULAS DAS LAGARTAS DE *Heliconius erato phyllis* (FABRICIUS, 1775) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE) CRIADAS EM DUAS HOSPEDEIRAS (PASSIFLORACEAE)

3.1. INTRODUÇÃO

A cutícula dos insetos não apresenta uniformidade quanto à espessura e composição química, o que proporciona a existência de regiões mais esclerotizadas que outras, gerando assim diferenças estruturais entre as partes do corpo desses organismos (HILLERTON *et al.* 1982, VINCENT & WEGST 2004). Deste modo, áreas como o pterotórax e as mandíbulas de alguns insetos graminívoros apresentam maior dureza, quando comparado a outras estruturas, provavelmente com finalidade de incrementar o exoesqueleto, potencializando o vôo (pois o tergo do pterotórax participa do movimento das asas, em resposta à contração dos músculos indiretos do vôo) e o corte do alimento, respectivamente (HILLERTON *et al.* 1982, BRODSKY 1994).

HILLERTON & VINCENT (1982) e FONTAINE *et al.* (1991) determinaram a composição química das mandíbulas de diversas espécies, pertencentes a sete ordens de Insecta (Orthoptera, Phasmida, Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Dictyoptera e Dermaptera). A presença de metal (zinco, manganês ou ferro) foi detectada, em maior concentração, na região incisora, enquanto que silício, fósforo, enxofre, cloro, potássio e cálcio foram elementos presentes em toda a mandíbula. Zinco foi encontrado exclusivamente em ortópteros, fasmídeos, lepidópteros e himenópteros. Na ordem Coleoptera, o manganês esteve presente exclusivamente em 38 espécies; destas, quatro eram coleópteros herbívoros. Já para dictiópteros, dermápteros e uma espécie de coleóptero, o ferro foi o metal encontrado. CRIBB *et al.* (2008) analisaram os elementos químicos presentes em mandíbulas de seis espécies de Isoptera e constataram que as mandíbulas das espécies que apresentaram zinco em sua

constituição, tiveram dureza 20% maior e mais elasticidade quando comparadas àquelas que não apresentaram esse metal.

O desgaste das mandíbulas está intimamente ligado à dureza destas (HILLERTON & VINCENT 1982, CHAPMAN 1995). O tipo de alimento ingerido, seja ele de origem vegetal ou animal, pode ser a causa do desgaste correspondente (RAUPP 1985, DOCKTER 1993, SILVEIRA 2002). Espécies de ortópteros que se alimentam de gramíneas, mais rígidas e abrasivas em relação aos arbustos, devido à presença de sílica, apresentam maior desgaste nas mandíbulas (CHAPMAN 1964). RAUPP (1985) constatou que no coleóptero folífago *Plagiodera versicolora* (Laicharting, 1781) ocorre maior grau de desgaste das mandíbulas quando criados em folhas maduras de *Salix babylonica* Linnaeus e *Salix alba* Linnaeus, em comparação aos que se alimentam apenas de folhas jovens.

Ao estudar o efeito no desgaste das mandíbulas de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera, Nymphalidae) em relação à variação da dureza da folha em *Passiflora misera* Humbold, Bonplant & Kunth e *Passiflora suberosa* Linnaeus e as conseqüências desta variação sobre a herbivoria, SILVEIRA (2002) verificou que indivíduos criados em folhas maduras de *P. suberosa* apresentaram grau de desgaste maior que indivíduos criados em folhas jovens desta passiflorácea, quando comparados àqueles criados em folhas tanto maduras quanto jovens de *P. misera*. Isto se deve ao fato de que as folhas de *P. suberosa* são mais rígidas e espessas que as de *P. misera*.

RODRIGUES & MOREIRA (1999) observaram que o consumo das larvas de primeiro ínstar de *H. erato phyllis* inicia na região apical do ramo (folhas jovens e macias) de *P. suberosa*. Com o avanço do desenvolvimento, tendem a se alimentar de tecidos maduros. Lagartas recém-emergidas não conseguem utilizar folhas maduras, o que gera supostamente alta mortalidade por não conseguirem cortar o alimento, sendo que

as poucas larvas sobreviventes utilizam-se da raspagem dos tecidos mais velhos. Dessa forma, tanto barreiras físicas das plantas hospedeiras como características estruturais dos insetos herbívoros podem constituir fatores limitantes na interação correspondente (BERNAYS 1991, BERNAYS & CHAPMAN 1994).

SILVEIRA (2002), ao fazer a primeira análise da composição química da cutícula da mandíbula de larvas de *H. erato phyllis*, demonstrou que a espécie de planta hospedeira, idade da folha e ínstar larval não afetam no percentual de zinco presente na extremidade do terceiro dente, entretanto não mapeou a localização específica por concentração deste metal na região incisora e não investigou o índice de dureza desta estrutura. Assim, no presente estudo, avalia-se a dureza das mandíbulas das larvas deste heliconíneo, verificando se existe influência da planta hospedeira sobre este índice, ao longo da ontogênese larval.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Obtenção e criação das larvas

Fêmeas adultas de *H. erato phyllis* foram capturadas nos arredores do Campus do Vale, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Morro Santana, Porto Alegre, RS (30°02'S e 51°09'W) e no Horto Florestal Barba Negra, Aracruz S.A., Barra do Ribeiro, RS (30°23'S e 51°12'W) e mantidas em condições de insetário. Este se encontra localizado no Departamento de Ecologia (UFRGS) e é formado por compartimentos trapezoidais, revestidos com tela de sombrite 50% de cor preta (2,0 x 2,0 m na base e 2,7 x 1,7 m de alturas máxima e mínima, respectivamente, para cada compartimento) (KERPEL & MOREIRA 2005).

Para a oviposição, foram disponibilizados ramos de *P. misera* com região apical intacta, acondicionados em garrafas plásticas providas de hastes de bambu como apoio (MUGRABI-OLIVEIRA & MOREIRA 1996). Para alimentação, foi oferecida uma dieta

padrão constituída de uma solução de mel, pólen e água destilada (2:1:7) (FERRO 1998).

Os ramos foram vistoriados diariamente com vistas a obtenção de ovos, que foram transferidos para o Laboratório de Morfologia e Comportamento de Insetos (Departamento de Zoologia, UFRGS) e mantidos em placas de Petri com papel filtro umedecido, em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; 14horas/luz/dia, conforme MUGRABI-OLIVEIRA & MOREIRA 1996). Após a eclosão, as larvas foram transferidas individualmente para ramos intactos adicionais de *P. misera* ou *P. suberosa*, os quais foram também acondicionados em garrafas plásticas com apoio de bambu, cobertos com tela de malha fina e mantidos na câmara climatizada. As observações foram efetuadas diariamente para a averiguação da ocorrência de ecdises, até a obtenção do número de larvas do ínstar desejado ($n = 10$ /ínstar/hospedeira). O material foi fixado e preservado em fluído de Dietrich.

3.2.2. Determinação da dureza das mandíbulas

As larvas de *H. erato phyllis* apresentam mandíbulas típicas aos insetos mastigadores, se fixando na cápsula cefálica por duas articulações (côndilos anterior e posterior) que limitam o movimento destas em um único plano (SNODGRASS 1950). Conforme SILVEIRA (2002), nos ínstars iniciais, em sua morfologia externa, as mandíbulas apresentam região incisora bem desenvolvida, com dentes evidentes e pontiagudos e região posterior conspícua. Este padrão se altera durante o desenvolvimento; nos ínstars posteriores, a região incisora apresenta dentes menos salientes (Fig. 3.1).

As mandíbulas direitas das larvas fixadas foram dissecadas e coladas com adesivo instantâneo universal à base de Cianocrilato (Super Bonder[®]) em placas de Petri cobertas com filme de PVC transparente, de maneira que a face externa

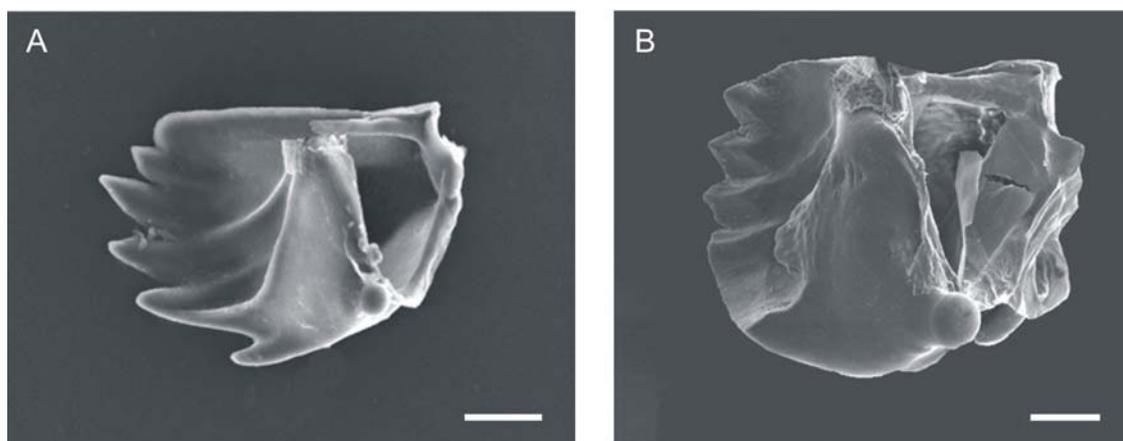


Figura 3.1. Face interna da mandíbula direita de *H. erato phyllis* em microscopia eletrônica de varredura. A, primeiro; e B, quinto ínstar. Barras correspondem 50 e 200 μ m, respectivamente. Fonte: SILVEIRA (2002).

da região incisora ficasse em contato com a placa. Com auxílio de moldes cilíndricos de cobre (1,5 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura), as mandíbulas foram embutidas a frio, utilizando-se resina acrílica incolor (Arotec[®]) para metalografia (Fig. 3.2A,B).

Após processo de cura, as amostras foram desmoldadas e preparadas de acordo com protocolo padrão para amostras metalográficas (GEELS *et al.* 2007), que consistiu em: (a) lixamento utilizando lixas d'água números 1000 (18 μ m), 2400 (8 μ m) e 4000 (5 μ m) de granulometria, feito sob refrigeração com água destilada, até atingir a superfície dos dentes (Fig. 3.2C); (b) polimento em politriz de bancada, utilizando pano especial e pasta de diamante 3 μ m, sob refrigeração com álcool etílico 96[°].

O procedimento adotado para deixar a superfície a ser analisada o mais plano possível é um pré-requisito fundamental para a avaliação da microdureza, o que assegura uma clara definição da impressão e, conseqüentemente, maior precisão para obtenção das medidas (CALLISTER 1991, REVANKAR 2000, GEELS *et al.* 2007). Na preparação das amostras, seguiu-se o protocolo metalográfico, que foi realizado junto ao Laboratório de Processos Eletroquímicos e Corrosão (Eletrocorr), Departamento de Metalurgia, da Escola de Engenharia (UFRGS).

A dureza é uma propriedade mecânica que pode ser definida como uma medida da resistência plástica de um material à deformação ou dano (FINK-JENSEN 1965, CALLISTER 1991, GEELS *et al.* 2007). A escala desenvolvida por F. Mohs foi o primeiro recurso utilizado para mensurar a dureza de materiais e consiste na ordenação crescente da capacidade de um mineral riscar o outro subjacente (GEELS *et al.* 2007). Entretanto essa metodologia não é constante e não fornece o grau de dureza absoluta. Isto só foi possível com o advento dos testes de dureza de Brinell, Rockwell, Vickers, Knoop e, mais recentemente, através das técnicas de nanoindentações, testes estes que consistem em pressionar um indentador com propriedades mecânicas e geometria previamente conhecidas no material a ser testado (CALLISTER 1991, REVANKAR 2000,

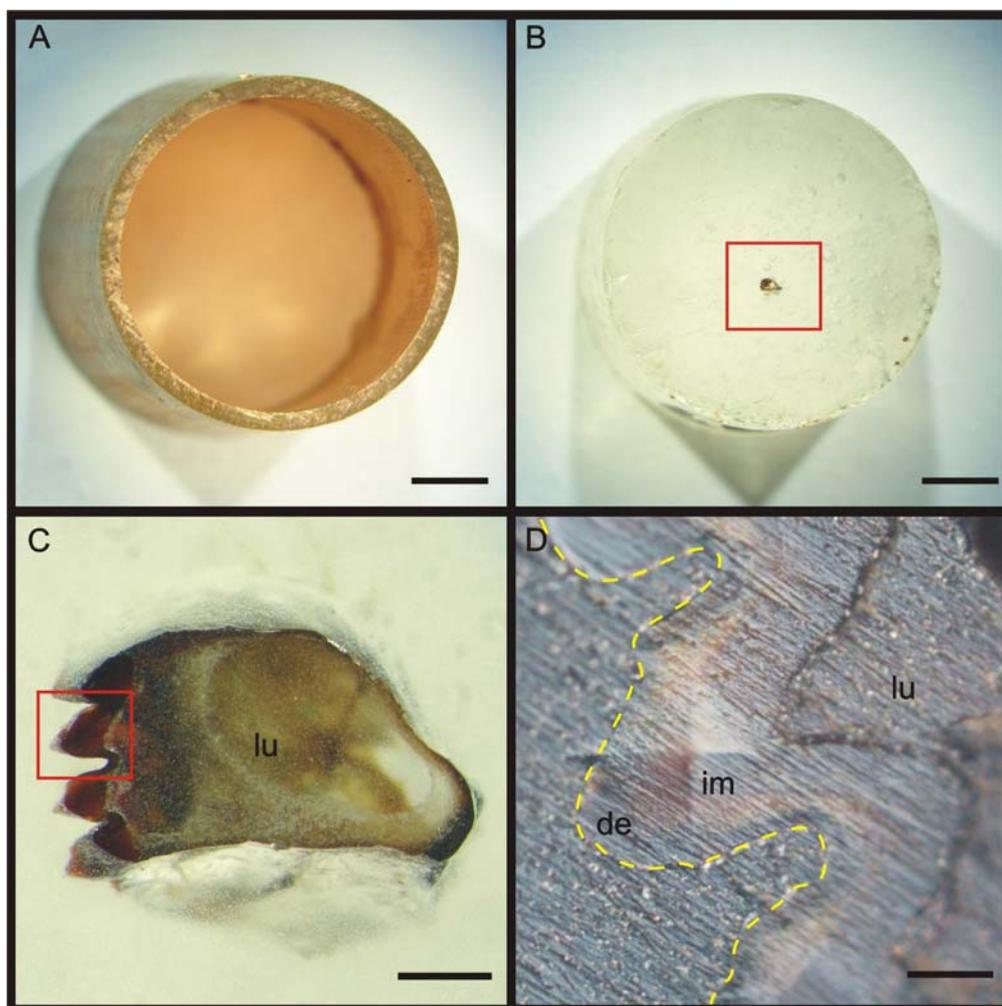


Figura 3.2. Procedimento metalográfico utilizado para determinação da microdureza de Vickers. A, molde cilíndrico de cobre utilizado para inclusão; B, mandíbula embutida em resina acrílica; C, detalhe da face externa da mandíbula, lixada e polida; D, detalhe do terceiro dente com impressão piramidal. **lu**, lúmen da mandíbula; **de**, terceiro dente; **im**, impressão piramidal. Linha tracejada delimita a margem externa da mandíbula. Barras = 3mm (A e B), 200 e 10 μ m (C e D, respectivamente).

GEELS *et al.* 2007). Por outro lado, a rigidez de um material pode ser definida como a resistência deste à deformação elástica. Este tipo de deformação não é permanente; ou seja, quando a carga aplicada é aliviada, o material retorna à sua forma original (CALLISTER 1991).

A determinação da microdureza de Vickers foi realizada por um único operador em um microdurômetro, modelo Durimet (Leitz-Wetzlar®) (Fig. 3.3A), com cargas de 10g para mandíbulas do primeiro ao quarto ínstares e, de 25g, para o quinto ínstar. Foram feitas impressões piramidais no terceiro dente ântero-posterior (Figs. 3.1, 3.2C) de cada mandíbula, com tempo padronizado em 15 s. Através da área de impressão (Figs. 3.2D, 3.3B) foi calculado o Número de Dureza de Vickers (HV), utilizando-se fórmula descrita em HILLERTON *et al.* (1982):

$$HV = 1,854 (F / d^2)$$

onde,

HV= Dureza de Vickers (Kg/mm²);

F= força (Kg);

d= valor médio das diagonais da impressão (mm).

Com a finalidade de mapear a concentração de zinco, foi realizado um teste piloto com uma amostra preparada segundo procedimento metalográfico, descrito anteriormente, e submetida à análise de raio-X, detecção por EDS (Energy Dispersive Spectrometer), em microscópio eletrônico de varredura JEOL® JSM-5800 equipado com detector de EDS Noran® e Voyager 3.4.2. O tempo de detecção de espectro por ponto foi de 150s e a voltagem de 20 kV.

Dados utilizados para comparar as taxas de crescimento das distâncias entre as cerdas A1 das cápsulas cefálicas e os índices de dureza para larvas criadas em *P. suberosa*, foram obtidos de AYMONE (2006), utilizando a mesma passiflorácea como hospedeira e condições de criação idênticas.

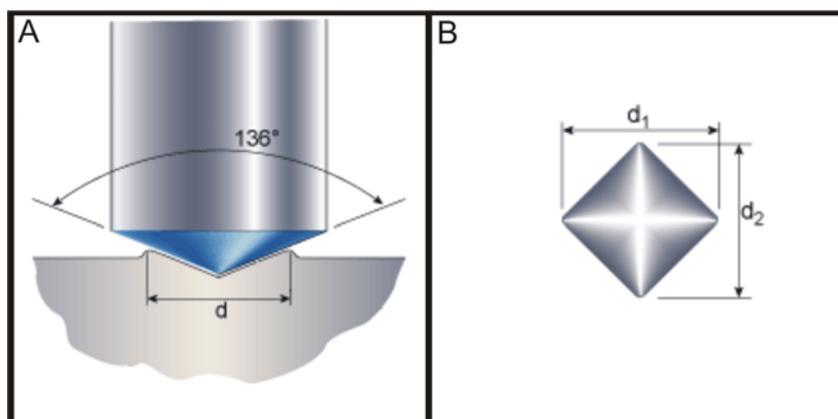


Figura 3.3. Representação esquemática do microdurômetro (A) e da impressão piramidal (B) (adaptado de <http://www.twi.co.uk/content/jk74.html>; acesso em 12.09.2009).

3.2.3. Análise estatística

A distribuição dos dados foi analisada aplicando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov, para avaliar a normalidade e, o teste de Bartlett, para a homocedasticidade das variâncias. Os dados foram submetidos à ANOVA, seguida de testes múltiplos de Tukey, com o objetivo de testar os efeitos da espécie de hospedeira e variação nos índices de dureza ao longo da ontogênese. As retas de regressão entre as taxas de crescimento das durezas das mandíbulas criadas em *P. suberosa* e a distância entre as cerdas A1 das cápsulas cefálicas foram submetidas à análise de covariância (ANCOVA) (SOKAL & ROHLF 1995). As análises foram feitas utilizando o programa GraphPad Prism[®] (MOTULSKY & CHRISTOPOULOS 2003), utilizando-se alfa = 0,05.

3.3. RESULTADOS

No mapeamento dos compostos químicos presentes nas mandíbulas de larvas de *H. erato phyllis* (Figs. 3.4 e 3.5), verificou-se que o zinco encontra-se acumulado ao longo da região incisora da mandíbula (Fig. 3.4G). Entretanto, na cutícula adjacente à região incisora, não há acúmulo deste metal (Fig. 3.5E).

Não houve efeito significativo da espécie de passiflorácea em relação à dureza das mandíbulas de *H. erato phyllis* (Fig. 3.6, Tabela 3.1), o que permitiu efetuar uma análise de regressão correspondente para os dados grupados, em relação às hospedeiras. Houve um aumento exponencial da microdureza das mandíbulas ao longo da ontogênese (Fig. 3.7). A razão de incremento do índice de microdureza em relação aos ínstarés, calculada levando-se em conta todos os dados, foi de 1,36, 1,16, 1,72 e 1,15 ($\bar{X}=1,35$), do primeiro para o segundo ínstar, sucessivamente até em relação ao último.

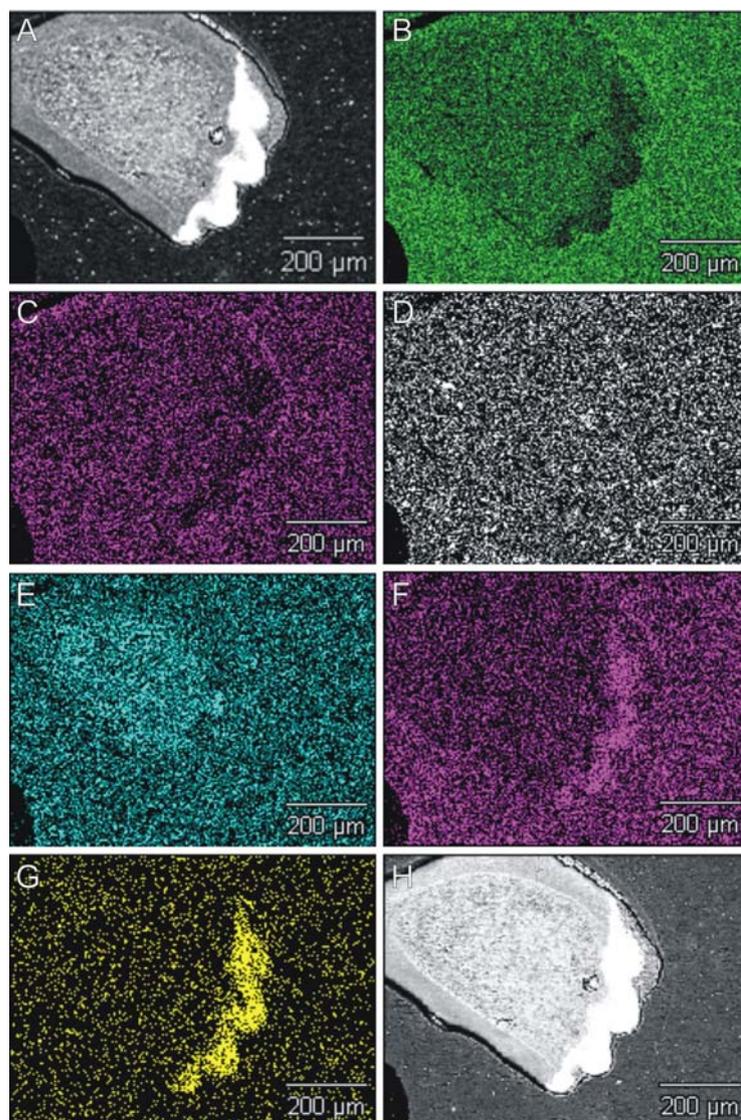


Figura 3.4. Mapeamento da localização específica dos compostos químicos da cutícula na mandíbula de uma larva de *H. erato phyllis*, em espectroscopia de energia dispersiva (EDS). A, microscopia eletrônica de varredura em elétrons secundários; B, carbono; C, oxigênio; D, silício; E, enxofre; F, cloro; G, zinco; H, microscopia eletrônica de varredura em elétrons retroespalhados (backscattered).

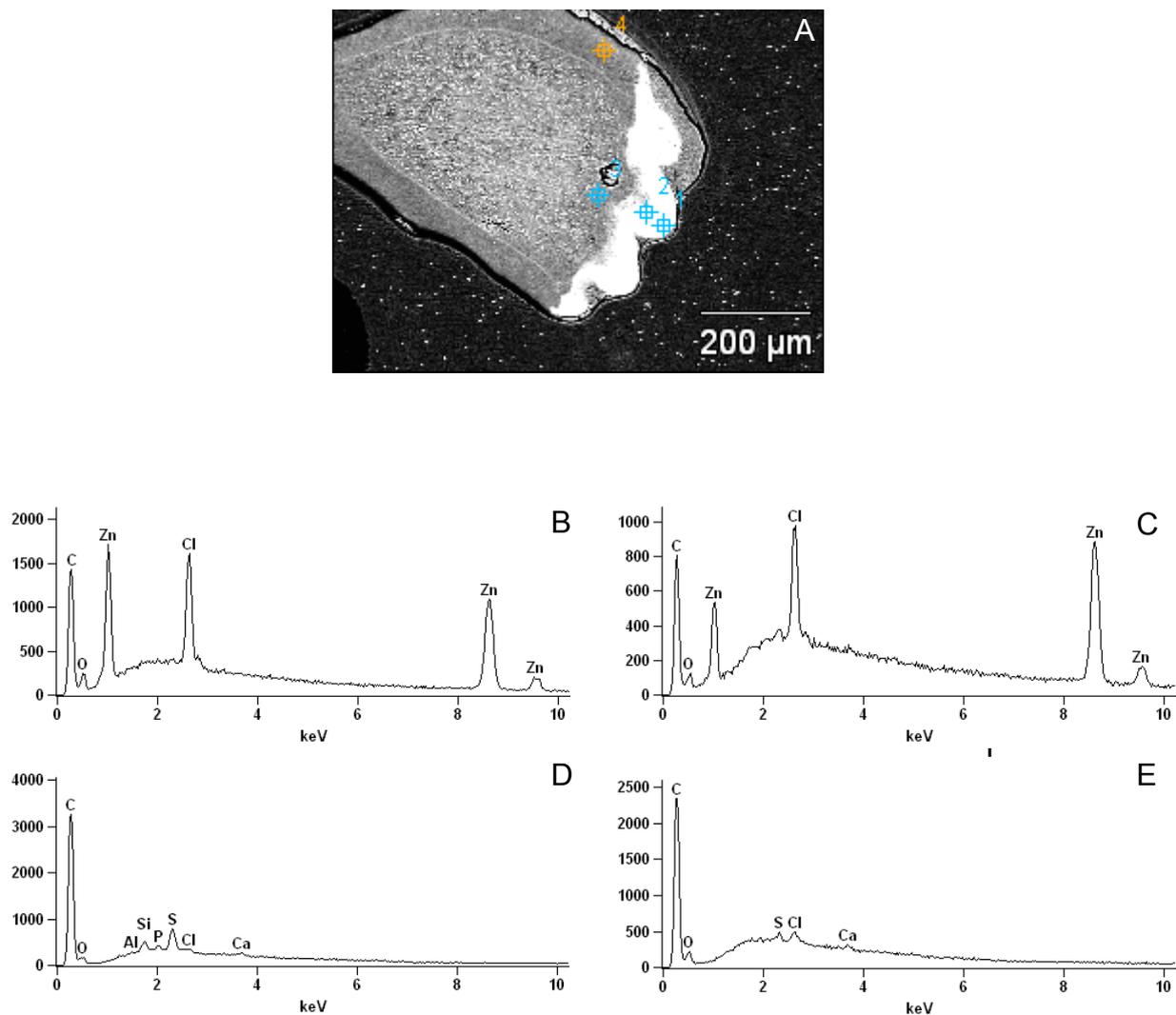


Figura 3.5. Microscopia eletrônica de varredura em elétrons secundários da mandíbula da larva de *H. erato phyllis* (A) e espectros obtidos por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) na extremidade do terceiro dente (B), meio do terceiro dente (C); na resina, no lúmen da mandíbula (D), e na cutícula da mandíbula, fora da região incisora (E).

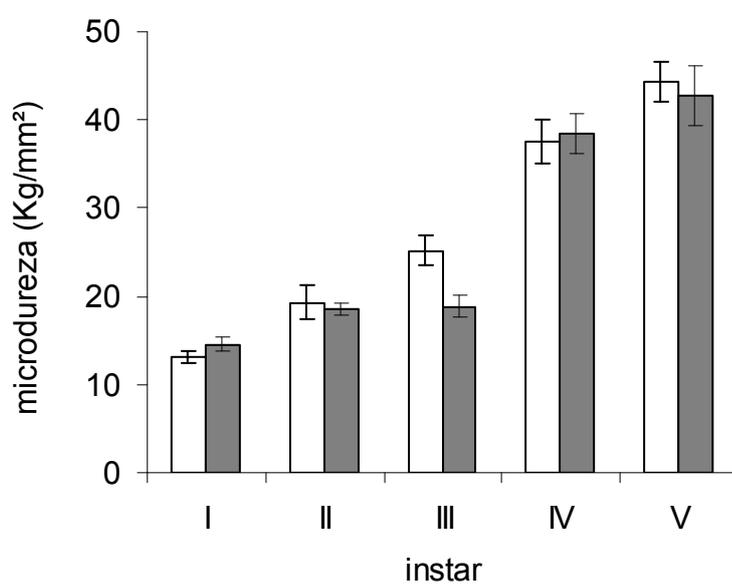


Figura 3.6. Microdureza de Vickers ($\bar{X} \pm \text{erro padrão}$) para as mandíbulas de larvas de *H. erato phyllis* criadas em *P. misera* (barras vazias) e *P. suberosa* (barras cheias) ao longo da ontogênese.

Tabela 3.1. Análise de variância (ANOVA dois fatores) sobre a influência da planta e ontogênese no índice de dureza de Vickers nas mandíbulas das larvas de *H. erato phyllis*, quando criadas em *P. misera* e *P. suberosa*. Números seguidos por asteriscos indicam influências significativas ($\alpha=0,05$).

Fator	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	F	ρ
Planta	1	0,047	1,189	0,278
Ínstar	4	18,529	116,214	<0,001*
Interação:				
Planta x ínstar	4	0,446	2,795	0,031*

As retas das regressões lineares ajustadas às taxas de crescimento da dureza das mandíbulas e da distância entre as cerdas das cápsulas cefálicas, descritas por AYMONE (2006), se diferenciaram significativamente quanto à inclinação, a qual foi mais expressiva em relação à última (Fig. 3.8).

3.4. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que existe efeito ontogenético no aporte de dureza das mandíbulas de *H. erato phyllis*, o qual aumenta com o avanço do desenvolvimento. Por outro lado, não houve indicação de que a planta hospedeira influenciasse na taxa de crescimento da dureza das mandíbulas deste heliconíneo. Em adição, foi demonstrado que a dureza das mandíbulas apresentou crescimento menos pronunciado em relação ao crescimento das distâncias entre as cerdas A1 das cápsulas cefálicas.

As mandíbulas dos insetos desempenham papel fundamental para a sobrevivência do organismo, pois, além de cortarem e/ou triturarem o alimento podem ser utilizadas como mecanismo de defesa (CHAPMAN 1995). Por esse motivo verifica-se alta resistência da cutícula dessas estruturas. HILLERTON *et al.* (1982) foram pioneiros na utilização de testes, outrora restritos à metalurgia, para mensurar a dureza cuticular de diversas estruturas anatômicas dos gafanhotos *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) e *Locusta migratoria migratorioides* (Reiche & Fairmaire, 1849). A avaliação fornecida nesse estudo se aproxima do obtido para as mandíbulas das lagartas de quinto ínstar de *H. erato phyllis* ($HV = 43,60 \pm 1,99$, $\bar{X} \pm EP$) quando comparado com mandíbulas de *S. gregaria* e *L. migratoria migratorioides* ($29,8 \pm 1,6$ e $36,4 \pm 1,3$ Kg.mm⁻², $\bar{X} \pm EP$, respectivamente). Entretanto, a metodologia de preparo das amostras não levou em consideração a homogeneidade da superfície para aplicar testes de

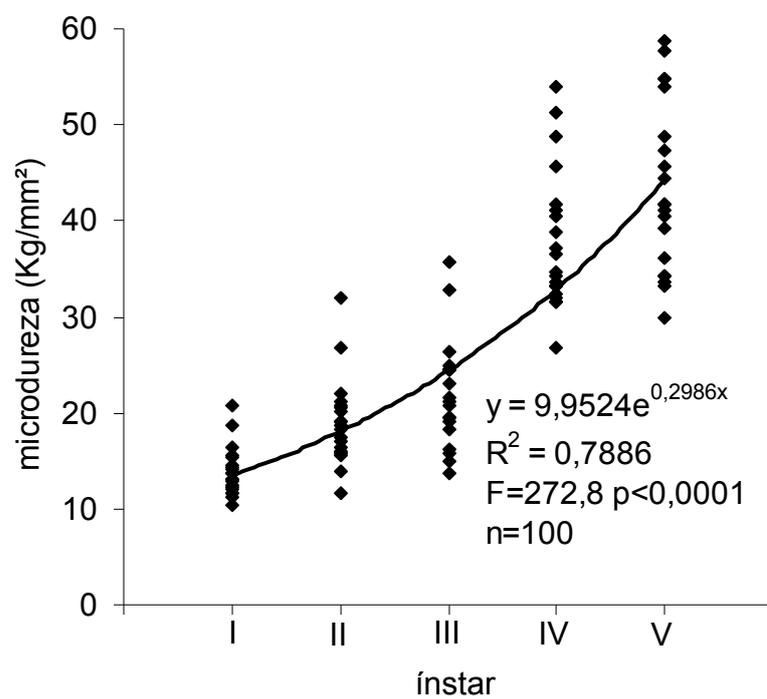


Figura 3.7. Variação na microdureza de Vickers para mandíbulas de larvas de *H. erato phyllis* ao longo da ontogênese, em *P. misera* e *P. suberosa*.

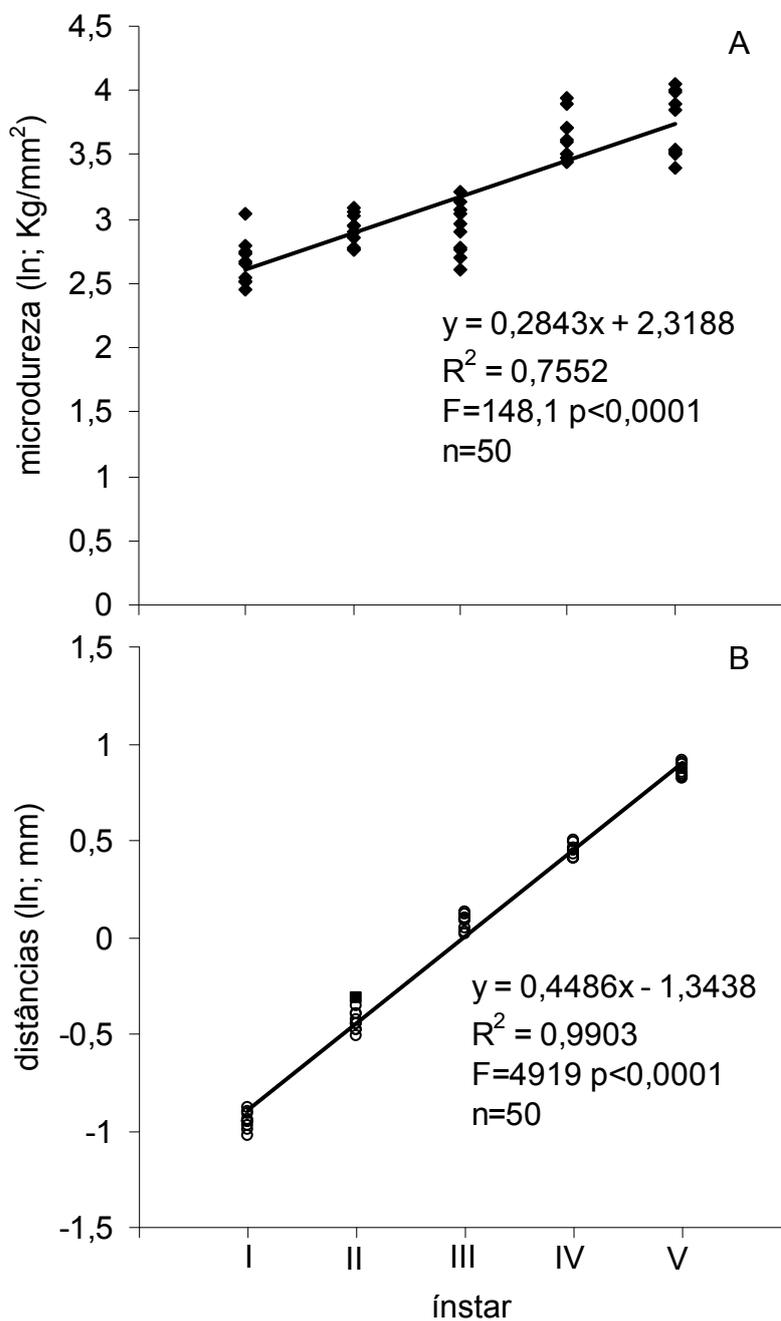


Figura 3.8. Crescimento da microdureza de Vickers (A) e das distâncias entre as cerdas A1 (B) em valores log-transformados (ANCOVA, $F=45,96$, $p<0,0001$). Dados relativos à distância entre as cerdas foram obtidos de AYMONE (2006).

microdureza de Vickers, que pode ter levado a distorções relacionadas à visibilidade das impressões nas estruturas analisadas (CALLISTER 1991, REVANKAR 2000, GEELS *et al.* 2007). Ao seguirem protocolo metalográfico, EDWARDS *et al.* (1993) e SCHOFIELD *et al.* (2002), obtiveram valores de dureza superiores para as mandíbulas da formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (\bar{X} = 52,1 e 80,0 kg.mm⁻², respectivamente). Por fim, CRIBB *et al.* (2008) relatam dureza média de 69,34 kg.mm⁻² para mandíbulas de isópteros.

Neste sentido, o aparelho bucal dos insetos em geral, e dos herbívoros em particular, é adaptado ao tipo de alimento ingerido (CHAPMAN 1995, BERNAYS 1991). Assim, a dureza das folhas, decorrente principalmente da idade foliar (BERNAYS 1991, SILVEIRA 2002) se torna uma barreira à ingestão por parte dos herbívoros, podendo provocar injúrias à estas estruturas, como desgaste ou quebra dos dentes (GOUSSAIN *et al.* 2002, SILVEIRA 2002, BIANCHI 2005). O mesmo pode ser observado para as larvas de *H. erato phyllis*, cujas hospedeiras apresentam variações de dureza de acordo com a idade foliar (Capítulo 2). Folhas velhas de *P. suberosa* podem apresentar resistência à perfuração de até 30,82 g.mm⁻² e espessura de até 0,26 mm. Já as mandíbulas de *H. erato phyllis* se caracterizam por apresentarem região incisora desenvolvida (dentes evidentes e pontiagudos), principalmente em larvas de primeiro ínstar, que são adaptadas a tecidos jovens. Isso seria fator limitante à alimentação de tecidos duros (além da espessura foliar), proporcionando a alimentação em forma de raspagem da superfície foliar (Capítulo 2). Esse tipo de limitação foi observado, também, em outras espécies de heliconíneos, como nos ínstars iniciais das larvas de *Eueides isabella* (Stoll, 1781), *Eueides aliphera* (Godart, 1819), *Heliconius melpomene* (Linnaeus, 1758) e *Dione juno juno* (Cramer, 1779), cujos ínstars iniciais exibem padrão similar (ALEXANDER 1961, BIANCHI 2005).

Em associação à morfologia externa das mandíbulas e à dureza da cutícula, um par de músculos inserido em apódemas e localizados em cada um dos lados do plano de articulação, é responsável pelos movimentos de abdução e adução (SNODGRASS 1935, 1950). O músculo adutor promove o fechamento das mandíbulas e gera grande parte da força empregada para cortar o alimento, é maior e ocupa, praticamente, quase toda a cápsula cefálica (DAS 1937; SNODGRASS 1935; CHAPMAN 1995; VEGLIANTE 2005). O tamanho e a forma da cápsula cefálica dos insetos mastigadores estão intimamente ligados ao tamanho deste músculo, e insetos com cápsulas cefálicas maiores estariam aptos a se alimentar, com eficiência, em gramíneas duras (CHAPMAN 1995). Em larvas de *H. erato phyllis*, foi observado que o volume do músculo adutor foi superior ao padrão de crescimento linear, apesar de uma notável redução durante a passagem do terceiro para o quarto ínstar (AYMONE 2006).

Considerando que a largura da cápsula cefálica está diretamente relacionada com o aumento do músculo adutor da mandíbula (AYMONE 2006), pode-se inferir que o aumento do volume deste não é acompanhado pelo aumento proporcional da dureza destas estruturas em *H. erato phyllis*. A menor dureza das mandíbulas nos primeiros instares, quando em associação ao tamanho reduzido destas, pode contribuir para o maior índice de desgaste verificado nesses instares para esse inseto (SILVEIRA 2002).

O fato do índice de dureza não diferir entre as espécies de passiflorácea utilizadas na alimentação demonstra que o investimento em dureza ocorre independentemente da planta hospedeira utilizada. Da mesma forma, a porcentagem de zinco presente no terceiro dente das mandíbulas de *H. erato phyllis* não se altera de acordo com espécie hospedeira, nem em relação à idade foliar das folhas utilizadas como alimento (SILVEIRA 2002). Essa autora já havia também demonstrado que o zinco é um dos principais componentes da região incisora das mandíbulas de *H. erato phyllis*. Este supostamente é um dos principais elementos que confere dureza à cutícula dos

insetos (HILLERTON & VINCENT 1982, FONTAINE *et al.* 1991, VINCENT & WEGST 2004, KLOWDEN 2007 e CRIBB *et al.* 2008). Em adição, o fato da dureza das mandíbulas crescer em menor proporção quando comparado às distâncias entre as cerdas A1 da cápsula cefálica, ao longo da ontogênese, sugere que outros fatores como, por exemplo, o volume do músculo adutor (força empregada na mordida), o tamanho das mandíbulas, a espessura de sua cutícula ou mesmo o tipo de composto e a forma como o zinco se apresenta associado a esta estrutura, seriam determinantes para o entendimento das limitações que permeiam a interação entre *H. erato phyllis* e suas hospedeiras.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS³

- ALEXANDER, A.J. 1961. A study of the biology and behavior of the caterpillars, pupae and emerging butterflies of the subfamily Heliconiinae in Trinidad, West Indies. Part I. Some aspects of larval behavior. **Zoologica** **46** (1): 1-25.
- AYMONE, A.C.B. 2006. **Alometria cefálica na ontogênese de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae: Heliconiinae)**. Porto Alegre, Monografia de Bacharelado em Biologia, UFRGS, III+37p.
- BERNAYS, E.A. & R.F CHAPMAN. 1994. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York, Chapman & Hall, XIV+312p.
- BERNAYS, E.A. 1991. Evolution of insect morphology in relation to plants. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London** **333** (1267): 257-264.
- BIANCHI, V. 2005. **Implicações ecológicas das plantas hospedeiras e da agregação larval sobre *Dione juno juno* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Nymphalidae)**. Porto Alegre, Tese de Doutorado em Ecologia, UFRGS, XVI+112p.

³ Referências de acordo com a Revista Brasileira de Zoologia, http://www.sbzoologia.org.br/sistema/up_anexos/998c44e765bcbec87f86a853e52b0aaf.pdf, acessado em 17.11.2009

- BRODSKY, A.K. 1994. **The evolution of insect flight**. Oxford, Oxford University Press, XIV+229p.
- CALLISTER JR, W.D. 1991. **Materials science and engineering: an introduction**. New York, John Wiley & Sons, Inc, XXV+848p.
- CHAPMAN, R.F. 1964. The structure and wear of mandibles in some African grasshoppers. **Proceedings of the Zoological Society of London** **142** (1):107-121.
- CHAPMAN, R.F. 1995. Mechanics of food handling by chewing insects, p. 3-31. *In*: R.F. CHAPMAN & G. DE BOER (Eds.). **Regulatory mechanisms in insect feeding**. New York, Chapman & Hall, XXVI+398p.
- CRIBB, B.W.; A. STEWART; H. HUANG; R. TRUSS; B. NOLLER; R. RASCH & M.P. ZALUCKI. 2008. Insect mandibles – comparative mechanical properties and links with metal incorporation. **Naturwissenschaften** **95** (1):17–23.
- DAS, G.M. 1937. The musculature of the mouth-parts of insect larvae. **Quartely Journal of Microscopical Science** **80** (1): 39-80.
- DOCKTER, D.E. 1993. Developmental changes and wear of larval mandibles in *Heterocampa guttivitta* and *H. subrotata* (Notodontidae). **Journal of the Lepidopterists' Society** **47** (1): 32-48.
- EDWARDS, A.J.; D. FAWKE; J.G. McCLEMENTS; S.A. SMITH & P. WYETH. 1993. Correlation of zinc distribution and enhanced hardness in the mandibular cuticle of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Cell Biology International** **17** (7): 697-698.
- FERRO, V.G. 1998. **Criação de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae) em condições semi-naturais**. Porto Alegre, Monografia de Bacharelado em Biologia, UFRGS, V+49p.
- FINK-JENSEN, P. 1965. Hardness testing of organic coatings. **Pure and Applied Chemistry** **10** (3): 239-292.

- FONTAINE, A.E.; N. OLSEN; R.A. RING & C.L. SINGLA. 1991. Cuticular metal hardening of mouthparts and claws of some forest insects of British Columbia. **Journal of the Entomological Society of British Columbia** **88** (1): 45-55.
- GEELS, K.; D.B. FOWLER; W.-U. KOPP & M. RÜCKERT. 2007. **Metallographic and Materialographic Specimen Preparation, Light Microscopy, Image Analysis and Hardness Testing**. West Conshohocken, ASTM International, XVII+743p.
- GOUSSAIN, M.M.; J.C. MORAES; J.G. CARVALHO; N.L. NOGUEIRA & M.L. ROSSI. 2002. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology** **31** (2): 305-310.
- HILLERTON, J.E.; S.E. REYNOLDS & J.F.V. VINCENT. 1982. On the indentation hardness of insect cuticle. **Journal of Experimental Biology** **96** (1): 45-52.
- HILLERTON, J.E. & J.F.V. VINCENT. 1982. The specific location of zinc in insect mandibles. **Journal of Experimental Biology** **101** (1): 333-336.
- KERPEL, S.M. & G.R.P. MOREIRA. 2005. Absence of learning and local specialization on host plant selection by *Heliconius erato*. **Journal of Insect Behavior** **18** (3): 433-452.
- KLOWDEN, M.J. 2007. **Physiological Systems in Insects**. London, Elsevier. X+688p.
- MOTULSKY, H.M. & A. CHRISTOPOULOS. 2003. **Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting**. San Diego, GraphPad Software Inc., 351p. Available online at: www.graphpad.com/manuals/prism4/regressionbook.pdf [Accessed:17.11.2009]
- MUGRABI-OLIVEIRA, E. & G.R.P. MOREIRA. 1996. Size of and damage on shoots of *Passiflora suberosa* (Passifloraceae) influence oviposition site selection of *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **13** (4): 939-953.

- RAUPP, M.J. 1985. Effects of leaf toughness on mandibular wear of the leaf beetle, *Plagiodera versicolora*. **Ecological Entomology** **10** (1): 73-79.
- REVANKAR, G. 2000. Introduction to hardness testing, p. 197-202 - *In*: ASM Handbook Committee (Eds.). **ASM Handbook Volume 8, Mechanical Testing and Evaluation**. West Conshohocken, ASTM International, 998p.
- RODRIGUES, D. & G.R.P. MOREIRA. 1999. Feeding preference of *Heliconius erato* (Lep.: Nymphalidae) in relation to leaf age and consequences for larval performance. **Journal of the Lepidopterists' Society** **53** (3): 108-113.
- SCHOFIELD, R.M.S.; M.H. NESSON & K.A. RICHARDSON. 2002. Tooth hardness increases with zinc-content in mandibles of young adult leaf-cutter ants. **Naturwissenschaften** **89** (12): 579-583.
- SILVEIRA, M.A.P.A. 2002. **Variação da dureza da folha em *Passiflora*, efeito no desgaste das mandíbulas de *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae) e conseqüências sobre a herbivoria**. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Biologia Animal, UFRGS, VIII+44p.
- SOKAL, R.R. & F.J. ROHLF. 1995. **Biometry**. New York, W.H. Freeman, XVIII+859p.
- SNODGRASS, R.E. 1935. **Principles of insect morphology**. New York, McGraw Hill Company, X+667p.
- SNODGRASS, R.E. 1950. Comparative studies on the jaws of mandibulate arthropods. **Smithsonian Miscellaneous Collections** **116** (1): 1-85.
- VEGLIANTE, F. 2005. Larval head anatomy of *Heterogynis penella* (Zygaenoidea, Heterogynidae), and a general discussion of caterpillar head structure (Insecta, Lepidoptera). **Acta Zoologica** **86** (3): 167-194.
- VINCENT, J.F.V. & U.G.K. WEGST. 2004. Design and mechanical properties of insect cuticle. **Arthropod Structure & Development** **33** (3): 187-199.

4. VARIAÇÕES QUANTITATIVAS NO COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE LARVAS DE *Heliconius erato phyllis* (FABRICIUS, 1775) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE) FRENTE A CINCO PASSIFLORÁCEAS

4.1. INTRODUÇÃO

São diversos os fatores que influenciam o comportamento alimentar dos insetos herbívoros, dentre eles podemos destacar o tipo, constituição e fenologia da planta hospedeira, estágio de desenvolvimento do herbívoro (ontogenia), morfologia das partes bucais, capacidade de dispersão e mobilidade, principalmente dos estágios imaturos (BERNAYS 1991, 1998, 2001, BERNAYS *et al.* 2000, ZALUCKI *et al.* 2002, JOHNSON & ZALUCKI 2005, 2007).

As características da planta que afetam a performance dos insetos herbívoros incluem as variações nos compostos químicos, como os micro e macro nutrientes, água e substâncias do metabolismo secundário (ROSENTHAL & BERENBAUM 1991, BERNAYS & CHAPMAN 1994, LARSSON 2002). Tais variações determinam tanto as características físicas, como dureza, tamanho, forma e textura do recurso alimentar utilizado (BERNAYS & CHAPMAN 1994), quanto a distribuição temporal, espacial e abundância (LARSSON 2002). A variação nesses fatores em geral é determinante no reconhecimento da planta hospedeira apropriada em algum momento da história destes, visto que todos os insetos fitófagos exibem algum grau de seletividade ao alimento (BERNAYS & CHAPMAN 1994).

Mudanças ontogenéticas nos insetos herbívoros podem refletir em mudanças de dieta e de comportamentos alimentares nos diferentes estágios do desenvolvimento (HOCHULI 2001). Para insetos em geral e para os holometábolos, em particular, o sucesso adaptativo dos adultos depende preponderantemente da performance dos

estágios imaturos (BERNAYS 1998). Os primeiros ínstaes, por exemplo, necessitam se estabelecer nas plantas hospedeiras e alocar energia, em forma de biomassa, principalmente por ser essa uma das fases mais frágeis do desenvolvimento, com alta mortalidade (BERNAYS 1997, ZALUCKI *et al.* 2002).

A forma das mandíbulas dos insetos herbívoros está correlacionada a seus hábitos alimentares e à natureza do recurso utilizado (DAS 1937; SNODGRASS 1935; BERNAYS 1991). Mandíbulas com região incisora pouco desenvolvida e cúspides separadas são adaptadas para utilização de plantas arbustivas e herbáceas enquanto que aquelas adaptadas a espécies graminívoras apresentam área incisora com dentes grandes e cúspides unidas (CHAPMAN 1964; BERNAYS 1991). Da mesma forma, a dureza destas estruturas pode se correlacionar com a dureza do alimento ingerido, como folhas velhas (ver Capítulos 2 e 3, HOCHULI 2001, BITTENCOURT-RODRIGUES & ZUCOLOTO 2009).

Por outro lado, os primeiros ínstaes larvais, em geral, apresentam pouca mobilidade. Assim, a primeira alimentação dos insetos especialistas é largamente influenciada pela escolha de oviposição dos adultos, como o que ocorre nos heliconíneos (ALEXANDER 1961, RODRIGUES & MOREIRA 1999). Neste aspecto, os insetos generalistas podem se diferenciar de especialistas, como observado por BERNAYS *et al.* (2004 a,b) ao estudar quatro espécies de Arctiidae (Lepidoptera) quanto à eficiência de forrageio. Esses autores constataram que as espécies generalistas despendem mais tempo caminhando, rejeitando plantas hospedeiras em potencial, provando e inspecionando fontes alimentares em potencial, além de empregarem menos tempo nos períodos de alimentação, quando comparadas às especialistas. Estudos como esse são importantes para verificar a interação que existe entre a qualidade do alimento, barreiras físicas e químicas das plantas, morfologia das

mandíbulas e desenvolvimentos ontogenéticos dos herbívoros sobre o tempo destinado a seus diferentes atos comportamentais.

As larvas de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae) podem ser bons modelos para este tipo de estudo, porque são oligófagas, se alimentando, exclusivamente de passifloráceas (BENSON *et al.* 1975). No Rio Grande do Sul, as espécies mais freqüentemente utilizadas são *Passiflora suberosa* Linnaeus e *Passiflora misera* Humboldt, Bonpland & Hunth (MENNA-BARRETO & ARAÚJO 1985, PÉRICO 1995, RODRIGUES & MOREIRA 2002). De acordo com PÉRICO & ARAÚJO (1991), ao avaliarem a viabilidade, tempo de desenvolvimento e peso de larvas de *H. erato phyllis* criadas em nove espécies de prováveis plantas hospedeiras, constataram que *P. misera* confere menor tempo de desenvolvimento e maior peso. Em termos de performance conferida a *H. erato phyllis*, tais espécies são seguidas por *Passiflora elegans* Masters, *P. suberosa*, *Passiflora capsularis* Linnaeus, *Passiflora actinia* Hooker, *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora caerulea* Linnaeus. Ainda nesse estudo, *Passiflora alata* Dryander e *Passiflora tenuifila* Killip foram consideradas letais para larvas de *H. erato phyllis*.

Segundo MUGRABI-OLIVEIRA & MOREIRA (1996a, b), *H. erato phyllis* oviposita preferencialmente nas regiões mais jovens da planta, que não apresentam indícios visuais de coespecíficos, em ramos intactos e com maior disponibilidade de folhas, o que provavelmente evita a competição e o canibalismo entre as lagartas. RODRIGUES & MOREIRA (1999), ao estudar a preferência alimentar de *H. erato phyllis* relacionada à idade da folha e conseqüências para a performance larval, verificaram que os primeiros ínstaes se alimentam exclusivamente da região apical do ramo e esta preferência diminui nos ínstaes subseqüentes. KERPEL (1999), em estudos de laboratório e insetário, constatou que, tanto larvas como adultos exibem preferência por *P. misera* comparado com *P. suberosa*, sendo esta preferência supostamente inata e não

aprendida. Estudando dois tipos fenotípicos de *P. suberosa* (forma verde e forma roxa), GAUER (2000), averiguou a preferência de oviposição em tipos verdes em detrimento das formas roxas, que apresentam maior quantidade de tricomas nas folhas, bem como antocianinas e outras defesas químicas.

Ao estudar o efeito no desgaste das mandíbulas de *H. erato phyllis* em relação a variação da dureza da folha em *P. misera* e *P. suberosa* e as conseqüências desta variação sobre a herbivoria, SILVEIRA (2002) verificou que indivíduos criados em folhas maduras de *P. suberosa* apresentaram grau de desgaste maior que indivíduos criados em folhas jovens desta passiflorácea, quando comparados aqueles criados em folhas tanto maduras quanto jovens de *P. misera*. Isto se deve ao fato que as folhas de *P. suberosa* são mais rígidas e espessas que folhas de *P. misera* (Capítulo 2, SILVEIRA 2002).

Em adição, KERPEL (2004) ao analisar a influência do conteúdo nutricional de *P. suberosa* e *P. misera* na performance, nutrição e digestão de *H. erato phyllis*, dentre outros objetivos, constatou que plantas cultivadas com adição de nitrogênio apresentaram folhas mais tenras, com maior quantidade de água, macro e micronutrientes. Larvas criadas em *P. misera* tiveram maior taxa de crescimento, devido ao maior consumo e maior digestibilidade, pois fragmentos de *P. misera* cortados pelas larvas são menores em relação a *P. suberosa*, o que possibilita maior aproveitamento dos nutrientes, supostamente em função da maior área de contato com as enzimas digestivas.

Não obstante à existência das informações citadas, desconhece-se a influência das hospedeiras nos componentes do comportamento de forrageio (senso BERNAYS *et al.* 2004a,b) pela larva de *H. erato phyllis*, o que é explorado no presente estudo frente às principais espécies de passiflorácea utilizadas no Rio Grande do Sul, levando-se

também em consideração tanto a ontogênese da larva quando a idade da folha hospedeira.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Criação das larvas

Adultos de *H. erato phyllis* foram capturadas nos arredores do Campus do Vale (UFRGS), Morro Santana, Porto Alegre, RS (30°02'S e 51°09'W) e no Horto Florestal Barba Negra, Aracruz S.A., município de Barra do Ribeiro, RS (30°23'S e 51°12'W) e mantidos e criadas em condições de insetário para a obtenção de ovos, conforme descrito nos Capítulos 2 e 3. Estes foram transferidos para o Laboratório de Morfologia e Comportamento de Insetos (Departamento de Zoologia, UFRGS) e mantidos em placas de Petri com papel filtro umedecido, em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; 14horas/luz/dia), até a eclosão. Após, as larvas ($n = 20$ / espécie de planta) foram transferidas para ramos individuais, conforme cada tratamento relativo à planta hospedeira, acondicionados em garrafas plásticas com apoio de bambu e cobertos com tela de malha fina (FERRO 1998). Os indivíduos foram vistoriados diariamente para averiguar a disponibilidade de alimento e registrar a ocorrência de morte ou muda, acompanhando assim o desenvolvimento dos ínstaes larvais.

Os comportamentos alimentares das larvas foram observados em cinco espécies de passifloráceas (*P. alata*, *P. caerulea*, *P. edulis*, *P. misera* e *P. suberosa*). Para tanto, foram utilizados ramos obtidos de mudas de *P. misera* e *P. suberosa* cultivadas em vasos, em telados existentes no Departamento de Ecologia da UFRGS, e de *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata* cultivadas em canteiros existentes no Departamento de Zoologia da UFRGS, conforme descrito em detalhe no Capítulo 2.

Todas as plantas cultivadas foram regadas de dois em dois dias e, na ocasião, vistoriadas com vistas a eliminar eventuais herbívoros.

4.2.2 Comportamento alimentar

Foram realizadas observações prévias para qualificação dos atos comportamentais por meio de amostragens de todas as ocorrências (*ad libitum*), amostragens de seqüência e instantâneas (ALTMANN 1974, DEL-CLARO 2004). As definições, estabelecidas como resultado dessas, seguiram o proposto por BERNAYS *et al.* (2004b), com modificações:

- Repousando – sem se alimentar ou locomover – vários outros movimentos podendo ocorrer durante esse evento, incluindo contorção, contração e defecação;
- Alimentando – ingestão de alimento – freqüentemente representado pela cabeça movendo-se ritmicamente e em contato com a superfície da folha;
- Deslocando – locomovendo-se ativamente;
- Provando – cabeça abaixada na superfície da planta, com contato momentâneo, com ou sem mordida aparente;
- Cortando nervura – mordidas com aparente ingestão de áreas ricas em nervuras (ramos, pecíolos, ou nervura principal).

Para avaliar o tempo dedicado pelas larvas nos diferentes atos comportamentais, foram realizadas observações (n=20 / por ínstar / por tratamento) seguindo-se a metodologia de amostragem de seqüências, com o auxílio de uma lupa manual (10x). Cada indivíduo foi monitorado a cada dois minutos durante seis horas consecutivas, em seu ramo de criação individual (recipiente de criação), ou transferido para novo ramo (de acordo com o experimento correspondente, descritos a seguir). Uma hora antes de começarem as amostragens, a malha fina era removida e os

recipientes dispostos na plataforma de observação, para evitar distúrbios de manuseio. As observações foram realizadas das 10h às 16h, em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; 14 horas / luz / dia), procurando-se não exceder o número de 15 indivíduos por sessão, em função do tempo necessário para as anotações.

O primeiro experimento foi delineado de forma a avaliar as diferenças comportamentais entre os ínstaes e entre os indivíduos nas cinco espécies de passifloráceas supramencionadas. Para o tratamento em *P. alata*, os organismos foram criados em *P. misera* e transferidos, no dia correspondente à observação, para ramos daquela passiflorácea, visto existirem registros de que não há sobrevivência em *P. alata* (PÉRICO & ARAÚJO 1991).

Para o segundo experimento, verificou-se as diferenças nos comportamentos em lagartas criadas em ramos com folhas jovens (do meristema apical até o quinto nó) em relação àquelas criadas em ramos com folhas velhas (do sexto ao décimo nó), de *P. caerulea*, *P. edulis*, *P. misera* e *P. suberosa* (n=20 / ínstar / tratamento).

4.2.3. Análise estatística

A distribuição dos dados foi analisada aplicando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov, para avaliar a normalidade e, teste de Bartlett, para a homocedasticidade das variâncias. Para verificar o efeito entre as espécies de plantas, ínstaes e comportamentos, foi realizada uma análise de variância (ANOVA dois fatores) dos dados log transformados. Como houve significância estatística quanto à interação para todos os parâmetros (Tabela 4.1), os dados foram então comparados para cada fator individualmente, isolando o efeito do ínstar, através de análise de variâncias com medidas repetidas, seguida de testes múltiplos de Tukey. Para avaliar a variação dos comportamentos ao longo da ontogênese os dados foram submetidos à análise de regressão. Para comparar a diferença entre os comportamentos das larvas criadas em

folhas jovens e em folhas velhas, utilizou-se o teste *U* de Mann Whitney. Em todos os casos foi utilizado $\alpha=0,05$. As análises foram feitas através dos programas GraphPad Prism[®] (MOTULSKY & CHRISTOPOULOS 2003), JMP[®] (SALL *et al.* 2007) ou SPSS[®] (ARGYROUS 2005).

4.3. RESULTADOS

Houve interação significativa entre os comportamentos, ínstar e espécie de passiflorácea (Tabela 4.1). Dessa forma, o tempo destinado aos comportamentos é influenciado conjuntamente, tanto pela ontogênese quanto pelo tipo de planta.

Foi verificada, em primeira instância, a diferença entre o tempo dedicado ao repouso e aos demais atos comportamentais (alimentando, deslocando, provando e cortando nervura). Neste caso, as lagartas desprenderam praticamente mais do que o dobro do tempo repousando em relação aos demais atos, independente da espécie de passiflorácea e do ínstar considerado (Tabela 4.2).

Quando o efeito do ínstar foi removido por meio da análise de variância com medidas repetidas (Tabelas 4.3 e 4.4) observa-se que as larvas de *H. erato phyllis* tendem a desprender mais tempo repousando, seguido por alimentando, deslocando, provando e cortando nervura, tendo como fonte de variação os atos comportamentais e fixando as espécies de passifloráceas (Fig. 4.1). Quando os comportamentos foram fixados tendo como fonte de variação as espécies de passifloráceas, verifica-se que larvas em *P. misera* passaram menos tempo repousando comparadas a larvas observadas em *P. alata* (Fig. 4.2A). Porém, em *P. alata* dedicaram menos tempo alimentando quando comparadas àquelas em *P. misera* (Fig. 4.2B). Para os demais atos comportamentais, não foi observada variação expressiva (Fig. 4.2C e D). As larvas em *P. misera* e em *P. suberosa* dedicaram tempo similar cortando nervura em relação àquelas em *P. caerulea* e *P. alata* (Fig 4.2E).

Tabela 4.1. Análise de variância (ANOVA três fatores) sobre a influência da planta, ontogênese e comportamentos das larvas de *H. erato phyllis*, frente a cinco passifloráceas. Números seguidos por asteriscos indicam influências significativas ($\alpha=0,05$).

Fator	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	F	ρ
Planta	4	23,111	43,771	<0,0001*
Ínstar	4	4,435	8,399	<0,0001*
Comportamento	4	1056,621	2001,177	<0,0001*
Interação:				
Planta x ínstar	16	10,590	5,014	<0,0001*
Planta x comportamento	16	80,013	37,885	<0,0001*
Ínstar x comportamento	16	18,269	8,650	<0,0001*
Planta x ínstar x comportamento	64	16,314	1,931	<0,0001*

Tabela 4.2. Variação no tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; em minutos) dedicado ao repouso e aos demais comportamentos em atividade nos diferentes ínstares larvais (n=20 / ínstar) de *H. erato phyllis* sobre cinco espécies de passifloráceas, durante seis horas (= 360 minutos) de observação.

Passiflorácea	Ínstar	Repouso	Outros comportamentos
<i>P. misera</i>	I	245,8±7,00	114,2±7,00
	II	231,9±5,84	127,6±5,82
	III	240,6±11,26	119,4±11,26
	IV	214,6±10,03	145,4±10,03
	V	224,1±10,28	135,9±10,28
<i>P. suberosa</i>	I	287,2±5,02	72,8±5,02
	II	266,5±7,51	93,5±7,51
	III	272,5±7,10	87,5±7,10
	IV	259,2±6,73	100,8±6,73
	V	260,4±9,71	99,6±9,71
<i>P. caerulea</i>	I	290,6±6,91	69,4±6,91
	II	254,8±9,28	105,2±9,28
	III	232,7±8,03	127,3±8,03
	IV	244,3±8,64	114,5±8,28
	V	247±11,91	113±11,91
<i>P. edulis</i>	I	273,3±7,40	86,7±7,39
	II	258,1±6,47	101,9±6,46
	III	239±13,87	120,7±13,87
	IV	274,9±4,66	85,1±4,66
	V	289±5,28	71±5,28
<i>P. alata</i>	I	336,8±5,61	23,2±5,61
	II	322,4±6,31	38,1±6,27
	III	291,4±8,99	68,6±8,99
	IV	290,2±18,14	69,2±14,66
	V	287,3±15,44	72,7±15,44

Tabela 4.3. Análise de variância (ANOVA um fator), com medidas repetidas (fator instar) sobre o efeito de cinco passifloráceas em relação aos comportamentos (repousando, alimentando, deslocando, provando e cortando nervura) efetuados por larvas de *H. erato phyllis*. Asteriscos indicam diferença estatística significativa ($\alpha=0,05$).

Passiflorácea	Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	F	ρ
<i>P. misera</i>	entre-comportamentos	4	248,164	484,042	<0,0001*
	dentre-comportamentos	16	2,840		
	instar	4	2,008	3,592	0,007*
	erro	95	0,513		
<i>P. suberosa</i>	entre-comportamentos	4	260,843	234,638	<0,0001*
	dentre-comportamentos	16	1,987		
	instar	4	1,236	2,170	0,072
	erro	95	1,112		
<i>P. caerulea</i>	entre-comportamentos	4	342,142	526,202	<0,0001*
	dentre-comportamentos	16	1,956		
	instar	4	1,038	1,723	0,144
	erro	95	0,650		
<i>P. edulis</i>	entre-comportamentos	4	315,032	491,265	<0,0001*
	dentre-comportamentos	16	2,848		
	instar	4	2,587	3,951	0,004*
	erro	95	0,641		
<i>P. alata</i>	entre-comportamentos	4	340,401	282,894	<0,0001*
	dentre-comportamentos	16	1,829		
	instar	4	13,047	13,606	<0,0001*
	erro	95	1,203		

Tabela 4.4. Análise de variância (ANOVA um fator) com medidas repetidas (fator instar) do efeito dos comportamentos efetuados por larvas de *H. erato phyllis* em relação a cinco passifloráceas (*P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata*). Asteriscos indicam diferença estatística significativa ($\alpha=0,05$).

Comportamento	Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	F	ρ
Repousando	entre-passifloráceas	4	0,969	28,590	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	16	0,078		
	instar	4	0,281		
	erro	95	0,034		
Alimentando	entre-passifloráceas	4	99,568	198,639	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	16	1,198		
	instar	4	12,966		
	erro	95	0,501		
Deslocando	entre-passifloráceas	4	7,665	8,255	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	16	3,776		
	instar	4	8,450		
	erro	95	0,929		
Provando	entre-passifloráceas	4	3,207	3,441	0,011*
	dentre-passifloráceas	16	1,674		
	instar	4	1,089		
	erro	95	0,932		
Cortando nervura	entre-passifloráceas	4	25,280	14,668	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	16	2,190		
	instar	4	7,307		
	erro	95	1,724		

Figura 4.1. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=20 / comportamento) destinado aos diferentes comportamentos efetuados por larvas de *H. erato phyllis*, quando observados em *P. misera* (A), *P. suberosa* (B), *P. caerulea* (C), *P. edulis* (D) e *P. alata* (E). RE, repousando; AL, alimentando; DE, deslocando; PR, provando alimento; CN, cortando nervura. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os atos comportamentais, dentro de uma dada planta hospedeira (testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$).

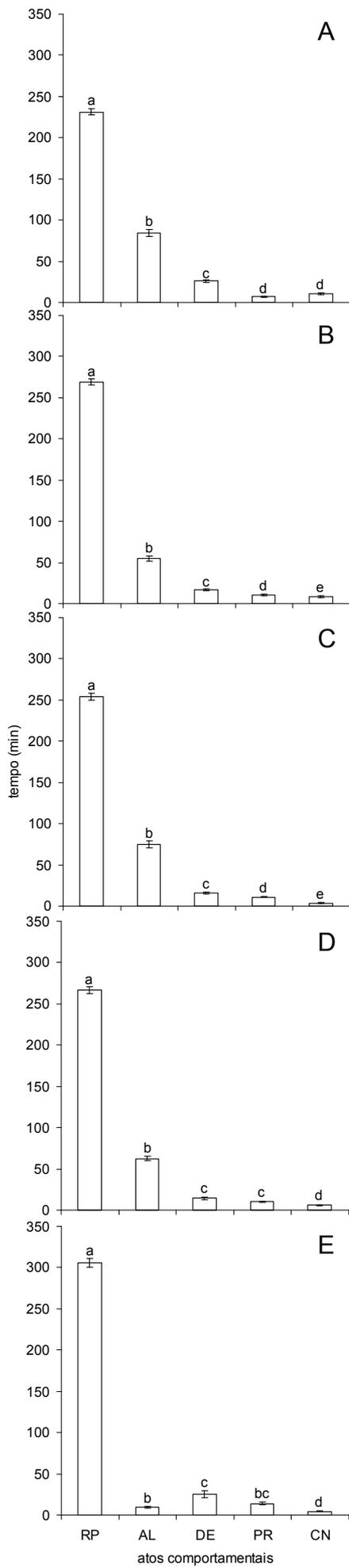
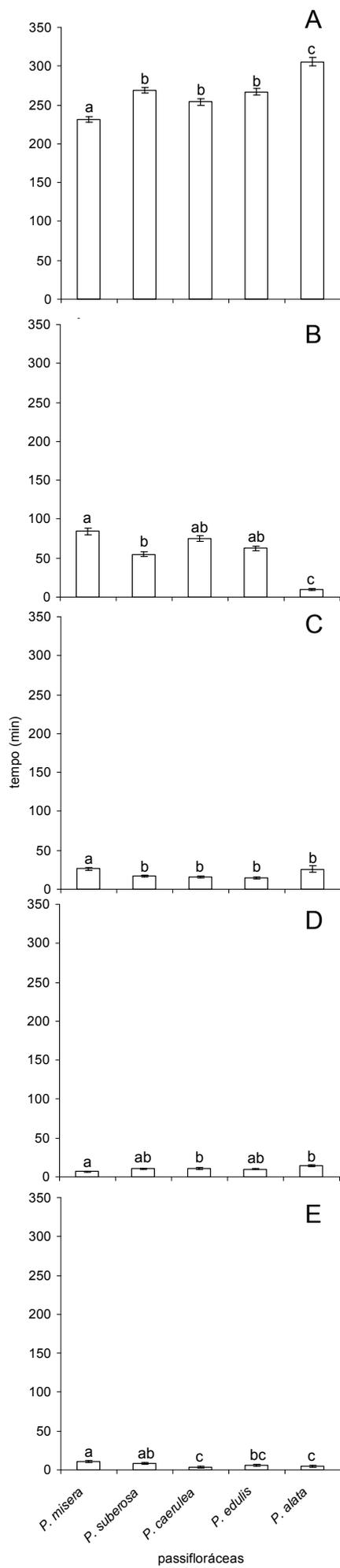


Figura 4.2. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; n=20 / passiflorácea) destinado aos diferentes comportamentos (A, repousando; B, alimentando; C, deslocando; D, provando; e E, cortando nervura) efetuados por larvas de *H. erato phyllis*, quando observados em *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata*. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as passifloráceas (testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$).



A variação temporal no número de refeições, respectiva duração e intervalos foram submetidos também a análise de variância com medidas repetidas para remover o efeito do ínstar sobre esses parâmetros (Tabela 4.5). Constatou-se que lagartas em *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. edulis* realizam aproximadamente sete refeições em seis horas de observação, enquanto que larvas em *P. alata* se alimentam uma ou duas vezes no mesmo período (Tabela 4.6). Com relação à duração, as refeições são mais longas em *P. misera*, seguida por *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. suberosa*. Assim como no parâmetro anterior, lagartas em *P. alata* apresentam refeições de curta duração bem como maior tempo de intervalo entre as refeições quando comparado a lagartas observadas nas demais hospedeiras (Tabela 4.6).

As análises de regressão acerca do tempo despendido a cada ato comportamental avaliada ao longo da ontogênese larval não foram significativas quanto ao tempo provando o alimento e cortando nervura em *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. alata*, e quanto ao tempo destinado ao repouso e à alimentação em *P. edulis* (Tabela 4.7). Verifica-se, assim, que as larvas de *H. erato phyllis* tendem a dedicar menos tempo repousando e se deslocando, e mais tempo à alimentação, ao longo dos ínstars, com exceção das lagartas observadas em *P. edulis* cujo tempo repousando e alimentando permanece praticamente constante (Tabela 4.7).

Focalizando no tempo empregado nos comportamentos de larvas criadas nos dois tipos de folhas (jovens e velhas), constata-se que lagartas de primeiro ínstar em folhas velhas de *P. misera* repousam mais tempo, e deslocam e cortam nervura em menos tempo. Não houve diferenças significativas no tempo dedicado à alimentação. Para larvas de terceiro ínstar apenas o ato de provar o alimento apresentou diferenças significativas (Fig. 4.3 A e B).

Para o primeiro ínstar larval em *P. suberosa*, observa-se diferenças entre os tempos repousando, alimentando, deslocando e provando (Fig. 4.4A). Mesmo padrão

Tabela 4.5. Análise de variância (ANOVA um fator), com medidas repetidas (fator instar), do efeito sobre a variação no número de refeições, respectivas durações e intervalos, efetuadas por larvas de *H. erato phyllis* observadas em cinco passifloráceas (*P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. alata*). Asteriscos indicam diferença estatística significativa ($\alpha=0,05$).

Refeições	Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	F	ρ
Número	entre-passifloráceas	4	614,283	116,246	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	16	7,886		
	instar	4	65,348		
	erro	95	5,284		
Duração	entre-passifloráceas	4	664,367	32,872	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	16	40,257		
	instar	4	340,705		
	erro	95	20,211		
Intervalo	entre-passifloráceas	4	6837,327	7,113	<0,0001*
	dentre-passifloráceas	16	4750,299		
	instar	4	3118,348		
	erro	95	961,232		

Tabela 4.6. Variação temporal ($\bar{X} \pm$ erro padrão) no número de refeições, respectiva duração e intervalos efetuadas por larvas de *H. erato phyllis* (n = 100 / passiflorácea), ao longo da ontogênese, em seis horas de observação sobre cinco espécies de passifloráceas. Letras diferentes indicam diferença significativa do parâmetro entre as plantas (Anova, um fator, medidas repetidas - instar, seguida de testes múltiplos de Tukey; $p < 0,05$).

Passiflorácea	Refeições		
	Número (n)	Duração (min)	Intervalo (min)
<i>P. misera</i>	6,59±0,25 ^a	13,20±0,55 ^a	45,75±2,01 ^a
<i>P. suberosa</i>	6,84±0,24 ^a	8,13±0,31 ^b	49,24±2,19 ^a
<i>P. caerulea</i>	7,35±0,28 ^a	10,27±0,52 ^c	42,40±2,28 ^a
<i>P. edulis</i>	7,01±0,25 ^a	9,22±0,31 ^{bc}	47,19±1,83 ^a
<i>P. alata</i>	1,44±0,12 ^b	6,28±0,58 ^d	70,74±9,45 ^b

Tabela 4.7. Equações de regressão linear correspondentes ao tempo designado a cada ato comportamental ao longo do estágio larval de *H. erato phyllis* (n=20 / ínstar / hospedeira) em cinco espécies de passifloráceas. Asteriscos indicam variação significativa ao longo da ontogênese ($\alpha < 0,05$).

Passiflorácea	Atos comportamentais	Equação	R ²	N	F	ρ
<i>P. misera</i>	Repousando	$y = -6,07x + 249,61$	0,0432	100	4,423	0,0380*
	Alimentando	$y = 13,52x + 43,9$	0,2374	100	30,50	<0,0001*
	Deslocando	$y = -7,22x + 47,84$	0,3747	100	58,72	<0,0001*
	Provando	$y = 0,69x + 4,87$	0,0351	100	3,561	0,0621
	Cortando nervura	$y = -0,87x + 13,53$	0,016	100	1,590	0,2104
<i>P. suberosa</i>	Repousando	$y = -6,09x + 287,43$	0,0653	100	6,845	0,0103*
	Alimentando	$y = 9,46x + 26,52$	0,2351	100	30,12	<0,0001*
	Deslocando	$y = -3,96x + 28,8$	0,2156	100	26,94	<0,0001*
	Provando	$y = -0,2x + 10,9$	0,0012	100	0,1218	0,7278
	Cortando nervura	$y = 0,79x + 6,35$	0,0166	100	1,659	0,2008
<i>P. caerulea</i>	Repousando	$y = -9,65x + 283,07$	0,0962	100	10,43	0,0017*
	Alimentando	$y = 13,11x + 35,77$	0,2143	100	26,72	<0,0001*
	Deslocando	$y = -2,95x + 25,03$	0,1438	100	16,46	0,0001*
	Provando	$y = -0,51x + 12,49$	0,0077	100	0,7595	0,3856
	Cortando nervura	$y = 3,64$	0	100	0,0000	1,0000
<i>P. edulis</i>	Repousando	$y = 4,82x + 252,46$	0,0295	100	2,983	0,0873
	Alimentando	$y = -1,28x + 66,42$	0,0044	100	0,4317	0,5127
	Deslocando	$y = -3,32x + 24,54$	0,1063	100	11,65	0,0009*
	Provando	$y = -1,6x + 14,82$	0,0851	100	9,110	0,0032*
	Cortando nervura	$y = 1,38x + 1,76$	0,0609	100	6,350	0,0134*
<i>P. alata</i>	Repousando	$y = -13,06x + 344,92$	0,1262	100	14,16	0,0003*
	Alimentando	$y = 2,53x + 2,31$	0,1445	100	16,55	<0,0001*
	Deslocando	$y = 7,95x + 1,83$	0,0728	100	7,691	0,0066*
	Provando	$y = 1,29x + 10,27$	0,0215	100	2,154	0,1454
	Cortando nervura	$y = 1,24x + 0,92$	0,0374	100	3,807	0,0539

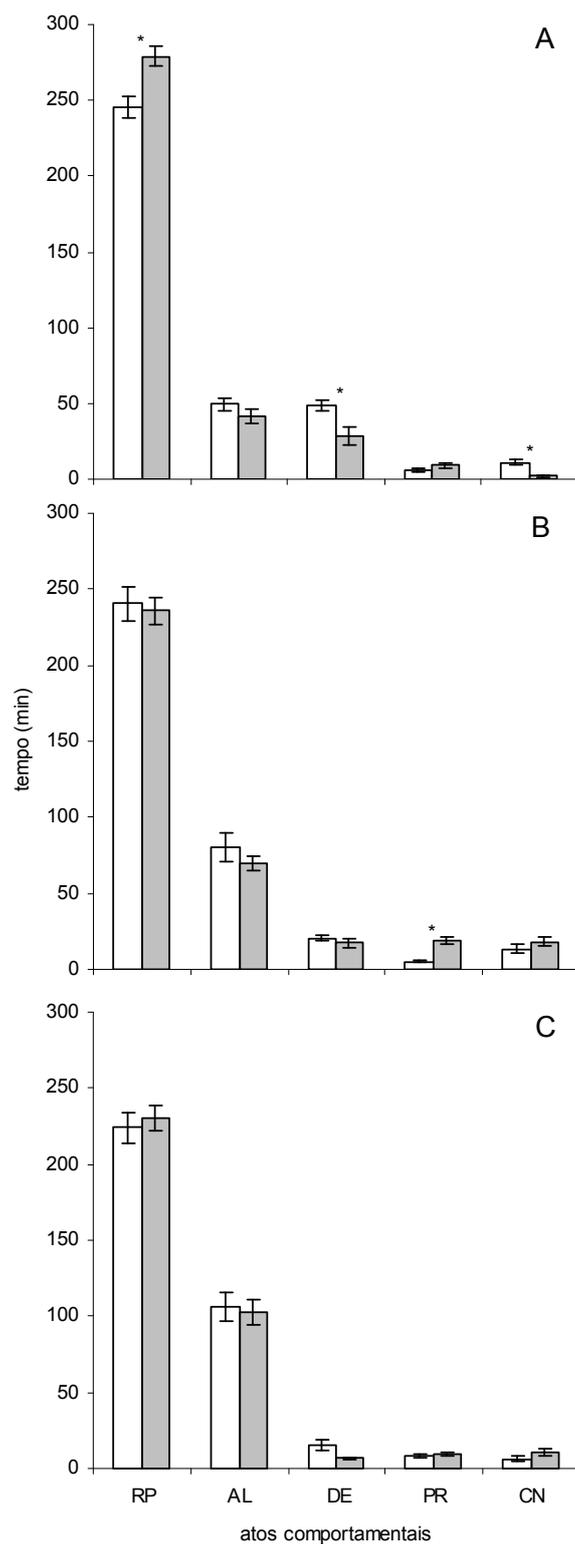


Figura 4.3. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ por tratamento) destinado aos diferentes comportamentos no primeiro, terceiro e quinto ínstaes (de A a C, respectivamente) de *H. erato phyllis*, quando observados em folhas jovens (barras vazias) e folhas velhas (barras cheias) de *P. misera*. RP, repouso; AL, alimentação; DE, deslocamento; PR, prova do alimento; CN, corte da nervura. Asteriscos indicam diferença significativa entre os dois tipos de folhas para cada ato comportamental considerado (testes *U* de Mann-Whitney; $p < 0,05$).

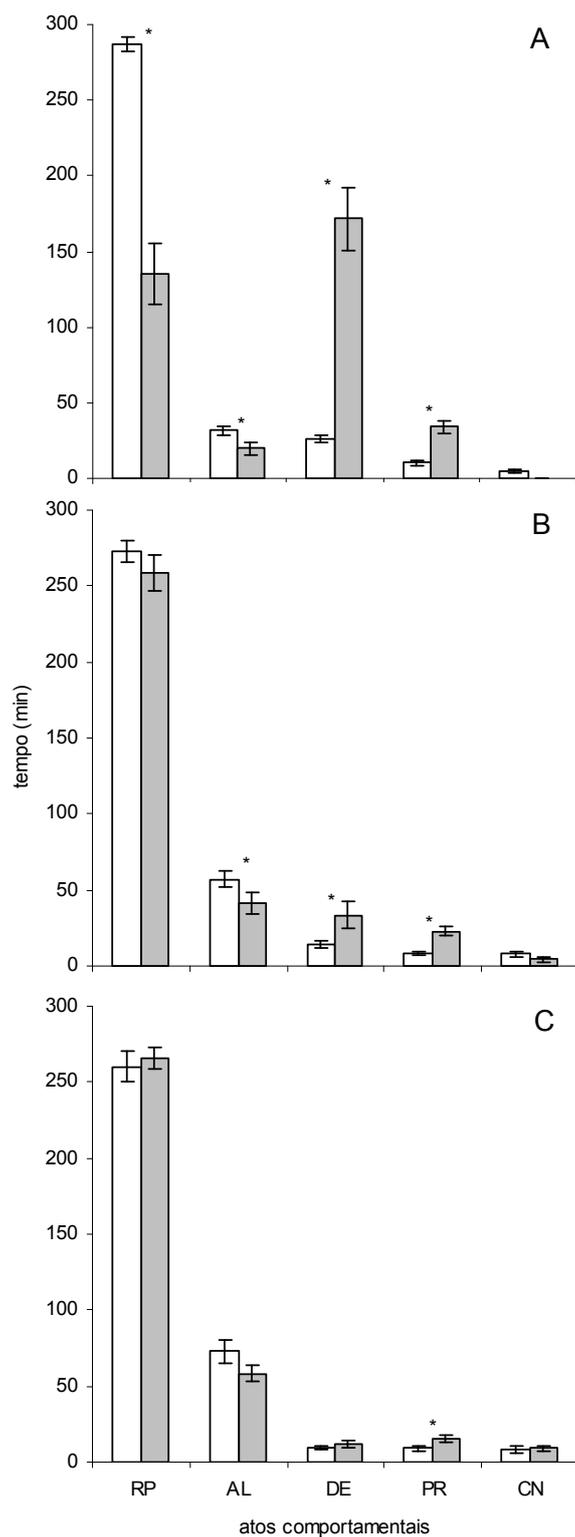


Figura 4.4. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ por tratamento) destinado aos diferentes comportamentos no primeiro, terceiro e quinto ínstaes (de A a C, respectivamente) de *H. erato phyllis*, quando observados em folhas jovens (barras vazias) e folhas velhas (barras cheias) de *P. suberosa*. RP, repouso; AL, alimentação; DE, deslocamento; PR, prova do alimento; CN, corte da nervura. Asteriscos indicam diferença significativa entre os dois tipos de folhas para cada ato comportamental considerado (testes *U* de Mann-Whitney; $p < 0,05$).

ocorre em lagartas criadas em *P. caerulea*, exceto para o tempo em alimentação (Fig. 4.5A). Neste caso, em folhas velhas as larvas empregaram menos tempo para o repouso e mais tempo para o deslocamento e prova de alimento. Porém, em *P. edulis*, apenas o ato de provar o alimento diferiu significativamente neste ínstar (Fig. 4.6A).

Os terceiros ínstars criados em folhas jovens e velhas de *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. edulis* apresentaram padrão semelhante, relativo ao tempo gasto na alimentação e prova do alimento (Figs. 4.4B, 4.5B e 4.6B). Porém, no quinto ínstar, em todos estes tratamentos, não houve diferenças no tempo entre os comportamentos exceto para a prova de alimento em *P. misera* e *P. edulis*, bem como na alimentação e deslocamento nesta última passiflorácea (Figs. 4.4C, 4.6C).

4.4. DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho evidenciaram que a ontogênese, o tipo de planta hospedeira e a idade foliar influenciam conjuntamente no tempo destinado aos atos comportamentais das larvas de *H. erato phyllis*. Independente da planta hospedeira, as larvas deste heliconíneo empregaram mais que o dobro do tempo repousando, em relação aos demais atos comportamentais. Padrão semelhante já foi observado para outros organismos, como no caso de larvas de *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera, Noctuidae), onde a maior parte do tempo observado correspondeu ao repouso (41,5%) (ADLER & ADLER 1988). O mesmo acontece com as larvas de *Gratiana spadicea* (Klug) (Coleoptera, Chrysomelidae), cujo tempo destinado ao repouso superou ao de outras atividades, durante a ontogênese e entre folhas com alta e baixa densidade de tricomas (BOLIGON 2007). Isto é considerado padrão em insetos especialistas, que se situam em suas hospedeiras desde o estágio de ovo (BERNAYS 2001).

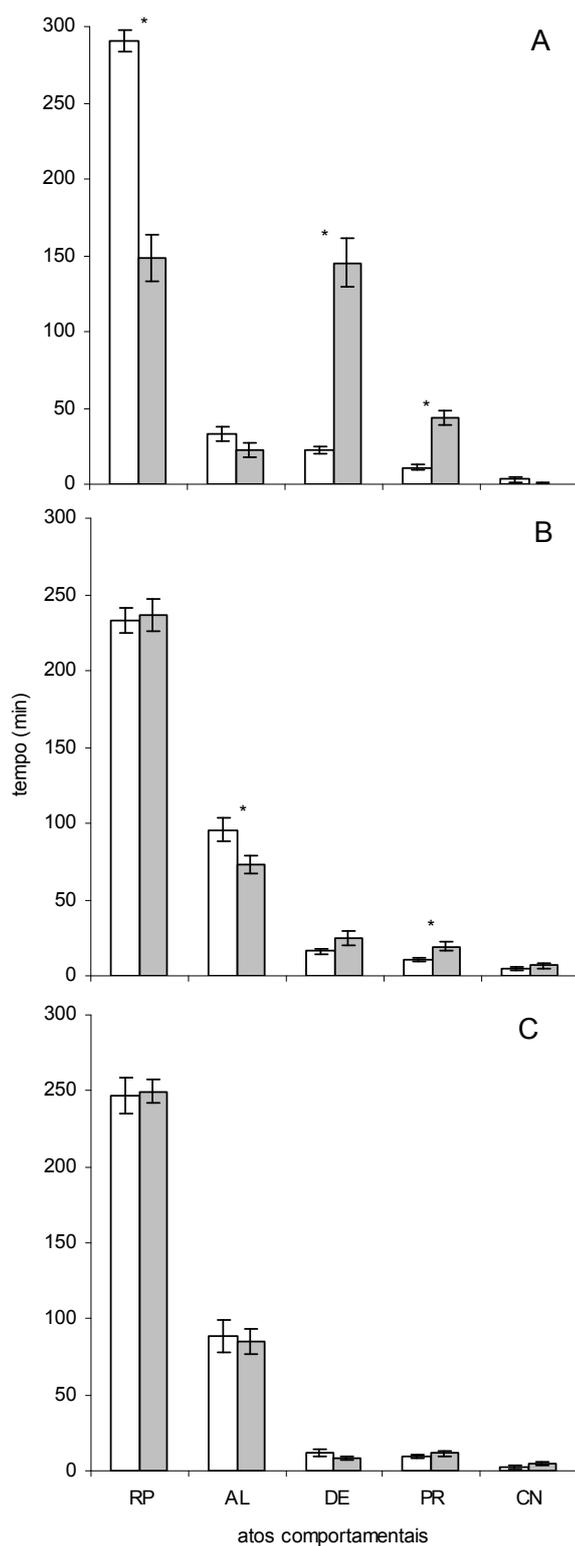


Figura 4.5. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ por tratamento) destinado aos diferentes comportamentos no primeiro, terceiro e quinto ínstaes (de A a C, respectivamente) de *H. erato phyllis*, quando observados em folhas jovens (barras vazias) e folhas velhas (barras cheias) de *P. caerulea*. RP, repouso; AL, alimentação; DE, deslocamento; PR, prova do alimento; CN, corte da nervura. Asteriscos indicam diferença significativa entre os dois tipos de folhas para cada ato comportamental considerado (testes *U* de Mann-Whitney; $p < 0,05$).

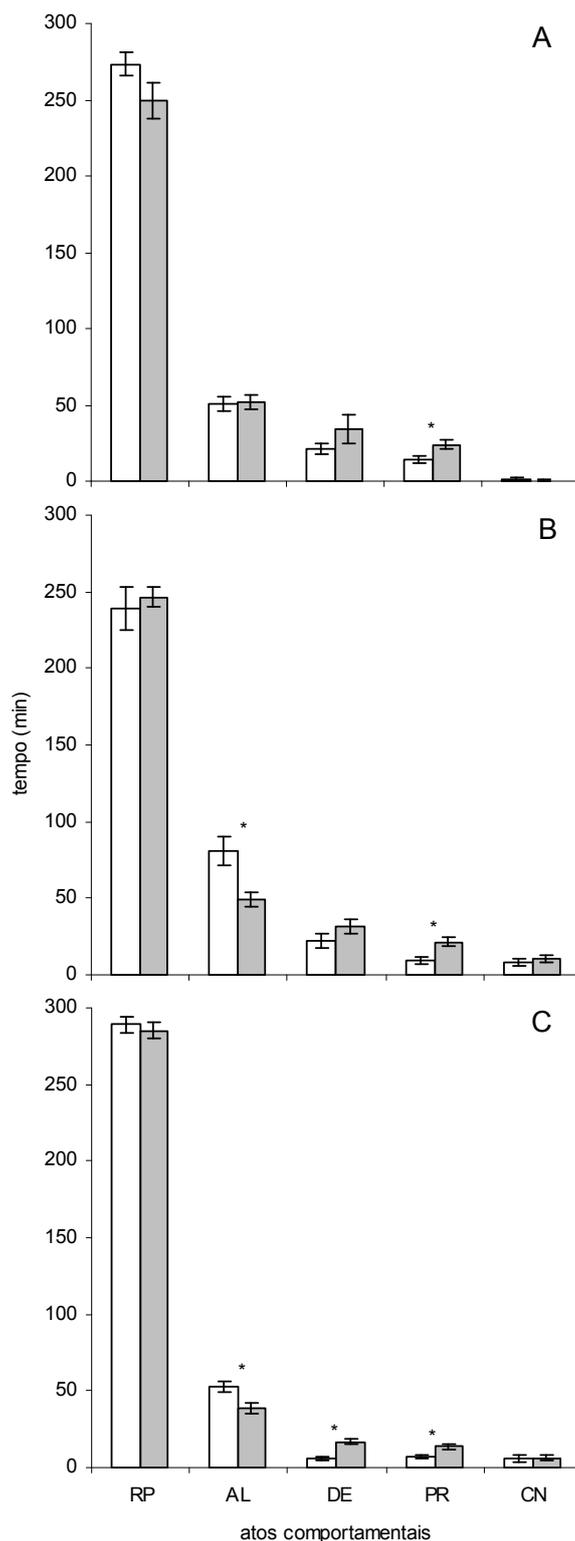


Figura 4.6. Tempo ($\bar{X} \pm$ erro padrão; $n=20$ por tratamento) destinado aos diferentes comportamentos no primeiro, terceiro e quinto ínstaes (de A a C, respectivamente) de *H. erato phyllis*, quando observados em folhas jovens (barras vazias) e folhas velhas (barras cheias) de *P. edulis*. RP, repouso; AL, alimentação; DE, deslocamento; PR, prova do alimento; CN, corte da nervura. Asteriscos indicam diferença significativa entre os dois tipos de folhas para cada ato comportamental considerado (testes *U* de Mann-Whitney; $p < 0,05$).

O fato de larvas em *P. misera* desprenderem menos tempo ao repouso e maior tempo à alimentação, em comparação às outras passifloráceas, pode se dever à qualidade nutricional inferior desta espécie de planta, quando comparada, por exemplo, com *P. edulis* e *P. suberosa* (CARVALHO *et al.* 2001, KERPEL 2004). Mesmo assim, é sabido que *P. misera* confere alta sobrevivência e menor tempo de desenvolvimento às larvas de *H. erato phyllis* e de outros heliconíneos, como *Heliconius etilla narceae* e *Dione juno juno*, quando comparada à *P. suberosa* (RODRIGUES & MOREIRA 2004, BIANCHI & MOREIRA 2005, SILVA 2008). Isto se deve ao fato de que a taxa de consumo e a digestibilidade são superiores para larvas de *H. erato phyllis* que se alimentam em *P. misera* em relação àquelas em *P. suberosa* (KERPEL 2004).

De certa forma, quando em ambientes restritos e com dietas de baixa qualidade, os insetos podem desenvolver mecanismos para compensar essas deficiências nutricionais, como por exemplo, aumentando a ingestão de alimento (BERNAYS 1998, BEHMER 2009). Este fato pode ocorrer quando se desprende mais tempo para este comportamento, o que explicaria o caso de *H. erato phyllis* frente ao maior tempo usado na ingestão de *P. misera* e consumo correspondente.

Os instares iniciais constituem-se as fases mais frágeis do desenvolvimento, estando, em geral, sujeitos à alta mortalidade (BERNAYS 1997, ZALUCKI *et al.* 2002). Dessa forma, a procura por um sítio de alimentação favorável, com melhor qualidade de nutrientes é de fundamental importância. Conforme RODRIGUES & MOREIRA (1999), as larvas de *H. erato phyllis* são de fato mais seletivas e sensíveis nos primeiros instares. Isso pode explicar o fato delas dedicarem parte do tempo para o deslocamento em condições limitantes à alimentação, como por exemplo, nas folhas velhas de *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. edulis*, ou em *P. alata*, a hospedeira que confere alta mortalidade. De forma semelhante, larvas de *H. zea*, nos primeiros instares, são mais móveis e repousam menos (ADLER & ADLER 1988). No caso de *H.*

erato phyllis, o tempo usado para provar o alimento é menor em *P. misera*, a planta preferida deste heliconíneo (RODRIGUES & MOREIRA 2002, KERPEL 2004, KERPEL & MOREIRA 2005).

O tempo destinado a cada refeição foi inferior ao já descrito para larvas de heliconíneos (em média de 10 min para *H. erato phyllis* em relação aos 20 a 30 min observados na literatura); entretanto, o intervalo entre refeições, com períodos de repouso superiores a 30 min, seguiu o padrão observado de forma preliminar por ALEXANDER (1961). Ritmos de alimentação, cujo modelo refere-se a menos de uma hora se alimentando, intercalados por 30 minutos a 2 horas, refletem, provavelmente, o tempo necessário para os processos de digestão e absorção, já descritos para outros insetos (MATTSON & SCRIBER 1987, SLANSKY 1993).

A grande discrepância comportamental entre as larvas observadas em *P. alata* em relação às demais hospedeiras pode estar relacionado ao fato desta passiflorácea ser letal para larvas de *H. erato phyllis*, no estado do Rio Grande do Sul, apesar de ocorrerem registros de oviposição nesta planta (PÉRICO & ARAÚJO 1991, DELL'ERBA *et al.* 2005). O número de refeições nesta espécie se limitou, praticamente, a um ou dois eventos, precedidos por grande tempo em deslocamento e, seguido de longo período em imobilidade. Segundo REGINATTO *et al.* (2001) e BIRK *et al.* (2005), folhas de *P. alata* apresentam acúmulo acentuado de saponina, um glicosídeo com propriedades deterrentes a artrópodes herbívoros (ácaros, besouros e lepidópteros) (GERSHENZON & CROTEAU, 1991). De acordo com COSTA *et al.* (2004), a deterrência, ao reduzir o consumo de alimento, pode provocar deficiência nutricional que, por sua vez, ocasiona atraso no desenvolvimento ou deformações; o que diminui, também, a capacidade de locomoção do organismo na procura de novos sítios alimentares ou locais de abrigo.

Características morfológicas, como a dureza e espessura de alguns tecidos vegetais da planta, constituem características físicas que podem limitar a atuação dos

insetos (BERNAYS & CHAPMAN 1994). Conforme abordado no Capítulo 2, essas características das plantas diferem entre as espécies de passifloráceas e ao longo do desenvolvimento do ramo. Assim, folhas mais velhas são mais duras e espessas que folhas mais jovens. As folhas de *P. misera* são mais delgadas e menos duras que àquelas das outras passifloráceas, como, por exemplo *P. edulis*. As mandíbulas das larvas de primeiro ínstar de *H. erato phyllis* apresentam índice de dureza de Vickers menor, quanto comparadas com os ínstars finais (Capítulo 3). Em adição, SILVEIRA (2002) verificou que indivíduos criados em folhas maduras de *P. suberosa* apresentaram grau de desgaste da mandíbula maior que indivíduos criados em folhas jovens dessa passiflorácea, quando comparados àqueles criados em folhas tanto maduras, quanto jovens, de *P. misera*. BITTENCOURT-RODRIGUES & ZUCOLOTO (2009) constataram um efeito na performance de *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera, Pieridae), quando alimentadas com folhas jovens e velhas de couve (*Brassica oleracea* Linnaeus, Brassicaceae). Dessa forma, a dureza foliar pode se constituir em fator limitante neste sistema, pois larvas de primeiro ínstar de *H. erato phyllis* utilizam tecidos maduros com dificuldade, gerando mudanças no tempo empregado nos atos comportamentais observados no presente estudo, além da alta mortalidade (RODRIGUES & MOREIRA 1999). Este efeito se dilui nos ínstars finais devido a maior dureza da mandíbula, ao aumento da cápsula cefálica e, conseqüentemente, do volume do músculo adutor da mandíbula, responsável pela força necessária ao fechamento desta (AYMONE 2006).

Para superar essas barreiras impostas pelas características das plantas hospedeiras, as larvas de *H. erato phyllis* tendem a raspar o mesofilo foliar das plantas que apresentam folhas mais duras, quando no primeiro ínstar (Capítulo 2). A constância no ato de cortar a nervura, causa provavelmente uma redução da pressão de turgor, o que facilitaria o corte periférico do limbo foliar (DUSSOURD & EISNER 1987,

DUSSOURD & DENNO 1991, DUSSOURD 1993), o que justifica-se pelo benefício correspondente, em qualquer fase da ontogênese. A proporção de tempo utilizado neste comportamento foi sempre comparativamente pequeno, o que indica um baixo custo deste.

4.5. Referências bibliográficas⁴

- ADLER, P.H. & C.R.L. ADLER .1988. Behavioral time budget for larvae of *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) on artificial diet. **Annals of Entomological Society of America** **81** (4): 682-688.
- ALEXANDER, A.J. 1961. A study of the biology and behavior of the caterpillars, pupae and emerging butterflies of the subfamily Heliconiinae in Trinidad, West Indies. Part I. Some aspects of larval behavior. **Zoologica** **46** (1): 1-25.
- ALTMANN, J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. **Behaviour** **49** (3): 227-265.
- ARGYROUS, G. 2005. **Statistics for research: with a guide to SPSS**. London, The Cromwell Press, XIV+401p.
- AYMONE, A.C.B. 2006. **Alometria cefálica na ontogênese de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae: Heliconiinae)**. Porto Alegre, Monografia de Bacharelado em Biologia, UFRGS, III+37p.
- BEHMER, S.T. 2009. Insect herbivore nutrient regulation. **Annual Review of Entomology** **54** (1): 165-187.
- BENSON, W.W.; K.S. BROWN-JR. & L.E. GILBERT. 1975. Coevolution of plants and herbivores: passion flower butterflies. **Evolution** **29** (4): 659-680.

⁴ Referências de acordo com a Revista Brasileira de Zoologia, http://www.sbzoologia.org.br/sistema/up_anexos/998c44e765bcbec87f86a853e52b0aaf.pdf, acessado em 17.11.2009

- BERNAYS, E.A. 1991. Evolution of insect morphology in relation to plants. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London** **333** (1267): 257-264.
- BERNAYS, E.A. 1997. Feeding by lepidopteran larvae is dangerous. **Ecological Entomology** **22** (1): 121-123.
- BERNAYS, E.A. 1998. Evolution of feeding behavior in insect herbivores. **BioScience** **48** (1): 35-44.
- BERNAYS, E.A. 2001. Neural limitations in phytophagous insects: implications for diet breadth and evolution of host affiliation. **Annual Review of Entomology** **46** (1):703-727.
- BERNAYS, E.A.; M.S. SINGER & D. RODRIGUES. 2004a. Trenching behavior by caterpillars of the *Euphorbia* specialist, *Pygarctia roseicapitis*: a field study. **Journal of Insect Behavior** **17** (1): 41-52.
- BERNAYS, E.A.; M.S. SINGER & D. RODRIGUES. 2004b. Foraging in nature: foraging efficiency and attentiveness in caterpillars with different diet breadths. **Ecological Entomology** **29** (4): 389-397.
- BERNAYS, E.A. & R.F. CHAPMAN. 1994. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York, Chapman & Hall, XIV+312p.
- BERNAYS, E.A.; S. OPPENHEIM; R.F. CHAPMAN; H. KWON & F. GOULD. 2000. Taste sensitivity of insect herbivores to deterrents is greater in specialists than in generalists: a behavioral test of the hypothesis with two closely related caterpillars. **Journal of Chemical Ecology** **26** (2): 547-563.
- BOLIGON, D.S. 2007. **Variação nos tricomas de *Solanum sisymbriifolium* (Solanaceae) e herbivoria por larvas de *Gratiana spadicea* (Coleoptera, Chrysomelidae)**. Porto Alegre, Dissertação de mestrado, Biologia Animal, UFRGS, Brasil, IX+62p.

- BIANCHI, V. & G.R.P. MOREIRA. 2005. Preferência alimentar, efeito da planta hospedeira e da densidade larval na sobrevivência e desenvolvimento de *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **22** (1): 43-50.
- BIRK, C.D.; G. PROVENSÍ; G. GOSMANN; F.H. REGINATTO; E.P. SCHENKEL. 2005. TLC fingerprint of flavonoids and saponins from *Passiflora* species. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies** **28** (14): 2285-2291.
- BITTENCOURT-RODRIGUES, R.S. & F. ZUCOLOTO. 2009. How feeding on young and old leaves affects the performance of *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera, Pieridae). **Revista Brasileira de Entomologia** **53** (1): 102-106.
- CARVALHO, A.J.C.; D.P. MARTINS; P.H. MONNERAT; S. BERNARDO & J.A. SILVA. 2001. Teores de nutrientes foliares no maracujazeiro-amarelo associados à estação fenológica, adubação potássica e lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Fruticultura** **23** (2): 403-408
- CHAPMAN, R.F. 1964. The structure and wear of mandibles in some African grasshoppers. **Proceedings of the Zoological Society of London** **142** (1): 107-121.
- COSTA, E.L.N.; R.F.P DA SILVA & L.M. FIUZA. 2004. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia** **26** (2): 173-185.
- DAS, G.M. 1937. The musculature of the mouth-parts of insect larvae. **Quarterly Journal of Microscopical Science** **80** (1): 39-80.
- DEL-CLARO, K. 2004. **Comportamento animal – uma introdução à ecologia comportamental**. Jundiaí, Conceito, 132p.
- DELL'ERBA, R; L.A. KAMINSKI & G.R.P. MOREIRA. 2005. O estágio de ovo dos Heliconiini (Lepidoptera, Nymphalidae) do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia** **95** (1): 29-46.

- DUSSOURD, D.E. 1993. Foraging with finesse: caterpillar adaptations for circumventing plant defenses, p. 92-131. *In*: N.E. STAMP & T.M. CASEY (Eds.). **Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging**. New York, Chapman and Hall, 587p.
- DUSSOURD, D.E & R.F. DENNO. 1991. Deactivation of plant defense: correspondence between insect behavior and secretory canal architecture. **Ecology** **72** (4): 1383-1396.
- DUSSOURD, D.E. & T. EISNER. 1987. Vein-cutting behavior: insect counterploy to the latex defense of plants. **Science** **237** (4817): 898-901.
- FERRO, V.G. 1998. **Criação de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae) em condições semi-naturais**. Porto Alegre, Dissertação de Bacharelado em Biologia (UFRGS), 49p.
- GAUER, E.A.B. 2000. **Caracterização de duas formas de *Passiflora suberosa* Linnaeus (Passifloraceae) e seleção por *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae)**. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Biologia Animal, UFRGS, 92p.
- GERSHENZON, J. & R. CROTEAU. 1991. Terpenoids. p.165-219. *In*: Rosenthal, G.A. & Berenbaum, M.R. (eds.) **Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites**. . San Diego, Academic Press, XII+493.
- HOCHULI, D. 2001. Insect herbivory and ontogeny: how do growth and development influence feeding behaviour, morphology and host use? **Austral Ecology** **26** (5): 563-570.
- JOHNSON, M.-L. & M.P. ZALUCKI. 2005. Foraging behaviour of *Helicoverpa armigera* first instar larvae on crop plants of different developmental stages. **Journal of Applied Entomology** **129** (5): 239-245.

- JOHNSON, M.-L. & M.P. ZALUCKI. 2007. Feeding and foraging behaviour of a generalist caterpillar: are third instars just bigger versions of firsts? **Bulletin of Entomological Research** **97** (1): 81-88.
- KERPEL, S.M. 1999. **Aspectos ecológicos e comportamentais envolvidos na seleção da planta hospedeira por *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae)**. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Biologia animal (UFRGS), XIII+75p.
- KERPEL, S.M. 2004. **Influência do conteúdo nutricional de *Passiflora suberosa* e *Passiflora misera* na performance, nutrição, digestão e comportamento de escolha de *Heliconius erato phyllis***. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Ecologia, UFRGS, XVII+163p.
- KERPEL, S.M. & G.R.P. MOREIRA. 2005. Absence of learning and local specialization on host plant selection by *Heliconius erato*. **Journal of Insect Behavior** **18** (3): 433-452.
- LARSSON, S. 2002. Resistance in trees to insects – an overview of mechanisms and interactions, p. 1-29. *In*: M.R. WAGNER (Ed.). **Mechanisms and deployment of resistance in trees to insects**. Hingham, Kluwer Academic Publishers, X+332p.
- MATTSON, W.J. & J. M. SCRIBER. 1987. Nutritional ecology of insect folivores of woody plants: nitrogen, water, fiber and mineral considerations, p 105-146. *In*: SLANSKY, F. J. & J.G. RODRIGUEZ (Eds.). **Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates**. New York, John Wiley & Sons, 1016p.
- MENNA-BARRETO, Y. & A.M. ARAÚJO. 1985. Evidence for host plant preferences in *Heliconius erato phyllis* from southern Brazil (Nymphalidae). **Journal of Research on the Lepidoptera** **24** (1): 41-46.
- MOTULSKY, H.M. & A. CHRISTOPOULOS. 2003. **Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting**. San Diego,

- GraphPad Software Inc., 351p. Available online at: www.graphpad.com/manuals/prism4/regressionbook.pdf [Accessed:17.11.2009].
- MUGRABI-OLIVEIRA, E. & G.R.P. MOREIRA. 1996a. Conspecific mimics and low host plant availability reduce egg laying by *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** 13 (4): 929-937.
- MUGRABI-OLIVEIRA, E. & G.R.P. MOREIRA. 1996b. Size of and damage on shoots of *Passiflora suberosa* (Passifloraceae) influence oviposition site selection of *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** 13 (4): 939-953.
- PÉRICO, E. 1995. Interação entre quatro espécies de Heliconiini (Lepidoptera: Nymphalidae) e suas plantas hospedeiras (Passifloraceae) em uma floresta secundária do Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências** 3 (2): 3-18.
- PÉRICO, E. & A.M. ARAÚJO. 1991. Suitability of host plants (Passifloraceae) and their acceptableness by *Heliconius erato* and *Dryas iulia* (Lepidoptera, Nymphalidae). **Evolución Biológica** 5: 59-74.
- REGINATTO, F. H.; C. KAUFFMANN; J. SCHRIPEMA; D. GUILLAUME; G. GOSMANN; E. P. SCHENKEL. 2001. Steroidal and Triterpenoidal Glucosides from *Passiflora alata*. **Journal of the Brazilian Chemistry Society** 12 (1): 32-36.
- RODRIGUES, D. & G.R.P. MOREIRA. 1999. Feeding preference of *Heliconius erato* (Lep.: Nymphalidae) in relation to leaf age and consequences for larval performance. **Journal of the Lepidopterists' Society** 53 (3): 108-113.
- RODRIGUES, D. & G.R.P. MOREIRA. 2002. Geographical variation in larval host-plant use by *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) and consequences for adult life history. **Brazilian Journal of Biology** 62 (2): 321-322.

- RODRIGUES, D. & G.R.P. MOREIRA. 2004. Seasonal variation in larval host plants and consequences for *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) adult body size. **Austral Ecology** 29 (4): 437-445.
- ROSENTHAL, G.A. & M.R. BERENBAUM. 1991. **Herbivores – their interactions with secondary plant metabolites**. San Diego, Academic Press, XII+493.
- SALL, J.; L. CREIGHTON & A. LEHMAN. 2007. **JMP® start statistics: a guide to statistics and data analysis using JMP®**. Cary, SAS Institute Inc, XII+607p.
- SILVA, A.K. 2008. **Interação de *Heliconius ethilla narcea* Godart (Lepidoptera, Nymphalidae, Heliconiinae) com passifloráceas ocorrentes no Rio Grande do Sul**. Dissertação de Mestrado em Biologia Animal, UFRGS. 51p.
- SILVEIRA, M.A.P.A. 2002. **Variação da dureza da folha em *Passiflora*, efeito no desgaste das mandíbulas de *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae) e conseqüências sobre a herbivoria**. Porto Alegre, Dissertação de Mestrado, Biologia Animal, UFRGS, VIII+44p.
- SLANSKY, F.JR. 1993. Nutritional ecology: the fundamental quest for nutrients. *In*: N.E. STAMP & T. CASEY (EDS.). **Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging**. New York, Chapman & Hall, XII+587p.
- SNODGRASS, R.E. 1935. **Principles of insect morphology**. New York, McGraw Hill Company, X+667p.
- ZALUCKI, M.P.; A.R. CLARKE & S.B. MALCOLM. 2002. Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. **Annual Review of Entomology** 47 (1): 361-393.

5. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo nos permitem concluir que folhas jovens de *Passiflora misera* Humbold, Bonpland & Hunth, *Passiflora suberosa* Linnaeus, *Passiflora caerulea* Linnaeus, *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora alata* Curtis apresentam similaridades relacionadas aos parâmetros físicos de dureza e espessura, tanto foliares como da nervura central. Há aumento progressivo destes parâmetros em relação ao aumento na idade da folha. Há, porém, um efeito significativo, intrínseco a cada espécie de planta, quando a variável idade da folha é removida das análises. Essa variação influencia no tipo e na freqüência do dano (corte do limbo, raspagem e corte da nervura central) causados pelas larvas de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) nessas hospedeiras, sendo a raspagem do limbo freqüentemente observada quando larvas de primeiro ínstar se alimentam em folhas velhas.

Ocorre um incremento na dureza das mandíbulas de *H. erato phyllis* de acordo com o desenvolvimento larval. A taxa de crescimento desse parâmetro é menos pronunciada em relação ao verificado para a largura da cápsula cefálica. No entanto, os dados sugerem que a planta hospedeira não influencia na taxa de crescimento correspondente.

Assim como a maioria dos insetos especialistas, larvas de *H. erato phyllis* empregam grande parte do tempo em repouso, independente da passiflorácea usada como hospedeira. Entretanto, quando criadas em *P. misera*, a planta preferida, desprendem menos tempo repousando e maior tempo à alimentação em detrimento às demais passifloráceas, provavelmente ocasionado por dois motivos, não necessariamente excludentes: 1) mecanismo de compensação à baixa qualidade nutricional, porém de maior consumo desta espécie e/ou 2) baixos valores dos parâmetros físicos de dureza e espessura foliar desta espécie.

As lagartas em *P. misera*, *P. suberosa*, *P. caerulea* e *P. edulis* realizam, em média, sete refeições num período de seis horas de duração. As refeições em *P. misera* são mais longas, seguida de *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. suberosa*, respectivamente, em intervalos de 48 min, em média. Ritmos de alimentação seguindo este modelo refletem, provavelmente, o tempo necessário para os processos de digestão e absorção do alimento, conforme já observado em outros insetos.

As larvas observadas em *P. alata* dedicam mais tempo repousando e menos tempo se alimentando. Realizam de uma a duas refeições com pequena duração em intervalos entre refeições superiores a uma hora. Tais discrepâncias no tempo destinado a todos os comportamentos das larvas em *P. alata* são devidas, provavelmente, a fatores químicos inerentes a esta passiflorácea, como o acúmulo de saponina, composto com propriedades deterrentes a artrópodos herbívoros. Fato este pode se relacionar ao número de refeições nesta espécie, que se limita, praticamente, a um ou dois eventos, precedidos por grande tempo em deslocamento e, seguido de longo período em imobilidade.

Em relação à ontogênese larval, as lagartas de *H. erato phyllis* tendem a dedicar menos tempo repousando e se deslocando e mais tempo à alimentação, nos instares finais, excetuando larvas observadas em *P. edulis* que empregam praticamente o mesmo tempo no repouso e na alimentação ao longo dos instares.

Lagartas de primeiro instar em folhas velhas de *P. suberosa* e *P. caerulea* usam maior tempo no deslocamento comparado a *P. misera*, onde ao contrário, o incremento na dureza é pequeno em relação à idade da folha. Dessa forma, a procura por um sítio alimentar favorável é de fundamental importância para esta fase do desenvolvimento. Fica assim evidenciado indiretamente pela alteração no comportamento alimentar que a dureza foliar pode se constituir em fator limitante aos instares iniciais.

APÊNDICE

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ORIENTAÇÕES GERAIS

ZOOLOGIA, periódico científico da Sociedade Brasileira de Zoologia (SBZ), publica artigos originais em Zoologia, de autoria de sócios e não-sócios da Sociedade. Membros da SBZ podem publicar sem taxas, no entanto, para não-sócios é requerido o pagamento de taxa por página publicada, conforme indicado em lista atualizada disponível na página eletrônica da Sociedade (<http://www.sbzoologia.org.br>).

Manuscritos devem ser preparados somente em inglês. A submissão de manuscritos para ZOOLOGIA está disponível somente através do endereço <http://submission.scielo.br/index.php/rbzool/index>. O sistema de submissão é amigável e permite aos autores monitorar o trâmite de publicação. Caso encontre alguma dificuldade para utilização do sistema, existem vários tutoriais no site da SBZ que o auxiliarão. Todos os documentos devem ser preparados através de programa um editor de textos (preferencialmente MS Word ou compatível).

ZOOLOGIA não publicará notas simples de ocorrência, novos registros (e.g. geográfico, hospedeiro), nota de distribuição, estudos de caso, lista de espécies e estudos similares meramente descritivos, a não ser que bem justificados pelos autores. Justificativas devem ser enviadas ao Editor-Chefe antes da submissão.

RESPONSABILIDADE

Manuscritos são recebidos por ZOOLOGIA com o entendimento que:

- todos os autores aprovaram a submissão;
- os resultados ou idéias contidas são originais;
- o manuscrito não foi publicado anteriormente, não está sendo considerado para publicação por outra revista e não será enviado a outra revista, a menos que tenha sido rejeitado por ZOOLOGIA ou retirado do processo editorial por notificação por escrito do Editor-Chefe;
- foram preparados de acordo com estas Instruções aos Autores;
- se aceito para publicação e publicado, o artigo ou parte deste, não será publicado em outro lugar a menos que haja consentimento por escrito do Editor-Chefe;
- a reprodução e uso de artigos publicados em ZOOLOGIA é permitido para comprovados fins educacionais e não-comerciais. Todos os demais usos requerem consentimento e taxas serão aplicadas quando apropriado; - os custos para publicação por páginas e de revisão de texto são aceitos pelos autores;
- os autores são inteiramente responsáveis pelo conteúdo científico e gramatical do artigo;
- os autores concordam com possíveis taxas adicionais associadas à revisão de língua inglesa, se considerada necessária.

FORMAS DE PUBLICAÇÃO

Artigos: artigos originais em todas as áreas da Zoologia.

Comunicações Breves: esta forma de publicação representa sucinta e definitiva informação (opondo-se a resultados preliminares) que não proporcione sua inclusão em um tópico, mais abrangente artigo. Uma técnica nova ou modificada pode ser

apresentada com uma nota de pesquisa somente se a técnica não utilizada em estudos em andamento. Geralmente, técnicas são incorporadas na seção Material e Métodos de um artigo formal.

Artigos de Revisão: somente são publicadas revisões sob convite. Revisões não solicitadas não devem ser submetidas, no entanto, tópicos podem ser sugeridos ao editor ou membros do corpo editorial.

Opinião: cartas ao editor, comentários sobre outras publicações ou opiniões, visões gerais e outros textos que caracterizem-se como opinião de um ou um grupo de cientistas.

Resenha de Livros: livros que possuam amplo interesse para os membros da Sociedade serão resenhados sob convite.

Biografias Curtas: biografia de importantes zoólogos com significativa contribuição para o conhecimento da Zoologia.

MANUSCRITOS

O texto de ser justificado à esquerda e páginas e linhas devem ser numeradas. Utilize fonte Times New Roman tamanho 12. A primeira página deve incluir: 1) o título do artigo incluindo o nome(s) da(s) maior(es) categoria(s) taxonômica(s) do(s) animal(ais) tratado(s); 2) o nome(s) do(s) autor(es) com sua afiliação profissional, somente com o propósito de correspondências, afiliações adicionais devem ser incluídas na seção Agradecimentos; 3) nome do autor correspondente com endereço completo para correspondência, incluindo e-mail; 4) um resumo em inglês; 5) até cinco palavras-chave em inglês, listadas em ordem alfabética e diferentes daquelas utilizadas no título. A informação total dos itens 1 a 5 não devem exceder 3,500 caracteres incluindo espaços, exceto se autorizado pelo Editor-Chefe.

Citações bibliográficas devem ser digitadas em caixa alta reduzida (versalete), como indicado: SMITH (1990), (SMITH 1990), SMITH (1990: 128), SMITH (1990, 1995), LENT & JURBERG (1965), GUIMARÃES *et al.* (1983). Artigos de um mesmo autor ou seqüências de citações devem ser em ordem cronológica.

Somente nomes de gêneros e espécies devem ser digitados em itálico. A primeira citação de um táxon animal ou vegetal deve ser acompanhado pelo nome do autor, data (de plantas se possível) e família, seguindo a padronização determinada pelo Código Internacional de Nomenclatura Zoológica.

O manuscrito de artigos científicos deve ser organizado como indicado abaixo. Outras seções e subdivisões são possíveis mas o Editor-Chefe e Corpo Editorial deverão aceitar o esquema proposto.

ARTIGOS E REVISÕES SOLICITADAS

Título. Evite verbosidades tais como "estudos preliminares sobre...", "aspectos de..." e "biologia ou ecologia de...". No título, não utilize citações de autor e data em nomes científicos. Quando nomes de táxons forem mencionados no título, deverão ser seguidos pela indicação de categorias superiores entre parênteses.

Resumo. O resumo deve ser relativo aos fatos (contrapondo-se a indicativo) e deve delinear os objetivos, métodos usados, conclusões e significância do estudo. O texto do resumo não deve ser subdividido nem conter citações bibliográficas (exceções serão analisadas pelos editores). deve constituir-se em um único parágrafo.

Palavras-chave. Utilizar até cinco palavras-chave em inglês, dispostas em ordem alfabética, diferentes daquelas contidas no título e devem ser separadas por ponto e vírgula. Evite o uso de expressões compostas.

Introdução. A introdução deve estabelecer o contexto do documento expressando a área de interesse geral, apresentando resultados de outros que serão contestados ou expandidos e descrevendo a questão específica a ser abordada. Explicações de trabalho anterior devem ser limitadas ao mínimo de elementos necessários para dar uma perspectiva adequada. A introdução não deve ser subdividida.

Material e Métodos. Esta seção deve ser curta e concisa. Deve fornecer informação suficiente que permita a repetição do estudo por outros. Técnicas padronizadas ou previamente publicadas podem ser referenciadas, mas não detalhadas. Se a seção Material e Métodos for curta, não deve ser subdividida. Evite extensiva divisão em parágrafos.

Resultados. Esta seção deve restringir-se concisamente sobre novas informações. Tabelas e figuras devem ser utilizados apropriadamente, mas as informações apresentadas nelas não devem ser repetidas no texto. Evite detalhamento de métodos e interpretação dos resultados nesta seção.

Trabalhos taxonômicos têm um estilo distinto que deve ser considerado na elaboração do manuscrito. Em artigos taxonômicos a seção Resultados é substituída pela seção denominada TAXONOMIA, iniciando na margem esquerda. A descrição ou redescricao de espécies é acompanhada por um resumo taxonômico. A seção **resumo taxonômico** compreende uma lista de sítios, localidade e espécimes depositados (com os respectivos números de depósito em coleções científicas). A citação apropriada segue a seqüência e o formato: País, *Província* ou *Estado*: Cidade ou Região (localidades menores, redondezas e outros, latitude, longitude, todos entre parênteses), número de espécimes, sexo (se aplicável), data de coleta, coletor seguido pela palavra *leg.*, número de coleção. Este é um padrão geral que pode ser adaptado para diferentes situações e grupos. Inúmeros exemplos podem ser encontrados em fascículos anteriores de ZOOLOGIA. O resumo taxonômico é seguido pela seção comentários (Comentários). Os comentários substituem a discussão de outros tipos de artigos e fornecem comparações com taxa similares. São exigidos números de registro em coleções científicas para material-tipo (novos taxa) e para espécimes testemunha. Espécimes tipo, especialmente holótipos (síntipos, cótipos), não devem ser depositados em coleções particulares. Material fotográfico adequado deve ser depositado, se necessário. Para tecidos congelados também deve ser informado números de registro se depositados em um museu.

Discussão. Interpretação e explanação da relação entre resultados obtidos e o conhecimento atual deve existir na seção Discussão. Deve ser dada ênfase sobre novos achados importantes. Novas hipóteses devem ser claramente identificadas. Conclusões devem ser suportadas por fatos ou dados. Subdivisões são possíveis. Uma seção Conclusão não é permitida em Zoologia.

Agradecimentos. Devem ser concisos. A ética requer que colegas sejam consultados antes que seus nomes sejam citados pelo seu auxílio no estudo.

Literatura Citada. Citações são ordenadas alfabeticamente. Todas as referências citadas no texto devem ser incluídas na seção Literatura Citada e todos os itens nesta seção devem ser citados no texto. Citação de estudos não publicados ou relatórios

os não são permitidas. Volume e número de páginas devem estar disponíveis para periódicos. Cidade, editora e paginação total para livros. Resumos não sujeitos ao processo de avaliação por pares não devem ser citados. Trabalhos podem ser citados excepcionalmente como "no prelo" somente até o estágio de revisão de texto, quando a referência deverá ser completada ou suprimida caso não ainda tenha sido publicada. Se absolutamente necessário, um relato pode ser documentado no texto do manuscrito como "pers. comm.", alertando a pessoa citada que sua comunicação pessoal será transcrita em seu artigo. Comunicações pessoais não deverão ser incluídas na seção Literatura Citada. As referências citadas no texto devem ser listadas no final do manuscrito, de acordo com os exemplos abaixo. O título de cada periódico deve ser completo e sem abreviações.

Periódicos

Sempre que disponível, inclua o DOI (Digital Object Identifier) como demonstrado abaixo.

GUEDES, D.; R.J. YOUNG & K.B. STRIER. 2008. Energetic costs of reproduction in female northern muriquis, *Brachyteles hypoxanthus* (Primates: Platyrrhini: Atelidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 25 (4): 587-593. doi: 10.1590/S0101-81752008000400002.

LENT, H. & J. JURBERG. 1980. Comentários sobre a genitália externa masculina em *Triatoma Laporte*, 1832 (Hemiptera, Reduviidae). *Revista Brasileira de Biologia* 40 (3): 611-627.

SMITH, D.R. 1990. A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphita) of America South of the United States: Pergidae. *Revista Brasileira de Entomologia* 34 (1): 7-200.

Livros

HENNIG, W. 1981. *Insect phylogeny*. Chichester, John Wiley, XX+514p.

Capítulo de livros

HULL, D.L. 1974. Darwinism and historiography, p. 388-402. In: T.F. GLICK (Ed.). *The comparative reception of Darwinism*. Austin, University of Texas, IV+505p.

Fontes eletrônicas

MARINONI, L. 1997. *Sciomyzidae*. In: A. SOLIS (Ed.). *Las Familias de insectos de Costa Rica*. Available online at: <http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/texto630.html> [Accessed: date of access].

Ilustrações. Fotografias, desenhos, gráficos e mapas devem ser designados como figuras. Fotos devem ser nítidas e possuir bom contraste. Por favor, sempre que possível, organize os desenhos (incluindo gráficos, se for o caso) como pranchas de figuras ou fotos, considerando o tamanho da página da revista. O tamanho de uma ilustração, se necessário, deve ser indicado utilizando-se barras de escala verticais ou horizontais (nunca utilize aumento na legenda). Cada figura deve ser numerada com algarismos arábicos no canto inferior direito. Ao preparar as ilustrações, os autores devem ter em mente que o tamanho do espelho da revista é de 17,0 por 21,0 cm e da coluna é de 8,3 por 21,0 cm, devendo ser reservado espaço para legendas e também devendo haver proporcionalidade a estas dimensões. Figuras devem ser citadas no texto em seqüência numeral. Para propósitos de revisão, todas as figuras devem ser inseridas no final do texto, após a seção Literatura Citada ou após as tabelas caso existam. Os autores devem estar cientes

que, se aceito para publicação em ZOOLOGIA, todas as figuras e gráficos deverão ser enviados ao editor com qualidade adequada (ver abaixo). Ilustrações devem ser salvas em formato TIF com modo de compressão LZW e enviados arquivos separados. A resolução final é de 600 dpi para ilustrações em preto e branco e de 300 dpi para as coloridas. Os arquivos de ilustrações devem ser inseridos no sistema de submissão como arquivos suplementares. O upload é limitado a 10 MB por arquivo. Figuras coloridas podem ser publicadas desde que o custo adicional seja assumido pelos autores. Alternativamente, os autores podem escolher por publicar ilustrações em preto e branco na versão impressa da revista e mantê-las em cores na versão eletrônica sem custo adicional. Independentemente da escolha, estas figuras devem ser incorporadas, em baixa resolução mas com boa qualidade, diretamente no manuscrito somente para os fins de revisão. Cada figura ou conjunto de figuras sob a mesma legenda (prancha), deve ser incluída no final do manuscrito, em páginas separadas. Legendas das figuras devem ser posicionadas logo após a seção Literatura Citada. Use parágrafos separados para cada legenda de figura ou grupo de figuras. Observe publicações anteriores e siga o padrão adotado para legendas.

Tabelas. Tabelas devem ser geradas pela função de tabelas do processador de texto utilizado, são numeradas com algarismos romanos e devem ser inseridas após a lista de legendas de figuras. Não utilize marcas de parágrafo no interior das células da tabela. Legendas devem ser inseridas imediatamente antes de cada tabela.

COMUNICAÇÕES BREVES

Manuscritos devem ser organizados de maneira similar aos artigos originais com as seguintes modificações.

Texto. O texto de um nota científica (i.e. Introdução + Material e Métodos + Discussão) é escrito diretamente, sem divisão em seções. Agradecimentos podem ser fornecidos, sem cabeçalho, como o último parágrafo do texto. A literatura deve ser citada no texto como descrito para artigos.

Literatura Citada, legendas de figuras, tabelas e figuras. Estes itens seguem a forma e seqüência descrita para artigos.

OPINIÃO

Título. Basta fornecer um título para a opinião.

Text. Deve ser conciso, objetivo e sem figuras (a menos que seja absolutamente necessário).

Nome e endereço do autor. Esta informação segue o texto ou a seção Literatura Citada, caso esta exista. O nome do revisor deve estar em negrito.

RESENHAS DE LIVROS

Título. Fornecer o título do livro como indicado abaixo:

Toxoplasmosis of Animals and Man, by J.P. DUBEY & C.P. BEATTIE, 1988. Boca Raton, CRC Press, 220p.

As palavras "edited by" são substituídas por "by" quando apropriado.

Texto. O texto geralmente não é subdividido. Caso seja necessário citar literatura, a seção Literatura Citada deverá ser incluída e seguir o mesmo estilo adotado para artigos. Figuras e tabelas não devem ser utilizadas.

Nome e endereço do autor. Esta informação segue o texto ou a seção literatura citada, caso presente. O nome do revisor deve ser digitado em negrito.

BIOGRAFIAS

Título. O título inicia-se com o nome da pessoa cuja biografia está sendo escrita, em negrito, seguido pela data de aniversário ou morte (se for o caso), entre parênteses. Por exemplo: **Lauro Travassos (1890-1970)**

Texto. O texto usualmente não é subdividido. Caso seja necessário citar literatura, a seção Literatura Citada deverá ser incluída e seguir o mesmo estilo adotado para artigos. Figuras e tabelas não devem ser utilizadas.

Nome e endereço do autor. Esta informação segue o texto ou a seção literatura citada, caso presente. O nome do revisor deve ser digitado em negrito.

PRECEDIMENTOS

Manuscritos submetidos à ZOOLOGIA serão inicialmente avaliados pelos editores Chefe e Assistente quanto a adequação e para determinação da área específica. Um primeira avaliação da língua inglesa é efetuada neste momento. Manuscritos com problemas serão retornados aos autores. Uma vez que a área específica seja determinada/confirmada, o manuscrito é enviado, pelo Editor-Chefe, ao Editor de Seção apropriado. O Editor de Seção encaminha o manuscrito para os Revisores, no mínimo dois. Cópias do manuscrito com os comentários dos revisores e a decisão do Editor de Seção, serão retornados para o Autor correspondente para avaliação. Os autores terão até 30 dias para responder ou cumprir a revisão e retornar a versão revisada do manuscrito para a seção adequada no sistema eletrônico de submissão. Uma vez aprovado, o manuscrito original, os comentários dos revisores, os comentários do Editor de Seção, juntamente com a versão corrigida e os respectivos arquivos de figuras, devidamente identificados, são retornados ao Editor-Chefe. Excepcionalmente, o Editor-Chefe pode, após consulta aos editores de seção, modificar a recomendação dos Revisores e Editor de Seção, com base em justificativa adequada. Alterações *a posteriori* ou adições poderão ser recusadas. Uma versão de revisão do manuscrito será enviada aos autores para apreciação final. Este representa o último momento para alterações substanciais, desde que devidamente justificadas. A próxima etapa é restrita a correções tipográficas e de formatação. Provas eletrônicas serão submetidas ao Autor correspondente para apreciação antes da publicação.

SEPARATAS

O Autor correspondente receberá arquivo eletrônico (no formato PDF) do artigo após sua publicação. Autores poderão imprimir o arquivo e distribuir cópias impressas de seu artigo conforme sua necessidade. Autores também poderão distribuir eletronicamente o arquivo para terceiros, da mesma maneira. Entretanto, solicitamos que os arquivos PDF não sejam distribuídos através de grupos de discussão ou sistemas de envio de mensagens em massa (não faça SPAM). É importante para a revista ZOOLOGIA que os usuários visitem a página eletrônica do periódico na Scientific Electronic Library Online (SciELO) e acessem os artigos publicados para fins estatísticos. Atuando desta maneira, você estará auxiliando o incremento dos índices de qualidade de ZOOLOGIA.

ESPÉCIMES TESTEMUNHA E TIPOS

Os manuscritos devem informar os museus ou instituições onde os espécimes (tipos ou testemunha) estão depositados e seus respectivos números de depósito.