



VANESSA WILLEMS SCALCO

BIOLOGIA POPULACIONAL E USO DE PLANTA HOSPEDEIRA EM *BATTUS POLYDAMAS POLYDAMAS* E *BATTUS POLYSTICTUS POLYSTICTUS* (TROIDINI, PAPILIONIDAE)

Dissertação 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 Mestre em Biologia Animal.

Área de concentração: Biodiversidade
Orientador: Dr. Nicolás Oliveira Mega
Co-orientadora: Dra. Ana Beatriz Barros de Moraes

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PORTO ALEGRE
2014**

**BIOLOGIA POPULACIONAL E USO DE PLANTA HOSPEDEIRA EM *BATTUS*
POLYDAMAS POLYDAMAS E *BATTUS POLYSTICTUS POLYSTICTUS* (TROIDINI,
PAPILIONIDAE)**

VANESSA WILLEMS SCALCO

Aprovada em ____ de _____ de 2014.

Dr. Milton de Souza Mendonça Jr.

Dr. André Victor Lucci Freitas

Dra. Daniela Rodrigues

“O futuro pertence aqueles que acreditam na beleza dos seus sonhos”

Eleanor Roosevelt



Aos que não puderam acompanhar minha trajetória fisicamente.

Aos que me apoiaram pessoalmente.

Ao grande cara da minha vida, Thiago Monteiro.

Dedico esta vitória a vocês.

Com carinho,

Vanessa Scalco.

AGRADECIMENTOS

Sempre me disseram que mestrado é muito curto e passa muito rápido, e eu não acreditava. Hoje, após dois anos de estudos, percebi de que o tempo voa, principalmente na carreira acadêmica. Neste período muitas coisas aconteceram. Muitos sentimentos floresceram, outros desapareceram, e agora estou convicta de que a cada dia ficamos sujeitos a passar por novas experiências. E foram assim estes últimos dois anos de estudos. De março de 2012 até este instante, muitas coisas aconteceram e tudo só foi possível com a ajuda de muitas pessoas. Então não poderia deixar de registrar o meu profundo agradecimento a todos que, direta ou indiretamente, estiveram comigo nesta etapa da minha vida.

Começo esta seção agradecendo ao meu orientador, por estar sempre presente em “assembleia permanente” e disponível para esclarecer minhas dúvidas. Além do Nico me apresentar o mundo do conhecimento sobre as borboletas, me apresentou uma forma nova de trabalhar a qual tive que me adaptar. Uma maneira pontual, correta e de muita responsabilidade. Obrigada por todas as conversas incentivadoras, não me permitindo desistir de nenhum objetivo proposto inicialmente e, fundamentalmente, sempre me transmitir conforto e segurança. Jamais vou esquecer-me das pérolas do Nico, entre elas, “quem mandou estudar?”. Só posso dizer muito obrigada, Nico!

Agradeço a minha co-orientadora, Ana Beatriz, pelas sábias palavras de incentivo. Suas contribuições ao trabalho e as dicas sobre os papilios, que foram muito valiosas!

À professora Helena, agradeço por abrir as portas do Laboratório de Ecologia de Insetos e por me mostrar que é possível transformar nossos sonhos em realidade, desde que tenhamos gosto pelo o que fazemos. Sua postura como pesquisadora e cidadã, que vai em busca dos seus ideais, é admirável. Obrigada, Helena, por me permitir fazer parte do LEI e entrar no lindo mundo das borboletas, o qual eu sempre almejei.

Um agradecimento carinhoso aos colegas e ex-colegas do LEI, Andressinha, Alexsandra, Diego, Fabi, Guilherme, Lika, Lúcio, Ricardo, Osti, Vanessa Pedrotti (minha chará), os quais foram peças fundamentais para a execução deste trabalho. Obrigada pelas diversas saídas a campo, ajuda com as criações, festinhas e muita descontração. As conversas, os incentivos, as trocas de idéias, principalmente com as

meninas, sempre me fizeram enxergar que tudo vale a pena. Em especial a Lidi, minha parceira! Desde que começamos o mestrado a nossa parceria se tornou em uma amizade muito forte e legal. Ajudantes de campo, atuamos mutuamente. Aproveitamos a “melhor parte do mestrado” juntas. Sentirei muita saudade do que passamos. Alegrias, tristezas e angústias, mas enfim, conseguimos! Valeu, Lidi! Também não poderia deixar de registrar o meu agradecimento para a Melissa, a pessoa que me contagiou com sua paixão pelas borboletas a muito tempo atrás (lá na Ulbra) e me recebeu de braços abertos na minha chegada ao LEI. Obrigada por sua parceria e amizade Mel!

Ao Cristiano Iserhard, com suas rápidas passagens por Porto Alegre, que sempre nos transmite a sua paixão pelas borboletas, pela profissão, e o seu inesgotável senso de humor.

Ao Onildo Marini, por se dedicar para fazer acontecer a Redelep ao longo destes últimos anos e a sua atenção dispensada no início do mestrado para que eu conseguisse a bolsa de estudos da Redelep, sem a qual seria difícil continuar o meu tão sonhado estudo com borboletas.

Ao seu Eri Bernardes e seus funcionários (Agostinho, Nataniel), por permitir o acesso à propriedade e incentivar meu estudo com as borboletas.

Aos meus amigos e amigas, obrigada pela compreensão com as minhas ausências. Em especial às marrecas, Cláudia, Fabi, Nathi e Halina, por todo o auxílio a muitos campos, parceria e muitas conversas sobre o mestrado, vida profissional e pessoal, além dos momentos de *relax*, os quais foram necessários para continuar com mais e mais vontade.

À minha família Scalco, em especial aos meus pais, por sempre me apoiar nas minhas decisões, torcer por minhas vitórias e por me confortar nas horas mais necessárias. Amo vocês!

À minha família Monteiro, por toda preocupação e apoio ao longo destes últimos anos. Não poderia deixar de registrar a minha profunda gratidão à minha sogra, Virgínia. Uma das pessoas mais incentivadoras para que eu concluísse esta dissertação. Talvez por partilharmos muitos gostos em comuns (entre eles a profissão), se manteve ao meu lado me orientando com suas palavras certas e nas horas mais apropriadas. Obrigada por me passar muita força e energia positiva sempre. Te amo!

Em especial, dedico este trabalho a uma pessoa muito importante, pessoa esta que foi responsável por me fazer enxergar que todo o esforço é válido quando fazemos algo com o coração. Nossos destinos se cruzaram e não foi por um mero acaso, foi porque havíamos de ter muitas coisas para passar e superar juntos. Então, Thiago, te agradeço com as palavras mais sinceras, do fundo do meu coração, por ser este meu amor, meu parceiro, amigo e companheiro. Obrigada pela compreensão com as minhas ausências e abdições, tu fostes nota 10, sempre! Te amo com todas as minhas forças.

Por fim, agradeço aos seres mais incríveis e encantadores deste planeta, às borboletas que, com suas diversas cores e formas, me transmitem sempre muita paz e energia na vida.



SUMÁRIO

Resumo.....	ix
1. Introdução	10
1.1 Apresentação	10
1.2. Biologia populacional	10
1.3. Papilionidae	13
1.4. Gênero <i>Battus</i>	14
1.5. Família Aristolochiaceae	16
1.6. Interações inseto-planta	17
1.7. Referências bibliográficas	20
2. Objetivos	29
2.1. Objetivo geral	29
2.2. Objetivos específicos	29
3. Artigo 1 - Natural history and population biology of the swallowtail butterfly <i>Battus polystictus polystictus</i> (Lepidoptera: Papilionidae: Troidini) ..	31
Abstract	32
Introduction	33
Material and Methods	34
Study site	34
Sampling and parameters analyzed	34
Natural history and behavior	36
Results	36
Discussion	40
Acknowledgements	46
References	46
Figures	53
Tables	58
4. Artigo 2 - Adaptações ecológicas em <i>Battus polydamas</i> e <i>Battus polystictus</i> (Lepidoptera, Papilionidae, Troinidi): evidências de dinâmicas populacionais, seleção de habitat e histórias de vida	60
Resumo	61
Introdução	62
Material e Métodos	65
Áreas de estudo	65
Amostragens das borboletas	66

Estimativas dos parâmetros populacionais	66
Plantas hospedeiras presentes nas áreas de estudo	67
Testes de desempenho larval em diferentes plantas hospedeiras.....	67
Análises estatísticas	68
Resultados	68
Discussão	72
Considerações finais	78
Agradecimentos	79
Referências bibliográficas	79
Figuras	88
Tabelas	95
5. Resultados gerais	97
6. Considerações finais	99
Referências Bibliográficas.....	101
7. Anexos	103

RESUMO

Estudos sobre a diversidade e estrutura de populações em ambientes naturais, tanto preservados e como impactados, são importantes ferramentas para programas de conservação ambiental. Nesse sentido, pesquisas com foco em estudos populacionais de borboletas têm sido amplamente utilizadas para o aperfeiçoamento do conhecimento sobre a biologia e ecologia das espécies. Duas espécies do gênero *Battus* são encontradas no sul do Brasil: *Battus polystictus* e *Battus polydamas*. Apesar destas borboletas utilizarem como hospedeiras somente plantas do gênero *Aristolochia*, e de serem filogeneticamente muito próximas, ambas espécies apresentam hábitos ecológicos bastante distintos. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a dinâmica das populações de *B. polydamas* e *B. polystictus* ao longo de um ciclo anual, relacionando os padrões observados com a variação nos requerimentos ecológicos das espécies em função das condições climáticas, disponibilidade de recursos alimentares e de desempenho larval em diferentes plantas hospedeiras. As populações foram analisadas através de marcação-recaptura para estimar os padrões populacionais. As borboletas foram capturadas com rede entomológica, marcadas, analisadas e soltas no mesmo local de captura. Em laboratório, os testes de preferência alimentar e desempenho foram realizados em condições controladas de temperatura (25°C) e fotoperíodo (16L:8E), nos seguintes tratamentos: *Battus polydamas* x *A.triangularis* (n=60); *Battus polydamas* x *A.sessilifolia* (n=60); *Battus polystictus* x *A.triangularis* (n=15); *Battus polystictus* x *A.sessilifolia* (n=15). Os resultados deste trabalho mostraram que *B. polydamas* e *B. polystictus* têm requerimentos ecológicos diferentes, sendo a primeira mais tolerante a alterações ambientais. As populações das duas espécies de *Battus* não foram constantes no tempo, havendo variações estruturais e de densidade ao longo do ano. Os experimentos em laboratório mostraram que ambas as espécies de borboletas aceitam e podem se desenvolver nas plantas testadas, porém com desempenhos diferentes. Enquanto *B. polydamas* utiliza as hospedeiras de maneira equivalente, *B. polystictus* tem melhor desempenho em *A. triangularis*. De modo geral, os resultados obtidos sugerem que as dinâmicas das populações para ambas as espécies são influenciados principalmente pela estruturação ambiental dos habitats e pela disponibilidade de plantas hospedeiras. Os dados também sugerem que, quando em sintopia, ambas as espécies utilizem de maneira diferencial os recursos larvais disponíveis..

1. INTRODUÇÃO

1.1. Apresentação

A apresentação desta dissertação foi conduzida na forma de artigos conforme a resolução nº 23/2009, artigo 43, parágrafo único do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRGS. Este documento foi dividido em um primeiro capítulo introdutório, contendo os principais temas abordados e os objetivos pretendidos com a pesquisa. A seguir, são apresentados os dois manuscritos produzidos. Por fim estão apresentadas um breve resumo dos resultados principais, as considerações finais, referências bibliográficas e anexos. Nesta última seção poderão ser encontrados detalhes que auxiliarão o leitor a entender melhor este trabalho.

O artigo I apresenta um estudo sobre a biologia populacional de *Battus polystictus polystictus*, analisando os principais parâmetros populacionais da espécie, tais como tamanho populacional, sua proporção sexual e distribuição etária ao longo de um ciclo anual. Além disso, são analisados, também, a longevidade dos indivíduos, a ocupação do habitat e a movimentação dos indivíduos.

O artigo II discute algumas semelhanças e diferenças das biologias populacionais de *Battus polystictus polystictus* e *Battus polydamas polydamas* em ambientes distintos. Neste artigo, também, são discutidos os resultados de alguns testes de preferência alimentar conduzidos em laboratório, que procuram examinar como ocorre o desempenho larval das duas espécies em duas plantas hospedeiras distintas.

A maneira como os autores são citados no texto de cada um dos artigos, bem como a lista de referências bibliográficas, seguem as normas de submissão de revistas científicas diferentes, as quais se encontram anexadas ao final deste trabalho.

1.2. Biologia populacional

O conceito de população biológica é um assunto tratado com ampla discussão entre autores, apresentando diversas definições principalmente em função dos limites geográficos considerados uma população (Solomon 1980; Begon *et al.* 2007, Magnusson 2013). Ainda que existam diversos conceitos na literatura científica, dois modelos são comumente evocados para estimar os parâmetros biológicos de uma população: modelos abertos e fechados. Em uma população fechada, admite-se que durante ou entre os períodos de amostragem as imigrações ou emigrações dos

indivíduos com outras populações não ocorrem (White *et al.* 1982). Alguns autores dividem as populações fechadas em (1) geográficas definidas, que são limitadas fisicamente por uma barreira ou unidades isoladas geograficamente (White *et al.* 1982), ou (2) temporalmente definidas, restringidas por ciclos sazonais e ciclos de longa duração. Já em uma população aberta apenas os aspectos demográficos são considerados, ou seja, os indivíduos podem imigrar ou emigrar, ou ainda ocorrer os dois processos simultaneamente em uma determinada área geográfica. A partir destas premissas, diversos métodos estão disponíveis para estimar do tamanho de uma população (ver Francini 2010).

Embora ainda exista muita controvérsia de opiniões sobre a importância e finalidade de um conceito único global que defina uma população biológica, aqui se optou por seguir as idéias de Prado & El-Nani (2013), os quais acreditam que os conceitos são úteis para que o pesquisador possa definir e situar sua pesquisa sobre um determinado sistema. Nesse sentido, quando nos referimos às populações estudadas, estamos interessado em estudar o grupo de indivíduos que interagem entre si, ocorrendo numa mesma área e num determinado espaço de tempo (Rockwood 2006).

Para se entender como a dinâmica de populações funciona, bem como para determinar as suas estruturas, os estudos vêm sendo focados para se compreender as variações sazonais sob a densidade dos organismos, as taxas de sobrevivência, a maneira como estão distribuídos espacialmente e também como eles se movimentam. Sendo assim, estudos populacionais se prestam a responder questões referentes às variações demográficas de uma população e os fatores que às influenciam (Solomon 1980). Esses fatores podem ser bióticos ou abióticos, além de serem dependentes ou independentes da densidade populacional. No caso de organismos ectotérmicos, como insetos terrestres, geralmente variações populacionais periódicas podem ser explicadas por fatores climáticos, que agem direta ou indiretamente nas populações (Wolda 1988). Já as flutuações na abundância de indivíduos frequentemente estão associadas ao tipo de vegetação, principalmente à disponibilidade e densidade de fontes alimentares (Blair & Launder 1997; Bergman *et al.* 2008).

Levando em conta a diversidade dos grupos, sua história evolutiva, a existência de distintos hábitos e preferências ecológicas, algumas características básicas sobre a biologia das espécies são importantes de serem entendidas no contexto de um estudo

populacional. Em geral, os dados sobre a estrutura e a dinâmica de populações, gerados através de observações de longas durações em campo, são úteis para o entendimento dos ciclos anuais das populações. Estes ciclos naturais permitem que os ecossistemas possam ser melhores entendidos, o que pode constituir uma importante ferramenta nas tentativas de redução de perdas da biodiversidade (Vasconcellos-Neto 1980).

Estudos populacionais com borboletas vêm sendo considerados importantes ferramentas para o entendimento de algumas questões ecológicas ligadas à ocorrência e distribuição de espécies, já que podem gerar informações relevantes acerca da biologia das mesmas em um rápido período de tempo (Freitas & Ramos 2001). As borboletas são muito utilizadas em estudos de ecologia de populações, pois são fáceis de capturar, marcar e recapturar (Erlich 1984). Com isso, permitem que sejam facilmente estimadas as taxas de dispersão e migração, possibilitam analisar padrões polimórficos e polifênicos, além de serem excelentes organismos para estudos sobre adaptações biológicas.

Apesar das facilidades experimentais, estudos populacionais de longo prazo, com tempo de monitoramento superior a dois anos, ainda são escassos com borboletas neotropicais (Tyler *et al.* 1994), sendo que a maior parte dos trabalhos disponíveis avaliam somente as populações ao longo de um ciclo anual. Com relação a estudos populacionais com espécies de Papilionidae no Brasil, poucos trabalhos vêm sendo desenvolvidos, seja em ambientes urbanos ou naturais (Brown Jr. *et al.* 1981; Otero & Brown Jr. 1986; Freitas & Ramos 2001; Paim & Di Mare 2002; Beirão *et al.* 2012; Herkenhoff *et al.* 2013).

Devido à importância de se conhecer o tamanho populacional de uma espécie em determinada localidade, algumas técnicas foram desenvolvidas para determinar a quantidade de indivíduos residentes em uma população (Erlich & Davidson 1960). Como a grande maioria dos animais possuem vagilidade, alguns podendo dispersar centenas ou milhares de quilômetros, dificilmente é possível realizar um censo populacional completo. Portanto, o método de Captura-Marcação-Liberação-Recaptura (CMLR) é considerado o sistema mais efetivo e simples para se realizar estimativas de parâmetros populacionais (Ricklefs 2009). Apesar da padronização do método depender do objeto de estudo, geralmente são empregadas técnicas de CMLR com sucesso em diversos grupos de animais.

A técnica de CMLR exige grandes esforços de campo para capturar os indivíduos, marcá-los e liberá-los novamente, seguido de diversas amostragens sucessivas que visam recapturar os indivíduos marcados (Begon 1979; Blower *et al.* 1981). A CMLR é extremamente poderosa como ferramenta analítica, pois através das marcas é possível identificar cada um dos indivíduos de uma população (Erlich & Davidson 1960; Blower *et al.* 1981).

Os principais parâmetros estimados por esses métodos são: o tamanho, ou densidade populacional, as taxas de ganho, perda e diluição, o número de novos animais e o total recrutado durante uma geração. Além disso, com os dados de CMLR podem ser realizadas estimativas sobre a longevidade de cada indivíduo recapturado, determinando a estrutura etária de uma população. Adicionalmente, ainda é possível estimar a área de vida dos indivíduos recapturados ao longo do tempo de estudo (Solomon 1980; Francini 2010).

1.3. Papilionidae

A família Papilionidae possui distribuição cosmopolita, sendo composta por 551 espécies de borboletas na região Neotropical (Haüser 2005). Essas espécies são classificadas em três subfamílias: Baroniinae, Parnassiinae e Papilioninae, sendo esta última a maior e mais diversificada (Scriber 1995). No Brasil são registradas 69 espécies da subfamília Papilioninae e estas são divididas em três tribos: Troidini, Graphini e Papilionini (Weintraub 1995). De acordo com Teston & Corseuil (1998), no Rio Grande do Sul ocorrem 37 representantes da subfamília Papilioninae (considerando todas as subespécies como táxons distintos).

A tribo Troidini Talbot, 1939 é composta por 130 espécies divididas em 12 gêneros (Haüser 2005), sendo representada por três gêneros no Brasil: *Battus* Scopoli, 1777 (cinco espécies), *Euryades* Felder & Felder, 1864 (duas espécies) e *Parides* Hübner, 1819 (22 espécies) (ver Tyler *et al.* 1994). A tribo Troidini é reconhecida como um grupo natural, principalmente devido à morfologia bastante homogênea das suas larvas e pupas (Miller 1987). As formas larvais apresentam uma característica sinapomórfica, o osmetério, uma estrutura eversível localizada na cabeça dos imaturos que é acionada para a defesa dos indivíduos (Reed e Sperling 2006). As borboletas adultas desta tribo voam lentamente e apresentam marcas vermelhas ou amarelas em

suas asas e corpos (Brown Jr. *et al.*1981). Atualmente, as borboletas da tribo Troidini apresentam um grande número de espécies na Lista Brasileira de Animais em Extinção (Machado *et al.* 2008), em parte devido a sua exigência por habitats preservados e/ou semi-preservados, sendo encontradas nas bordas ou interiores de florestas úmidas e próximas a córregos de água (Núñez-Bustos 2010).

Em nível mundial, os papilionídeos vêm sendo estudados com grande intensidade desde a década de 70 (Cook *et al.* 1971; Young *et al.* 1971,1972,1973; Rausher & Feeny 1980; Brown Jr. *et al.* 1981; Young *et al.*1986; Scriber & Feeny 1979; Scriber 1984, 1986, 1995; Scriber & Ordning 2005; Scriber *et al.* 1998, 2008, 2014; Morais & Brown Jr. 1991; Nitao 1995; Weintraub 1995; Fagua *et al.* 1998; Freitas & Ramos 2001; Pinto *et al.* 2009; Ríos & Canamero 2010, Morais *et al.* 2013, entre outros). Os trabalhos realizados com o grupo abrangem temas de historia natural, recursos alimentares utilizados, dinâmica de populações, coevolução, entre outros tópicos. Entre estes estudos pode ser destacado os de Brown Jr. *et al.* (1981) e Morais & Brown Jr. (1991) que realizaram estudos sobre a interação inseto-planta com cinco espécies de Troidini e suas plantas hospedeiras. A relação planta-hospedeira dos Troidini também foi objeto de estudos recentes por Silva-Brandão *et al.* (2005) e Silva-Brandão & Solferini (2007). No entanto, no sul do Brasil, pouco se sabe sobre estas interações. Menos informações ainda são conhecidas a respeito da dinâmica das populações naturais onde existe marcada sazonalidade, como as que ocorrem no limite sul do Brasil, onde ocorre o clima é subtropical, apresentando verões quentes e invernos rigorosos (Paim & Di Mare 2002).

1.4. O gênero *Battus*

O gênero *Battus* Scopoli, 1777 é formado por 12 espécies e está distribuído desde o sul dos Estados Unidos até o sul América do Sul. De acordo com Mielke *et al.* (2004), a maior parte das espécies são comuns e com ampla distribuição; poucas espécies apresentam distribuição restrita. A postura de ovos ocorre em grupos. As larvas variam sua coloração do cinza ao preto, são gregárias e podem ser encontradas em grupos com mais de oito indivíduos (Racheli & Pariset 1992). As pupas são similares às do gênero *Parides*, mas podem ser distinguidas através de uma característica peculiar: os chifres torácicos (Racheli 2006). O ciclo de vida e a biologia dos estágios imaturos

de *Battus* são poucos conhecidos. Já as formas adultas deste gênero são bem conhecidas, e apresentam geralmente asas pretas com padrão iridescente nas asas posteriores e no abdômen. Na maioria das espécies, ocorre dimorfismo sexual nos adultos com relação ao tamanho e coloração das asas (as fêmeas são maiores, enquanto que somente os machos apresentam machas esverdeadas no dorso do abdômen). Em geral, a maioria das espécies neotropicais do gênero vive em florestas, enquanto poucas preferem ambientes abertos. São essencialmente nectarívoras e visitam uma ampla variedade de flores, sendo, na maioria das vezes, atraídas por flores vermelhas e amarelas (DeVries 1987, Racheli & Pariset 1992). Uma característica deste gênero de borboletas é a utilização exclusiva de plantas hospedeiras pertencentes à família Aristolochiaceae (Racheli & Pariset 1992). Elas sequestram compostos tóxicos dessas plantas e advertem sua impalatabilidade através de sua coloração aposemática, servindo ainda como modelos miméticos (Brown Jr. *et al.* 1981, Weintraub 1995). Observações comportamentais com espécies do gênero *Battus* ainda são escassos. De acordo com Racheli & Pariset (1992) comportamentos territorialistas de machos como, por exemplo, o patrulhamento em vôo de machos a procura de fêmeas e o pouso de machos em estratos superiores a 8 ou 10 metros de altura ocorre na maioria das *Battus* e apresentam duas principais funções: controle do território e avistamento de fêmeas para garantir o sucesso reprodutivo.

Battus polydamas polydamas (Linnaeus, 1758) (doravante *B. polydamas*) possui ampla distribuição geográfica. Distribui-se em todas as Américas, sendo encontrada desde o nível do mar até 1300 metros de altitude, em ambientes perturbados, áreas abertas, nos jardins das cidades, pastagens e florestas (Tyler *et al.* 1994). Os adultos possuem o corpo preto e asas entre 43 – 47 mm com manchas amarelas submarginais na superfície dorsal, sendo as androcônias de coloração pálida e localizadas junto à margem interna das asas posteriores (Canals 2003; Núñez-Bustos 2010). Distinguem-se de outras espécies por possuírem pontos amarelo-esverdeados nas margens das asas anteriores e posteriores. Não apresentam dimorfismo sexual (Racheli & Pariset 1992). As fêmeas colocam seus ovos de cor amarelada em grupos de dois a nove ovos, normalmente no ápice dos ramos novos das plantas hospedeiras (Morais & Brown Jr. 1991). De acordo com Brown Jr. *et al.* (1981) as larvas gregárias possuem cores que variam do amarelo ao marrom, com manchas vermelho escuras ou beges, podendo apresentar marcas estriadas escuras ou mais claras nos estágios finais. As

pupas tem coloração verde ou marrom claro, sendo convexas na região dorsal. Pode ocorrer diapausa nos meses de inverno, causado por baixas temperaturas (Rachelli & Pariset 1992). Por possuir ampla distribuição geográfica, *B. polydamas* é a espécie mais estudada dentro do gênero.

Battus polystictus (Butler 1874) se distribui nas regiões Sudeste e Sul do Brasil até o norte da Argentina (Rachelli & Pariset 1992), sendo registradas duas subespécies: *B. polystictus galenus* e *B. polystictus polystycus* (doravante *B. polystictus*). Com relação à distribuição da última subespécie, ela é registrada entre os Estados de Espírito Santo e Rio de Janeiro, no Sudeste, e entre os Estados no Paraná e Rio Grande do Sul, no Sul (Tyler *et al.* 1994). Ocorrem em interior ou borda de matas úmidas, pousam em diversas flores e possuem o voo rápido e planado. Os adultos apresentam corpo preto e grande (65 – 85 mm) com linha amarela esverdeada em forma de “V” em ambas as asas na região dorsal e apresentam manchas vermelhas submarginais próximas a região ventral (DeVries 1987; Canals 2003; Núñez-Bustos 2010). A espécie apresenta dimorfismo de tamanho e discromatismo sexual, sendo as fêmeas maiores que os machos, enquanto que os machos possuem abdômen amarelo vivo e as fêmeas abdômen preto.

1.5. Família Aristolochiaceae

A família Aristolochiaceae é constituída por quatro gêneros e aproximadamente 600 espécies presentes em regiões tropicais, subtropicais e temperadas de todo o mundo (González 1990; Capellari Jr. 2001). São plantas com hábito escandecente, popularmente chamadas de jarrinhas e/ou cipó-de-mil-homens (Capellari Jr. 2001). O gênero *Aristolochia* é o maior em número de espécies e o mais estudado, sendo constituído por 400 espécies (Kelly & Gonzáles 2003). No Brasil ocorrem cerca de 90 espécies (Leitão & Kaplan 1992), enquanto que para o Estado do Rio Grande do Sul, atualmente, registram-se nove espécies (Giehl 2012). As plantas deste gênero são consideradas sub-arbustos ou lianas, são anuais ou perenes, possuem folhas de diferentes formas, podendo ser simples ou alternas, pecioladas com ou sem pseudo-estípulas. Estas plantas possuem como característica química principal a produção de ácidos aristolóquios, ácidos labanóicos e alcaloides, os quais se supõem que restrinjam a quantidade de organismos herbívoros que conseguem se alimentar destas plantas

(Brown Jr. *et al.* 1981). Conforme mostrado por Klitzke (1992), nem todas as espécies possuem os mesmos compostos distribuídos igualmente pelas suas folhas. No entanto, a presença ou ausência destes compostos podem influenciar as escolhas das espécies de Troidini quanto ao uso de diferentes espécies de *Aristolochia* como planta hospedeira.

1.6. Interações inseto-planta

Os insetos fitófagos desenvolveram diferentes estratégias alimentares, o que lhes conferiu um grande sucesso evolutivo (Ehrlich & Raven 1964). Em particular, as interações entre os Troidini e suas plantas hospedeiras têm despertado interesse nos pesquisadores nas últimas décadas (Young 1971; Rauscher 1979; Rauscher & Feeny 1980; Brown Jr. *et al.* 1981; Miller 1987; Klitzke 1992; Morais 1997), pois estes utilizam principalmente espécies do gênero *Aristolochia*. Esta relação tem sido utilizada como um exemplo clássico em estudos de coevolução entre insetos herbívoros e plantas hospedeiras (Ehrlich & Raven 1964). Neste caso particular, o fator chave desta coevolução teria sido a diversificação dos compostos secundários presentes nas plantas hospedeiras, que teriam induzido respostas adaptativas de tolerância aos compostos em diferentes espécies de borboletas do grupo (Weintraub 1995).

As lagartas de Troidini que se alimentam das *Aristolochia* são capazes de sequestrar os compostos secundários presentes nas plantas hospedeiras, que serviriam como protetores contra a atividade de herbívoros, e usar esses compostos ao seu favor (Klitzke & Brown Jr. 2000). Ainda é sugerido por alguns autores que os ácidos aristolóquicos sequestrados seriam utilizados em outras estratégias adaptativas, como, por exemplo, na proteção química de lagartas contra o ataque de predadores e parasitoides (Brower & Brower 1964; Nishida & Fukami 1989). *Battus polydamas* pode ser um exemplo claro dos efeitos evolutivos causados por essa interação, já que esta espécie utiliza alguns dos compostos secundários de suas plantas hospedeiras como estimulantes para oviposição, além da função primordial de promover sua impalatabilidade na fase adulta (Nishida & Fukami 1989).

O desenvolvimento e a sobrevivência das larvas na natureza dependem de diversos fatores, entre eles a exposição a predadores e condições adversas de desenvolvimento. Devido à vulnerabilidade das larvas, esses fatores são mais restritivos

nos instares iniciais de desenvolvimento. Sendo assim, a escolha da planta hospedeira pelas fêmeas é um importante fator para a sobrevivência das larvas (Zalucki *et al.* 2002). As fêmeas de papilionídeos são extremamente seletivas quanto à escolha da planta hospedeira, sendo capazes de avaliar a qualidade do recurso disponível e assim aumentar consideravelmente as chances de sobrevivência dos imaturos, conforme encontrado em várias outras espécies de borboletas (*e.g.* Périco & Araújo 1995; Rodrigues & Moreira 2004; Bianchi & Moreira 2005; Silva *et al.* 2014). Imaturos que se alimentam de plantas com melhores valores nutricionais podem desenvolver-se em adultos maiores e mais vigorosos (Nishida 1995; Kerpel 2004). Nesse sentido, a coevolução entre Troidini e *Aristolochia* pode ter propiciado o aproveitamento dos compostos secundários existentes nas espécies de *Aristolochia* como um potencializador para o desenvolvimento completo no menor tempo possível, garantindo maiores taxas de sobrevivência das larvas e o empupamento (Nitao 1995). Segundo Penz (1981) as medidas de massa corporal das larvas e o tempo gasto para o empupamento são boas ferramentas para medir indiretamente as preferências de diferentes espécies de borboletas por algumas plantas hospedeiras. As plantas que propiciam um desempenho larval maior tendem a serem as preferidas pelas espécies de borboletas (Fagua *et al.* 1998).

Além das características alimentares, que podem interferir diretamente na sobrevivência dos imaturos, as características físicas do ambiente, tais como a exposição à radiação solar, temperatura e taxas de precipitação, entre outros fatores, também podem influenciar indiretamente a sobrevivência e o desenvolvimento dos imaturos (Grossmueller & Lederhouse 1985; Kemp 2000; Kingsolver & Huey 2008). Com relação à temperatura, muitas espécies de Lepidoptera apresentam taxas de desenvolvimento menores quando submetidas a temperaturas mais baixas (Angilletta & Dunham 2003). Para algumas espécies, temperaturas abaixo de um determinado limiar são capazes de induzir diapausa (Zalucki *et al.* 2002). Em outras espécies, temperaturas baixas não interrompem o desenvolvimento dos imaturos, mas são capazes de diminuir as taxas metabólicas ou estender o tempo de desenvolvimento. Esse processo pode gerar indivíduos com tamanho corporal adulto inferior aos imaturos submetidos a temperaturas mais altas de desenvolvimento (Angilletta & Dunham 2003). De acordo com Mega (2014), a variação nas propriedades das plantas hospedeiras e as condições ambientais podem produzir mudanças nas histórias de vida de lepidópteros. O tamanho

do corpo dos lepidópteros, por exemplo, pode variar conforme as condições ambientais e nutricionais disponíveis para as larvas em desenvolvimento. Nestes casos, o desempenho de um determinado animal depende diretamente da quantidade e qualidade da dieta escolhida.

Rodrigues & Moreira (2002) demonstraram a partir de experimentos em laboratório, utilizando a espécie *Heliconius erato phyllis*, que as larvas que se alimentam com uma espécie de planta hospedeira de boa qualidade nutricional produzem fêmeas com tamanho e a fecundidade maiores do que àquelas alimentadas com uma espécie de menor valor nutricional. Em outro estudo realizado por Menna-Barreto e Araújo (1985), larvas de *H. erato* alimentadas com hospedeiras de alto valor nutricional apresentaram peso maior das pupas quando comparadas aquelas cujas larvas foram alimentadas com plantas de valores nutricionais menores. Evidências recentes tem sugerido que as preferências alimentares das larvas de *Heliconius* seriam respostas adaptativas as condições ambientais de desenvolvimento, como abundância e disponibilidade de plantas hospedeiras (Silva *et al.* 2014).

Os dados de literatura sugerem que experimentos de laboratório, em condições controladas, são ferramentas muito úteis para responder algumas perguntas sobre a biologia de formas imaturas. Com estes métodos é possível observar aspectos desconhecidos sobre os organismos que dificilmente podem ser abordadas em campo, avaliando quantitativamente a influência das variações sazonais sobre o desenvolvimento, as relações entre preferências e qualidade alimentar, as taxas de crescimentos de imaturos, os comportamentos de defesa, entre outros (Périco & Araújo 1995; Rodrigues & Moreira 1999; Rodrigues & Moreira 2004; Mega 2014).

Apesar de existirem dados na literatura sobre quais são as plantas hospedeiras utilizadas por *B. polydamas*, pouquíssimos são os dados de experimentos com *B. polystictus*. Entre os trabalhos realizados, destacam-se os de Brown Jr. *et al.* (1981) e Morais & Brown Jr. (1991), que estudaram a interação inseto-planta de cinco espécies de Troidini com suas plantas hospedeiras. Conforme Silva-Brandão e Solferini (2007), *B. polydamas* utiliza uma gama de hospedeiras maior do que *B. polystictus* (respectivamente, 29 e cinco), sendo que entre as espécies de *Aristolochia* mencionadas apenas três ocorrem no Estado do Rio Grande do Sul: *Aristolochia elegans*, *Aristolochia triangularis* e *Aristolochia gigantea* (Ahumada 1975).

O desempenho larval e as preferências de oviposição das fêmeas de *B. polydamas* são conhecidos para algumas poucas espécies de *Aristolochia* ocorrentes na América Central e do Norte (Papaj *et al.* 1992; Nishida 1995). Já para *B. polystictis*, não se conhece exatamente a gama de plantas utilizadas e tampouco as consequências de desenvolvimento e sobrevivência com a utilização de diferentes espécies de *Aristolochia*. Convém ressaltar que outras espécies de *Aristolochia* ocorrem no Estado do Rio Grande do Sul (Ahumada 1975). Porém, a grande maioria delas ainda não foi testada para a preferência e desempenho dos Troidini ocorrentes no sul do Brasil.

Ainda que hajam vários estudos publicados com Troidini, poucos deles focam aspectos da biologia das espécies ocorrentes no sul do Brasil. Menos informações ainda são conhecidas a respeito da dinâmica das populações naturais em zonas de clima subtropical, onde existe marcada sazonalidade, com verões quentes e invernos frios (Paim & Di Mare 2002). Além disso, nada se sabe sobre o uso preferencial de plantas hospedeiras pelas espécies de *Battus* ocorrentes no extremo sul do Brasil. Supõe-se que a diferenciação nas abundâncias e tamanhos populacionais de *Battus* esteja relacionada com a alta seletividade das espécies aos habitats, e também à escolha e disponibilidade de plantas hospedeiras. O conhecimento sobre o uso de diferentes recursos por lepidópteros, em função da disponibilidade de plantas, é de extrema importância para o entendimento das dinâmicas populacionais em ambientes sazonais. Estes conhecimentos são valiosos para subsidiar ações de preservação e manutenção de áreas naturais.

1.7. Referências bibliográficas

(De acordo com as normas da Revista Brasileira de Entomologia)

Ahumada, L.Z. 1975. **Aristolochiáceas**. 1- 55 p. In: Flora ilustrada Catarinense. I parte, Fasc. Aris. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues. 54 p.

Angilletta, M.J.Jr. & Dunham, A. 2003. The temperature-size rule in Ectotherms: Simple Evolutionary Explanations May Not Be General. **American Society of Naturalists** **162**: 332 – 342.

Beirão, M.V., Campos-Neto, F.C, Pimenta, I.A. & Freitas, A.V.L. 2012. Population Biology and Natural History of *Parides burchellanus* (Papilionidae: Papilioninae:

- Troidini), an Endangered Brazilian Butterfly. **Annal of the Entomological Society of America** **105**: 36-43.
- Begon, M. 1979. **Investigating Animal Abundance: Capture-recapture for biologists**. London. Edward Arnold. 97 p.
- Begon, M., Townsend, C.R. & Harper, J.L. 2007. **Ecologia: De Indivíduos a Ecossistemas**. Porto Alegre, Artmed, 752 p.
- Bergman, K.O., Ask, L. & Milberg, P. 2008. Importance of boreal grasslands in Sweden for butterfly diversity and effects of local and landscape habitat factors. **Biodiversity Conservation** **17**:139-153.
- Bernays, E.A. & R.F. Chapman. 1994. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York, Chapman & Hall, 312 p.
- Bianchi, V. & Moreira, G.R.P. 2005. Preferência alimentar, efeito da planta hospedeira e da densidade larval e desenvolvimento de *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **22**: 43-50.
- Blair, R.B & Launer, A.E. 1997. Butterfly diversity and human land use: species assemblages along an urban gradient. **Biological Conservation** **80**:113-125.
- Blower, J.G., Cook, L.M. & Bishop, J.A. 1981. **Estimating the size of animal populations**. London, George Allen & Unwin LTD. 126 p.
- Brown Jr., K.S., Damman, H.J. & Feeny, P. 1981. Troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) in southeastern Brazil: natural history and foodplant relationship. **Journal of Research on the Lepidoptera** **19**: 199-226.
- Brown Jr., K.S., Klitzke, C.F., Berlingeri, C. & Santos, P.E.R. 1995. Neotropical swallowtails: chemistry of food plant relationships, population ecology, and biosystematics. p. 405-444. In: Scriber, J.M., Tsubaki, Y. & Lederhouse, R.C. (eds.). **Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology**. Gainesville, Scientific Publishers, 459 p.
- Brower, L.P. & Brower, J.V.Z. 1964. Birds, butterflies, and plant poisons: a study in ecological chemistry. **Zoologica** **49**: 137-142.
- Caldas, A. 1995. Population ecology of *Anae ryphea* (Nymphalidae): Immatures at Campinas, Brazil. **Journal of the Lepidopterist Society** **49**: 234-245.

- Canals, G.R. 2003. **Mariposas de Misiones**. Buenos Aires. LOLA, 492 p.
- Capellari Jr., L. 2001. Aristolochiaceae. p. 1-34. In: Rizzo, J.A. (ed.). **Flora dos Estados de Goiás e Tocantins. Coleção Rizzo**. Goiânia, Universidade Federal de Goiás.
- Cook, L.M., Frank, K. & Brower, L.P. 1971. Experiments on Demography of Tropical Butterflies. I. Survival Rate and Density in Two Species of *Parides*. **Biotropica** **3**: 17-20.
- DeVries, P.J. 1987. **The butterflies of Costa Rica and Their Natural History**. New Jersey. Princeton University Press, 327 p.
- Ehrlich, P.R. & Davidson, S.E. 1960. Techniques for capture-recapture studies of Lepidoptera populations. **Journal of Lepidopterists' Society** **14**: 227-229.
- Ehrlich, P.R. & Raven, P.H. 1964. Butterflies and plants: study in coevolution. **Evolution** **18**: 586-608.
- Ehrlich, P.R. 1984. The structure and dynamics of butterfly populations. p:25-40. In: Vane-Wright, R. I., Ackery, P.R. **The Biology of Butterflies**. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Fagua, G., Ruiz, N., González, F., Andrade-C, M.G. 1998. Calidad del hospedero en el ciclo de desarrollo de *Battus polydamas* (Lepidoptera: Papilionidae: Troidini). **Revista Colombiana de Entomología** **24**: 131-140.
- Francini, R.B. 2010. **Métodos para estudar ecologia de populações de borboletas**. Santos, SP, E-book Publicado pelo autor. 201 p.
- Freitas, A.V.L. 1996. Population biology of *Heterosais edessa* (Nymphalidae) and its associated Atlantic Forest Ithomiinae Community. **Journal of the Lepidopterists' Society** **50**: 273-289.
- Freitas, A.V.L. & Ramos, R.R. 2001. Population Biology of *Parides anchises nephalion* (Papilionidae) in a coastal site in southeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology** **61**: 623-630.
- González G., F. A. 1990. Aristolochiaceae. In: Rangel JO, Cadena A, Correal G, Bernal R. (eds) **Flora de Colômbia**. Bogotá, Instituto de Ciências Naturales. 184 p.

- Grossmueller, D.W. & Lederhouse, R.C. 1985. Oviposition site selection: an aid to rapid growth and development in the tiger swallowtail butterfly *Papilio glaucus*. **Oecologia** **66**: 68-73.
- Giehl, E.L.H. 2012. Flora digital do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. URL: <http://ufrgs.br/floradigital>. Último acesso em 06/12/13.
- Häuser, C. L., Jong, R. D., Lamas, G., Robbins, R. K., Smith, C. & Vane-Wright, R. I. 2005. Papilionidae - revised GloBIS/GART species checklist. www.insects-online.de/frames/papilio.htm - Último acesso em 20/12/13.
- Herkenhoff, E.V., Monteiro, R.F., Esperanço, A.P. & Freitas, A.V.L. 2013. Population biology of the endangered fluminense swallowtail butterfly *Parides ascanius*. **Journal of the Lepidopterists' Society** **67**: 29-34.
- Kelly, L.M. & Gonzáles, F. 2003. Phylogenetic relationships in Aristolochiaceae. **Systematic Botany** **28**: 236-249.
- Kemp, D.J. 2000. The basis of life-history plasticity in the tropical butterfly *Hypolimnas bolina* (L.) (Lepidoptera; Nymphalidae). **Australian Journal of Zoology** **48**: 67-78.
- Kerpel, S.M. 2004. Influência do conteúdo nutricional de *Passiflora suberosa* e *Passiflora misera* na performance, nutrição, digestão e comportamento de escolha de oviposição de *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Tese de doutorado**. UFRGS. Porto Alegre, RS.
- Kingsolver, J.G. & Huey, R.B. 2008. Size, temperature, and fitness: three rules. **Evolutionary Ecology Research** **10**: 251-268.
- Klitzke, C.F. 1992. Ecologia química e coevolução na interface Troidini (Papilionidae) *Aristolochia* (Aristolochiaceae). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Campinas – Unicamp. Campinas, SP.
- Klitzke, C.F. & Brown Jr., K.S. 2000. The occurrence of aristolochic acids in neotropical troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae). **Chemoecology** **10**: 99-102.
- Leitão, G.G. & Kaplan, M.A.C. 1992. Química do gênero *Aristolochia*. **Revista Brasileira de Farmacognosia** **73**: 65-75.

- Machado, A.B.M., Drummond, G.M. & Paglia, A.P. 2008. **Livro vermelho da fauna ameaçada de extinção**. MMA e Fundação Biodiversitas, Brasília e Belo Horizonte, Brasil.
- Magnusson, W.E. 2013. The Words “Population” and “Community” Have Outlived their Usefulness in Ecological Publications. **Natureza & Conservação 11**: 1-6.
- Mega, N.O. 2014. The adult body size variation of *Dryas iulia* (Lepidoptera, Nymphalidae, Heliconiinae) in different populations is more influenced by temperature variation than by host-plant availability during the seasons. **Entomological Science 17**: 1-10.
- Menna-Barreto, Y. & Araújo, A.M. 1985. Evidence for host plant preferences in *Heliconius erato phyllis* from southern Brazil (Nymphalidae). **Journal of Research on the Lepidoptera 24**: 41-46.
- Mielke, O.H.H., Mielke, C.G.C. & Casagrande, M.M. 2004. *Parides panthonus jaguare* (Foetterle) (Lepidoptera, Papilionidae) redescoberto em Minas Gerais, Brasil: sua identidade. **Revista Brasileira de Zoologia 21**: 9-12.
- Miller, J.S. 1987. Phylogenetic studies in the Papilioninae (Lepidoptera, Papilionidae). **Bulletin of the American Museum of Natural History 186**: 365-512.
- Morais, A.B.B.de. & Brown Jr., K.S. 1991. Larval foodplant and other effects on Troidine guild composition (Papilionidae) in southeastern Brazil. **Journal of Research on the Lepidoptera 30**: 19-37.
- Morais, A.B.B. de. 1997. Interações tritróficas no sistema *Aristolochia arcuata* (Aristolochiaceae), *Battus polydamas* (Lepidoptera: Papilionidae: Troidini) e alguns de seus inimigos naturais. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual de Campinas – Unicamp. Campinas, SP.
- Morais, A.B.B. de, Brown Jr., K.S., Stanton, M.A., Massuda, K.F., Trigo, Jr. 2013. Are Aristolochic Acids Responsible for the Chemical Defence of Aposematic Larvae of *Battus polydamas* (L.) (Lepidoptera: Papilionidae)? **Neotropical Entomology 42**: 558-564.
- Nascimento, D.S. do, Cervi A.C., Guimarães O.A. 2010. A família Aristolochiaceae Juss. no estado do Paraná, Brasil. **Acta botânica brasílica 24**: 414-422.

- Nishida, R. 1995. Oviposition stimulants of swallowtail butterflies. p. 17-26. *In*: Scriber, J.M., Tsubaki, Y. & Lederhouse, R. C. (eds.). **Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology**. Gainesville, Scientific Publishers. 459 p.
- Nishida, R. & Fukami, H. 1989. Ecological adaptation of an Aristolochiaceae-feeding swallowtail butterfly, *Atrophaneura alcinous*, to aristolochic acids. **Journal Chemical Ecology** **15**: 2549-2563.
- Nitao, J.K. 1995. Evolutionary stability of swallowtail adaptations to plant toxins. p. 39-52. *In*: Scriber, J.M., Tsubaki, Y. & Lederhouse, R.C. (eds.). **Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology**. Gainesville, Scientific Publishers, 459 p.
- Núñez-Bustos, E. 2010. **Mariposas de la Ciudad de Buenos Aires y alrededores**. Buenos Aires. Vázquez Mazzini. 264 p.
- Otero, L.S. & Brown Jr., K.S. 1986. Biology and ecology of *Parides ascanius* (Cramer 1775) (Lep., Papilionidae), a primitive butterfly threatened with extinction. **Atala** **10/12**: 2-16.
- Paim, A.C. & Di Mare, R.A. 2002. Ecologia de papilionidae. I: Parâmetros biológicos e demográficos de *Parides agavus* (Papilioninae, Troidini) no sul do Brasil. **Biociências** **10**: 33-48.
- Papaj, D.R., Feeny, P., Sachdev-Gupta, K. & Rosenberry, R. 1992. D-(+)-pinitol, an oviposition stimulant for the pipevine swallowtail butterfly, *Battus philenor*. **Journal Chemical Ecology** **11**: 799-815.
- Penz, C. 1981. Interaction between *Papilio hectorides* (Papilionidae) and four host plant (Piperaceae, Rutaceae) in a Southern Brazilian population. **Journal of Research on the Lepidoptera** **29**: 161-171.
- Périco, E. & Arújo, A.M. 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**: 3-18.
- Pinto, C.F., Troncoso, A.J., Urzúa, A. & Niemeyer, H.M. 2009. Aristolochic acids affect the feeding behaviour and development of *Battus polydamas archidamas* larvae (Lepidoptera: Papilionidae: Troidini). **European Journal of Entomology** **106**: 357–361.
- Prado, I.P. & El-Hani. C.N. 2013. Blaming the words population and community has

outlived its usefulness in Ecology - a reply to Magnusson. **Natureza E Conservação** **11**: 99-102.

Racheli, T. & Pariset, L. 1992. **II Genere *Battus*: Tassonomia e Storia naturale (Lepidoptera, Papilionidae)**. Roma. Fragmenta Entomologica. 163 p.

Racheli, T. 2006. **The Genus *Parides*: unended quest (Lepidoptera, Papilionidae)**. Germani. Goecke & Evers, Keltern. 116 p.

Rauscher, M.D. 1979. Coevolution in a simple plant-herbivore system. **Tese de doutorado**. Universidade de Cornell, Ithaca, New York.

Rausher, M.D. & Feeny, P. 1980. Herbivory, plant density, and plant reproductive success: The effect of *Battus philenor* on *Aristolochia reticulata*. **Ecology** **61**: 905-917.

Ricklefs, R.E. 2009. **A Economia da natureza**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 503 p.

Reed RD. & Sperling, F.A.H. 2006. Papilionidae. The swallowtail butterflies. Disponível em: <http://tolweb.org/Papilionidae/12177/2006.07.07>. Acessado em: 17/07/2014.

Ríos, O.M. & Canamero, A.B. Temporal and spatial segregation of *Battus devilliers* and *Battus polydamas cubensis* (Papilionidae) in La Habana, Cuba. **Journal of Research on the Lepidopterist** **42**: 52-63.

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

Rodrigues, D. & Moreira, G.R.P. 2002. Geographical variation in larval host-plant use by *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) and consequences for adults life history. **Brazilian Journal of Biology** **62**: 321-332.

Rodrigues, D. & Moreira, G.R.P. 2004. Seasonal variation in larval host plant and consequences for *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) adult body size. **Austral Ecology** **29**: 437-445.

Rockwood, L. 2006. **Introduction to population ecology**. Oxford. Backwell Publish

Scriber J.M. & Feeny P. 1979. Growth of herbivorous caterpillars in relation to feeding specialization and to the growth form of their food plants. **Ecology** **60**: 829-850.

- Scriber, J.M. 1984. Larval foodplant utilization by the world Papilionidae (Lepidoptera): Latitudinal gradients reappraised. **Tokurana** **6-7**: 1-16.
- Scriber J.M. 1986. Origins of the regional feeding abilities in the tiger swallowtail butterfly: ecological monophagy and the *Papilio glaucus australis* subspecies in Florida. **Oecologia** **71**: 94-103.
- Scriber, J.M. 1995. Overview of swallowtail butterflies: taxonomic and distributional latitude. p. 3-20. *In*: Scriber, J. M., Tsubaki, Y. & Lederhouse, R. C. (eds.). **Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology**. Gainesville, Scientific Publishers, 459 p.
- Scriber J.M., & Ording GJ. 2005. Ecological speciation without host plant specialization; possible origins of a recently described cryptic *Papilio* species. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **115**: 247-263.
- Scriber, J.M., Deering D., Francke L.N., Wehling W.F. & Lederhouse R.C. 1998. Notes On Swallowtail Population Dynamics Of Three *Papilio* Species In South-Central Florida (Lepidoptera: Papilionidae). **Holarctic Lepidoptera** **5**: 53-62.
- Scriber J.M, Larsen M.L., Allen G.R., Wlaker P.W., Zalucki M.P. 2008. Interaction between Papilionidae and ancient Australian Angiosperms: evolutionary specialization or ecological monophagy? **Entomologia Experimentalis et Applicata** **128**: 230-239.
- Scriber J.M., Elliot B., Maher E., McGuire M. & Niblack M. 2014. Adaptations to “Thermal Time” Constraints in *Papilio*: Latitudinal and Local Size Clines Differ in Response to Regional Climate Change. **Insects** **5**: 199-226.
- Silva-Brandão KL, Freitas AVL, Brower AVZ, Solferini VN. 2005. Phylogenetic relationships of the New World Troidini swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) based on COI, COII, and EF-1a genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **36**: 468-483.
- Silva-Brandão, K.L. & Solferini, V.N. 2007. Use of host plants by Troidini butterflies (Papilionidae, Papilioninae): constraints on host shift. **Biology Journal of the Linnean Society** **90**: 247-261.
- Silva, A.K., Gonçalves, G.L. & Moreira, G.R.P. 2014. Larval feeding choices in heliconians: induced preferences are not constrained by performance and host plant phylogeny. **Animal Behaviour** **89**: 155-162

- Solomon, M.E. 1980. **Dinâmica de populações**. São Paulo. Editora Pedagógica e Universitária Ltda. 78 p.
- Teston, J.A. & Corseuil, E. 1998. Lista documentada dos papilionídeos (Lepidoptera, Papilionidae) do Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências** 6: 81-94.
- Tyler, H., Brown Jr., K.S. & Wilson, K. 1994. **Swallowtail Butterflies of the Americas. A study in Biological Dynamics, Ecological Diversity, Biosystematics and Conservation**. Scientific Publishers, Gainesville. 375 p.
- Vasconcellos-Neto, J. 1980. Dinâmica de populações de Ithomiinae (Lepidoptera:Nymphalidae) em Sumaré – SP. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Campinas.
- Weintraub, J. D. 1995. Host plant association patterns and phylogeny in the tribe Troidini (Lepidoptera: Papilionidae). p.307-316. *In*: Scriber, J. M., Tsubaki, Y. & Lederhouse, R. C. (eds.). **Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology**. Gainesville, Scientific Publishers, 459 p.
- White, G. C., Anderson, D. R., Burnham, K. P. & Otis, D. L. 1982. **Capture-recapture and removal methods for sampling closed populations**. Chile. Los Alamos, 235 p.
- Wolda, H. 1988. Insect seasonality: why? **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematic** 19:1-18.
- Young, A.M. 1971. Mimetic associations in natural populations of tropical butterflies. I. Life history and structure of a tropical dry forest breeding population of *Battus polydamas polydamas*. **Revista Biologia Tropical** 19: 210-240.
- Young A. M. 1972. Mimetic associations in populations of tropical butterflies. II Mimetic interactions of *Battus polydamas* and *Battus bellus*. **Biotropica** 4: 17-27.
- Young A. M. 1973. Notes on the life cycle and natural history of *Parides arcas mylotes* (Papilionidae) in a Costa Rican premontane wet forest. **Psyche** 80: 1-21.
- Young, A.L., Blum, M.S., Fales, H.M. & Bian, Z. 1986. Natural history and ecological chemistry of the neotropical butterfly *Papilio anchisiades* (Papilionidae). **Journal of the Lepidopterist Society** 40: 36-53.
- Zalucki, M.P., Clarke, A.R. & Malcolm, S.B. 2002. Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. **Annual Review of Entomology** 47: 361-393.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Estudar a dinâmica das populações de *B. polydamas* e *B. polystictus* ao longo de um ciclo anual, relacionando os padrões observados com os requerimentos ecológicos das espécies, com a disponibilidade de recursos alimentares e com o desempenho larval em diferentes plantas hospedeiras.

2.2. Objetivos específicos

- Investigar as preferências ecológicas e a ocupação de hábitat em *B. polydamas* e *B. polystictus*;
- Monitorar as flutuações populacionais de *B. polydamas* e *B. polystictus* em áreas verdes manejadas e áreas verdes naturais dentro do mesmo mosaico de paisagem;
- Investigar as particularidades das dinâmicas populacionais das duas espécies de *Battus*, caracterizando a densidade demográfica, estruturação etária, tempo de residência, razões sexuais e variação de tamanho corporal dos adultos;
- Acompanhar a disponibilidade das *Aristolochia* nas áreas de estudo, determinando quais hospedeiras estão sendo utilizadas pelas duas espécies de *Battus* ao longo do tempo;
- Examinar o efeito da planta hospedeira na sobrevivência e desenvolvimento nas duas espécies de *Battus*, determinando os padrões desempenho larval nas diferentes *Aristolochia* presentes nas áreas de estudo;
- Relacionar a variação sazonal das plantas hospedeiras e o desempenho larval em diferentes *Aristolochia* com as características populacionais das espécies de *Battus* nas áreas estudadas.

ARTIGO 1

Manuscrito a ser submetido à revista

Entomological Science

TITLE: Natural history and population biology of the swallowtail butterfly *Battus polystictus polystictus* (Lepidoptera: Papilionidae: Troidini)

RUNNING TITLE: Population of *Battus polystictus*

AUTHORS: Vanessa Willems Scalco^{1,*}, Ana Beatriz Barros de Morais², Helena Piccoli Romanowski^{1,3}, Nicolás Oliveira Mega^{1,3}.

AFFILIATIONS:

1. Graduate Program in Animal Biology, Federal University of Rio Grande do Sul. Bento Gonçalves Ave. 9500/43435. Postal Code 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil.

2. Department of Biology, Federal University of Santa Maria, Faixa de Camobi, km 9, Postal Code 97105-900. Santa Maria, RS, Brazil.

3. Department of Zoology, Federal University of Rio Grande do Sul. Bento Gonçalves Ave. 9500/43435. Postal Code 91501-970. Porto Alegre, RS, Brazil.

*AUTHOR FOR CORRESPONDENCE. Email: vanessawscalco@gmail.com

ABSTRACT: The present study describes the population biology and natural history of *Battus polystictus polystictus* (A. Butler, 1874), a Troidini butterfly from the Neotropical region present in the Atlantic Forest and Pampa biomes. Population parameters were estimated based on a 12-month mark-recapture program conducted in a moist-forest area from Southern Brazil. The population size was not stable during the year, ranging from zero during the winter to 300 butterflies during the summer. The sex ratio was male-biased (3M: 1F), with males prevailing in all months. The age structure was not constant, with an increase of intermediate and old individuals towards summer. The wing size of females was greater than that of males in all months, despite smaller differences having been observed in the spring population. The mean residence time was 7.45 ± 4.14 days for males and 8.5 ± 1.5 days for females. Males dispersed more than females, traveling up to 2350 m, while females dispersed up to 1050 m. Regarding the natural history of *B. polystictus*, the following aspects can be highlighted: the abundance and concentration of butterflies seems to be related to the availability of resources; oviposition behavior of females in *A. triangularis* plants was usually observed in the afternoon; the exploitation of host-plant resources seems to be restricted to *Aristolochia* branches over 3-metres high; the natural populations are subjected to environmental variation resulting in a different wing size over the months; the distribution of the species appears to be restricted to well-structured semi-preserved humid hillside forested areas.

KEYWORDS: *Aristolochia*, ecological transition zone, mark-release-recapture, Neotropical region.

INTRODUCTION

In recent decades, knowledge about the biology of butterflies has been increased due to the efforts on the research of natural history and population dynamics of many different taxa. Regarding the Papilionidae family, most of the research on the field has been developed with Troidini species. Among the studies carried out on the Neotropical region with Troidini populations in the past three decades, we can highlight Brown Jr. *et al.* (1981); Otero & Brown Jr. (1986); Freitas & Ramos (2001); Paim & Di Mare (2002); Beirão *et al.* (2012) and Herkenhoff *et al.* (2013).

The New World Troidini genus *Battus* Scopoli, 1777 has 12 species with widespread distribution from Central Argentina to the United States. One characteristic of this group of butterflies is the exclusive use of host plants from the genus *Aristolochia* (Brown Jr. *et al.* 1981, Weintraub 1995; Klitzke & Brown Jr. 2000), from which larvae sequester secondary compounds during larval development to use as chemical defense against predators by improving unpalatability (Nishida & Fukami 1989; Feeny 1995). Some *Battus* species demand habitats with intermediate to highly preserved landscapes, making them a powerful group to monitor anthropic disturbance (Tyler *et al.* 1994). Thus, knowing the dynamics and ecological preferences of such species is very important for the maintenance of healthy environments.

Battus polystictus polystictus (A. Butler, 1874) (hereafter *Battus polystictus*) has its distribution restricted to the Atlantic Rainforest and Pampa biomes, occurring from South and Southeast regions of Brazil to northeastern Paraguay and Argentina (Tyler *et al.* 1994). The adults display large black wings with greenish-yellow blots at the wing margins, showing sexual dichromatism regarding abdomen coloration. They usually fly high and fast, with short periods of gliding, in the woodland edges and moist forests, from spring to autumn (Núñez-Bustos 2010) generally near hillsides and slopes. The species is essentially nectarivorous and visits a wide variety of flowers (DeVries 1987).

The objective of the present study was to describe the population biology and the natural history of *B. polystictus* in a seasonal environment at the southern extreme of the Neotropical region. The choice to conduct the present study was related to the selective behavior of *B. polystictus*, mainly for moist forests located near hillsides with a low to medium level of disturbance. High ecological demands are common to all endangered

species of Troidini, and despite *B. polystictus* not being considered a threatened butterfly, it is susceptible to landscape fragmentation.

MATERIAL AND METHODS

Study site

The study was carried out at the locality of Morro do Coco, a 300 ha, 131 m high granitic mount (Knob 1978) located in the Viamão Municipality, Rio Grande do Sul State, southern Brazil (S 30.264625, W 51.046417). Situated in the shores of the Guaíba Lake, the study site belongs to the granite mountain chain present in the surroundings of Porto Alegre, Rio Grande do Sul State, occupying around 24% of the municipality area (Silveira & Miotto 2013). The landscape vegetation consists of a mosaic of formations typical from the ecological transition zone between the Atlantic Rainforest and Pampa biomes, ranging from open grasslands in the northern face to semi-deciduous seasonal forest in the southern face (Fig. 1). The area is interconnected with some primary forest remnants from other hills, showing an advanced stage of ecological succession (Backes 2000). The climatic and edaphic factors have a strong influence on the area physiognomy, determined by the occurrence of clean field, shrub field, forest fragments and swamps. According to the Köppen-Geiger classification (Peel *et al.* 2011), the region climate is of the humid subtropical type (Cfa). The annual average temperature is 19.5° C and the average annual rainfall 1,324 mm (Menegat *et al.* 1998), with hot and dry summers and cold and wet winters (a climatic diagram for the study area is presented in Fig. 2)

Butterfly sampling and parameters analyzed

We used the technique of mark-release-recapture (MRR) to monitor the population of *B. polystictus* over a year, from November 2012 to October 2013. Field surveys were conducted 1-3 times a week, except during the winter when field expeditions were done fortnightly. Butterfly samplings were carried out between 0900 AM and 0400 PM, always on sunny days, with temperatures between 15 and 35°C and mild breeze. The sampling totaled 45 field days with approximately 360 hours of observation. Butterflies captured were marked and recaptured along a 2000-m-transect located at the southern

face of the Morro do Coco. The trail used for field surveys crossed different vegetation formations (Fig. 1), and was divided into 50-m sectors to allow the identification of capture/recapture point of each butterfly. Butterflies were net-captured and marked on the underside of discal cells on both hind wings with a unique numerical code and then released. The marks were made using a felt-tipped pen with a nontoxic-permanent-ink (*sensu* Erlich & Davidson 1960). For each butterfly, the following aspects were recorded: numerical code, time of capture, sex, age, forewing length, sector of capture and foraging behavior.

The identification of sex was done through the inspection of genitalia or by the analysis of dorsal abdomen color (males have an evident green-yellowish coloration). The sex ratio was estimated monthly by scoring the sexual rate observed in each field survey. The age of individuals was estimated visually by the wing wear conditions of captured butterflies (*sensu* Ehrlich & Gilbert 1973). We scored five categories according to wing wear: freshly emerged (bright, intense color), young (less intense color but still bright), intermediate (faded color, less bright color), old (very faded color and some damage to the wing, partially transparent), very old (little color, wing partially transparent, badly damaged wings). The age structure was calculated monthly considering both sexes together, by scoring the proportion of each category present in each field survey. Forewing length of captured butterflies was measured with a digital caliper (accuracy 0.01mm) using wing insertion on the thorax and the terminal portion of vein R4 as anatomical landmarks. Data on wing size was analyzed for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov tests, and after investigated for sexual dimorphism and variation between months using Student's t-tests.

The movements of individuals were estimated as the maximum vagility observed for each butterfly from the first to the last capture event (including recaptures made on the same day). To calculate the vagility of butterflies captured, we divided the trail used for field surveying into 50 m sectors. The vagility was zero when a butterfly was recaptured at the same sector of the first capture event, the minimum vagility was 50m between the first and the last captures occurred in adjacent sectors, while the maximum vagility was estimated as the sum of 50m sectors covered by the same butterfly from the first to the last capture event. The Moses Test of Extreme Reaction was used to verify the vagility differences between sexes.

To estimate the population size we used the MRR data considering the number of individuals captured per day and the records of individuals marked and recaptured (*sensu* Freitas & Ramos 2001). The MRR data was analyzed separately for each sex through the Lincoln-Petersen method with Bailey's continuity correction for small samples sizes (Bailey 1952) using CMLR_2010 software (Francini 2010). The residence time was calculated as an indirect measure of longevity, using the minimum number of days between the first and last capture (*sensu* Brussard 1974).

Natural history and behavior

During the field surveys adult foraging behavior, male patrolling and female oviposition activity were recorded. The observation method used was the Focal-Animal Sampling (Altmann 1974). Behavioral records were performed at each sampling occasion, when butterflies from both sexes were observed during foraging before being net-captured. Once chosen, the focal butterfly was followed for as long as possible and all behavioral occurrences recorded for further analysis.

In order to access information about the nectar sources used by adults, the phenology of flowers from different plant species occurring along the trail used to sample butterflies was recorded. At each sampling occasion, the plants in bloom were identified and the availability of flower resources mapped along the same trail using the 50-m sectors. After the identification of plants, *ad libitum* samplings (Altmann 1974) during field surveys were performed to identify which flowers were visited by *B. polystictus* adults.

So as to obtain data on the availability of *Aristolochia* species over the months and to access details from the ones being used as host plants, the presence of *Aristolochia* was mapped along the same trail used for butterfly and flower use sampling. At each sampling occasion, *Aristolochia* branches from ground level up to six meters high were inspected for the presence of *B. polystictus* immature forms.

RESULTS

Population dynamics: During one year of sampling, a total of 190 individuals of *B. polystictus* were captured and marked. The number of butterflies captured per day

varied from one to 19 for males (mean = 4.24 ± 4.06) and from zero to seven for females (mean = 1.29 ± 1.42). The population size was not stable during the year, but showed a clear seasonal pattern regarding the number of individuals. The population exhibited small peaks in numbers from October to November, with an evident population increase after December (Fig. 3). Two marked peaks in numbers occurred during the hottest season of the year, with the largest population sizes estimated in December for males (143 ± 122 individuals) and in February for females (33 ± 28 individuals). After the middle of February, the population decreased in numbers toward the beginning of autumn, when adult individuals became locally extinct until spring, just before the end of winter. Considering both sexes together, the population could have reached approximately 300 butterflies on some days in the beginning of summer.

Sex ratio: 140 males and 50 females were marked. The sex ratio was male biased (approximately 3:1), with males being significantly more abundant than females in all months of surveying (Fig. 4; $\chi^2 = 19.93$, $P = 0.005$). The greater dominance of males was observed during December, when a sex ratio of 6:1 was found. From all butterflies marked, 22% of males and 10% of females were recaptured at least once. Males were recaptured from one to three times, and females from one to two times.

Age structure: To facilitate data analysis, males and females were grouped into three age classes from the five initial categories identified during field surveys (*sensu* Freitas 1993). The age structure of the population varied significantly during the study period (Fig. 4; $\chi^2 = 42.24$, $P < 0.001$). At the beginning of spring, young butterflies accounted for the majority of individuals captured. With the advance of spring, the population started to age, with the increase of intermediate and old butterflies and subsequent disappearance of young individuals from the population. At the end of spring, young butterflies started to increase in proportion again. From January to February the population showed a mature structure, with all classes represented. At this time, young and intermediate age classes reached the proportion of 40% each, while the proportion of old butterflies became stable for some weeks. At the end of summer, an expressive decrease in the proportion of young butterflies occurred, followed by a marked increase in the proportion of the old class. Just after the beginning of autumn the young and intermediate age classes completely disappeared from the population, with only the old class remaining until the end of autumn.

Wing size: The female wing size was significantly greater than that of the males (females, 50.64 ± 2.40 mm; males, 48.08 ± 4.80 mm; $t = -3.612$, $P < 0.001$ - Table 1). The wing size also showed variation within each sex, ranging from 45.61 to 54.88 mm in females and from 41.05 to 58.63 mm in males. The largest wing size of females was observed during December 2012, whereas for males it was during November 2012.

Residence time: Based on the number of days elapsed from the first to the last recapture event, the residence time of males ranged from one to 20 days and from one to 10 days for females, with no significant difference found between the sexes (male mean = 7.45 ± 4.14 days; female mean = 8.5 ± 1.5 days; $U = 40$, $P = 0.3304$).

Vagility: Most of the individuals marked were recaptured at the same sector of the first capture event. The butterflies recaptured at different sectors of the study area moved from 100 to 2350 m (Table 2). The vagility was statistically different between sexes (Moses test $U_{Females} = 9$, $P = 0.009$; $U_{Males} = 4$, $P = 0.056$). On the average, females moved less than males (female median = 670 ± 105 m; male median = 1098 ± 137 m). The maximum dispersal recorded for a male was 2350 m, while for a female the maximum dispersal was 1050 m. The daily vagility of males varied from 250 to 1700 meters and from 0 to 350 meters for females.

Natural history and behavior:

Males and females started to fly at the same time, searching for nectar in flower buds. The most abundant nectar resource used by *B. polystictus* butterflies came from *Lantana camara* (Verbenaceae) flowers, which were available throughout the year and visited by *B. polystictus* butterflies during spring, summer and autumn. *Battus polystictus* was also spotted feeding on *Inga uruguensis* (Fabaceae) and *Justicia brasiliiana* (Acanthaceae) flowers in December and January. During February and March the butterflies were seen on *Luehea divaricata* (Malvaceae) flowers, while the few flying butterflies present in April were eventually seen visiting *Eucalyptus* (Myrtaceae) flowers.

With the increase of temperature, males started to patrol for females, while females began to search for host-plants to lay eggs. During foraging, *B. polystictus* butterflies were sighted flying between one and 20 m high, in different kinds of wooded environments, like closed forests, forest edges, forest canopies and riparian forests, but

rarely at open-field areas. Females were seen more frequently flying at lower heights when compared to males.

On sunny days, males exhibited intense patrolling and territorial displays. Hill-topping behavior was observed in males during the warmer periods of the days, generally between 12:00 AM and 2:00 PM. Males defended territories at the highest point of the forest canopy, exhibiting agonistic behavior toward patrolling males. When a foraging female approached a defended territory, the male descended from the canopy and started courtship behavior by executing many loops around the female. Nevertheless, when the temperature became too high, the flying activity of the males decreased. Females, which generally fly in shaded areas, seemed to be less affected by the temperature rising.

Field surveys showed that two *Aristolochia* species were present at the study site: *Aristolochia triangularis* and *Aristolochia sessilifolia*. The former species was available during all the study period in forest borders, with higher abundance during spring and summer. In the winter *A. triangularis* stops growing, but maintains some green leaves during the coldest months. On the other hand, *A. sessilifolia* is only available from late spring to early autumn, being restricted to the open-field areas. This plant scored less than 1% of the total of *Aristolochia* present at the locality, and shows leaf fall during low temperature months (June to August).

The oviposition behavior of females was observed only in *A. triangularis*, and was generally recorded between 02:00 and 04:00 PM. The behavioral sequence of oviposition started with leaf localization on a plant, near the ground level, with the female flying towards the top of the host plant, performing several drumming on the surface of leaves with forelegs without landing. Eggs were laid on stems, stalks and on the abaxial surface of young leaves near the apical meristem. *Battus polystictus* female laid eggs in clusters ranging from 13 to 18 units, only above three meters high.

DISCUSSION

Population biology

The demographic patterns observed here for *B. polystictus* were similar to those observed for *Parides agavus* studied at the same latitude (Paim & DiMare 2002). On the other hand, when compared to the results obtained for Troidini species studied at lower latitudes, the demographic behavior of *B. polystictus* differs from those observed for *B. polydamas*, *P. agavus*, *P. anchises*, *Parides ascanius*, *Parides burchellanus*, *Parides neophilus* and *Parides proneus* (Cook *et al.* 1971; Brown Jr. *et al.* 1981; Tyler *et al.* 1994; Freitas & Ramos 2001; Beirão *et al.* 2012; Herkenhoff *et al.* 2013). *Battus polystictus* populations showed two marked peaks, one during late spring and another in late summer, whereas most of the other Troidini species studied for longer periods exhibited no clear population peaks. The only exception was *B. polydamas*, which showed a similar pattern of higher numbers of butterflies during the hottest months of the year, followed by a remarkable decrease in number toward winter (Brown Jr. *et al.* 1981). One possible explanation for this pattern could be the occurrence of a similar behavior regarding climate variation present only in the *Battus* genus.

The *B. polystictus* population studied showed a progressive increase toward late spring and summer. Such result suggests a gradual recruitment of individuals by promoting the hibernation breakthrough of individuals that spent winter in pupae form. Unlike the temperate zone in North America, where the major flight activity of *Battus philenor* occurs primarily in April and is derived from overwintering pupae in diapause (Sims & Shapiro 1983), young *B. polystictus* butterflies start to recolonize the 30°S latitude populations gradually. Some studies have shown that diapause breaking occurs with the shortening of photoperiod (Numata & Hidaka 1980; Wang *et al.* 2009; Morehouse *et al.* 2013) and temperature increase (Scriber *et al.* 2002; Scriber & Sonke 2011) in the spring and also with the arrival of rain (humidity increasing) (Sims & Shapiro 1983; Yamamoto *et al.* 2011).

Another difference between the *B. polystictus* population and other lower latitude Troidini was the occurrence of local extinction of adults during the coldest months of the year. While *B. polystictus* and *P. agavus* individuals from Southern Brazil were not recorded during the winter (present study; Paim & Di Mare 2002), the Troidini butterflies from lower latitudes were observed over the whole year, despite the

pronounced decrease in population numbers toward the dry season. Since no migratory behavior is known for any Troidini species, the results presented here suggest that the recruitment of individuals from pupae ceased with the arrival of autumn. Thus, the population starts to suffer an aging process until the last adult dies and the remaining immatures go into pupal diapause, as happens in some North American Papilionidae species (Sims 1983; Tyler *et al.* 1994). At the study site, temperatures can drop from 40°C during the summer to 0°C in the winter (BDMEP 2014), while the photoperiod decreases from 16 to 9 hours of light per day, making foraging activities incompatible with the climate conditions. Since no significant differences regarding rainfall were observed at the study site, only the former two could be considered associated with the disappearance of adults during the winter. Yet, the reasons why a tightly synchronized unimodal adult emergence did not occur at the beginning of spring at this latitude 30°S for the *B. polystictus* population, as observed for some Nearctic Region Papilionidae (Emmel & Emmel 1969; Sims 1980), are not yet clear.

Generally, climatic factors such as temperature and humidity are directly related to the abundance of insects (Pineiro *et al.* 2002), and this also seems to be the case of *B. polystictus*. The major population decline was seen in March, coincident with the decrease in temperature, as seen in other Lepidoptera species at the same latitude, such as *Heliconius erato* (Saalfeld & Araujo 1981; Romanowski *et al.* 1985) and *Dryas iulia* (Mega 2014).

We recorded an excess of males in the *B. polystictus* population during all months of sampling. Several studies done with Papilionidae also recorded the same excess of males during field surveys (Young 1971, Garraway 1993; Lederhouse 1995; Brown Jr. *et al.* 1995; Freitas & Ramos 2001; Paim & Di Mare 2002; Beirão *et al.* 2012; Herkenhoff *et al.* 2013), although broods reared under laboratory conditions generally produced a 1:1 proportion between males and females (Brown Jr. *et al.* 1995). According to Brussard and Ehrlich (1970) several reasons may produce the male-biased sex ratios observed in mark-release-recapture studies, and the precise cause behind such patterns must be addressed under controlled experimental design. Although, the most probable hypothesis to explain such data on Lepidoptera is the differences observed in the catchability of each sex. Thus, the existence of sampling bias could be associated to sex-related behavioral differences, which could also produce distinct mortality rates for male and females.

Several studies have shown that the degree of wing scale loss is a sensible predictor of adult age (Young 1971; Ehrlich & Gilbert 1973; Kuefler *et al.* 2008). Thus, long-term monitoring of age structure can be used as a good parameter to determine the succession dynamics inside butterfly populations. The age structure of the *B. polystictus* population varied during the study period, but the age structuring agreed with the estimates produced by MRR. At the beginning of spring, young butterflies accounted for 50% of the captures, suggesting the recruitment of individuals that had spent winter in pupae diapause. With the advance of spring, intermediate and old butterflies became more frequent, suggesting an aging of individuals that had hatched in late September. Such butterflies probably acted as genitors for the subsequent generation, which started to emerge from pupae at the end of spring. Such hypothesis is supported by the increase of young individuals in December, which once again suffered an aging process with the advance of the seasons. From January to February the population showed a complex and mature structure, since young and intermediate butterflies accounted for approximately 80% of the population, whereas the proportion of old butterflies became stable near 10%. At the end of summer, an expressive decrease in the amount of young butterflies occurred, followed by a marked increase in the proportion of old individuals. Once again the population diminished the recruitment of hatched individuals from pupae, but this time the results suggested that no further generation would replace the old and dying genitors from previous generations. At the beginning of autumn, with the end of long and hot days of summer, the young and intermediate individuals completely disappear from the population. Such evidences suggest that populations decreased in numbers as a response to physiological modifications occurring in the development of immatures, which started to prepare themselves to overcome the short and cold days of the winter as pupae. The recruitment of individuals from pupal diapause only started again in the next spring. These results are also in agreement with population size estimates produced by the Lincoln-Petersen method, which indicated a lower population size during October.

As observed for other butterfly species, females were generally bigger than males. Such pattern is common among Lepidoptera, since allometric and life-history theories predict that the higher abdominal mass of females, which are related to oviposition behavior, may positively influence the body size (Garcia-Ramos 2000). On the other hand, the intrasexual variation in the wing size may be related to the nutritional quality of host

plants and to the quantity of food consumed by the immature during development, as well as abiotic conditions influencing larval development (Schappert & Shore 1998, Rodrigues & Moreira 2004, Jorge *et al.* 2011, Mega 2014).

Regarding the residence time, *B. polystictus* butterflies had lower average values than other Troidini species from Brazil (Cook *et al.* 1971; Freitas & Ramos 2001; Paim & Di Mare 2002; Beirão *et al.* 2012; Herkenhoff *et al.* 2013), but higher residence when compared to North American Papilionidae species (Scott 1973, Matsumoto 1985). While some *Parnassius* butterflies can be resident for approximately two weeks in the same natural area, a *B. polystictus* individual can reside in the area locality for up to three weeks and some *Parides* butterflies for about two months. These differences probably reflect distinct habitat selection preferences, since *Parides* species generally choose closed forest environments, *Battus* species select forest borders and *Parnassius* species are commonly found in open areas (Tyler *et al.* 1994).

Battus polystictus displacements seem to be much more intense than those observed in Neotropical *Parides*. While some *Parides* species from Brazil moved about 250m during their adult stage, reaching up to 950m (Freitas & Ramos 2001; Beirão *et al.* 2012; Herkenhoff *et al.* 2013), *B. polystictus* butterflies displaced about 900m, with a maximum displacement of 2350m. The pattern of movements of adult butterflies in a population depends on the species biology and is deeply related to the availability of resources to larvae and adults (Ehrlich & Gilbert 1973), as well as to mating strategies (Scott 1972). Swallowtail butterflies usually have good flight capacity due to their big thoracic muscles, allowing them to fly across hostile habitats to search for food and oviposition sources (Tyler *et al.* 1994). However, despite having the possibility of displacement, many swallowtail butterfly species show resident behavior as a consequence of their habitat fidelity, as recorded for *Parides* genus (Otero & Brown Jr. 1986; Beirão *et al.* 2012; Herkenhoff *et al.* 2013) and due to territorial behavior, as observed in some *Papilio* species (Lederhouse 1982; Scott 1983). During field surveying, some *B. polystictus* males were sighted defending territories near adult food sources at the forest canopy. Similar behavior is observed in *B. polydamas*, where 90% of the males tend to be more resident than females as a consequence of mating strategy choice (Young 1971). Despite the similarities between the behavior of these two *Battus* species, just a small part of *B. polystictus* males observed in field were performing territorial defense, while the great majority was sighted doing patrolling behavior. The

short residence time recorded for males when compared to females reinforces the hypothesis that the territorial behavior of males may be an alternative mating strategy, as observed for many butterflies (Scott 1972; Choe & Crespi 1997; Hernández & Benson 1998).

Natural history, behavior and the consequences for population dynamics

Several factors can influence the structure of populations, and among the most important ones are the distribution and the abundance of food resources for adults and immature stages (Erlich 1984; Jansen *et al.* 2012), and also the mating strategy used by adults. Furthermore, the abundance of tropical insects is also influenced by the seasonality of resources availability (Wolda 1978; Fagua *et al.* 1998; Nylin *et al.* 2005). Concerning the presence of adult resources, the abundance of *B. polystictus* was related to the availability of flowers during the months, since the places where capture events occurred more frequently were near nectar sources. Some flowers present at the study site, such as *L. camara*, were present throughout all year, whereas flowers from other species, such as *I. uruguensis*, *L. divaricata*, and *J. brasiliiana*, bloomed in different months of the year. Therefore, the foraging and mating strategies, as well as the population dynamics of *B. polystictus* seem to reflect in part the environmental heterogeneity of their home range area. A similar trend was observed for *Battus devilliers* (Ríos & Canamero 2010), a species with similar ecological requirements.

Considering the resources available for immature stages, two host plant species were found at the study site, *A. sessilifolia* and *A. triangularis*, the latter being the most abundant. Nevertheless, the differences in habitat preferences of these two plant species, the variations in abundance throughout the season and the foraging characteristics of *B. polystictus* females suggest that *A. sessilifolia* is not explored as host plant at the study site. The Troidini female butterflies are very selective when choosing a plant for oviposition, seeking for high-quality plants that are suitable as larval food (Tyler *et al.* 1994; Nishida 1995). The suitability of different *Aristolochia* species to *B. polystictus* larvae are not known and should be investigated in the future.

Another interesting result was the behavior of *B. polystictus* females to lay eggs only on *A. triangularis* branches over three meters high. *Battus polystictus* are syntopic with other Troidini species at the study site, namely *Battus polydamas*, *Parides agavus*,

Parides anchises and *Parides bunicus*. Those species use the same plants as host (Beccaloni *et al.* 2008), suggesting the occurrence of resource partitioning among them. Since the solitary *Parides* larvae generally prey on other Troidini eggs and smaller larvae, while gregarious species (e.g. some *Battus*) display no cannibalistic tendencies (Brown Jr. 1981), the present result suggests the *B. polystictus* behavior must be related to adaptive behavior to evade predation by *Parides* larvae, and to avoid competition with *B. polydamas* at the study site. We suspect that such species were subjected to some evolutionary process to allow immature resource sharing over time and space, avoiding direct competition. Such issues deserve proper investigation in the future.

Another individual trait commonly considered under evolutionary pressure is the body size, since it is a plastic trait in which the genotype is affected by the environmental conditions during development (Kingsolver & Huey 2008). Usually a larger size retains the best benefits regarding offspring legacy (Stillwell & Davidowitz 2010; Allen *et al.* 2011), but the causes of sexual size dimorphism are not well understood (Hu *et al.* 2010). Size deviation toward larger females is a common pattern for most species of arthropods (Johnson & Triplehorn 2004) and for some Papilionidae species as well, like *Parides anchises nephalion* (Freitas & Ramos 2001), *Pterourus homerus* (Lehnert 2008) *Parides burchellanus* (Beirão *et al.* 2012) and *B. polystictus* (present study).

The data presented here also suggests that *B. polystictus* butterflies from natural populations are subjected to ecological plasticity which can produce wing size variation. At the beginning of spring, the small average wing size of the first generation after winter may reflect the long-term diapause time to which newly emerged butterflies might have been subjected to. During diapause, swallowtail butterflies may allocate fat reserves to overcome winter, reducing the allocation of energy to size development (Braby & Jones 1995). In late spring, the larger wing sizes of butterflies may indicate an increase in the availability of high-quality host-plants as a consequence of *Aristolochia* vegetative growth. This large offer of host-plants may also produce an increase in the population numbers, producing a modification in the life-histories of competing individuals, reflecting on the decrease of wing size toward late summer. To our knowledge, studies of this kind with Troidini species have not been conducted, and accurate information on the phenotypic plasticity in size for this taxon is not known.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Mr. E. Bernardes for providing access to the area where the study was performed, to the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio) for the collection license (35153-1), and to the National System of Biodiversity Research/National Network for Research and Conservation of Lepidoptera (SiSBiota/RedeLep) for the scholarship provided to VWA (grant #563332/2010). The authors also thank A Caporale, DS Martins, GAG Souza, GWG Atencio, LL Fucilini, LM Sant'Ana, LRF Verane, MO Teixeira and VS Pedrotti for field assistance. NOM was funded by CAPES National Postdoctoral Program (PNPD/CAPES) (grant #23038.8306/2010-62), VWS by Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), HPR by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq). This is the contribution #572 of the Department of Zoology from the Federal University of Rio Grande do Sul.

REFERENCES

- Allen CE, Zwaan BJ, Brakefield PM (2011) Evolution of Sexual Dimorphism in the Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* **56**, 445-64.
- Altmann J (1974) Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour* **49**, 227-267.
- Bailey NTJ (1952) Improvements in the interpretation of recapture data. *Journal of Animal Ecology* **21**, 120-17.
- Backes A (2000) Ecologia da Floresta do Morro do Coco, Viamão, RS. I – Flora e vegetação. *Pesquisas Botânica* **49**, 5-30.
- BDMEP (2014). Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa. Instituto Nacional de Meteorologia [database on the internet]. Available from: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>.
- Beccaloni GW, Vilorio AL, Hall SK, Robins GS (2008) *Catalogue of the hostplants of the Neotropical butterflies*. Monografias Tercer Milenio. Zaragoza (Spain): S.E.A.,RIBES-CYTED, The Natural History Museum, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, 536 pp.

Beirão MV, Campos-Neto FC, Pimenta IA, Freitas AVL (2012) Population Biology and Natural History of *Parides burchellanus* (Papilionidae: Papilioninae: Troidini), an Endangered Brazilian Butterfly. *Annual of the Entomological Society of America* **105**, 36-43.

Braby MF, Jones RE (1995) Reproductive patterns and resource allocation in tropical butterflies: influence of adult diet and seasonal phenotype on fecundity, longevity and egg size. *Oikos* **72**, 189-204.

Brown Jr. KS, Damman HJ, Feeny P (1981) Troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) in southeastern Brazil: natural history and foodplant relationship. *Journal of Research on the Lepidoptera* **19**, 199-226.

Brown Jr. KS, Brown GG (1992) Habitat alteration and species loss in Brazilian forests. In: Whitmore TC, Sayer J (eds) *Tropical deforestation and species extinction*. Chapman and Hall. Londres. pp.119-142.

Brown Jr. KS, Klitzke CF, Berlingeri C, Santos PER dos (1995) Neotropical swallowtails: Chemistry of food plant relationship, population ecology, and biosystematic. In: Scriber JM, Tsubaki Y, Lederhouse RC (eds) *Swallowtail butterflies: their ecology and evolutionary biology*, pp. 405-445. Scientific Press, Gainesville.

Brussard PF, Ehrlich PR (1970) The population structure of *Erebia epipsodea* (Lepidoptera:Satyrinae). *Ecology* **51**, 119-129.

Brussard PF, Ehrlich PR, Singer MC (1974) Adult movements and population structure in *Euphydryas editha*. *Evolution* **28**, 408-415.

Choe JC, Crespi BJ (1997) *The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids*. University Press, Cambridge.

Cook LM, Frank K, Brower LP (1971) Experiments on Demography of Tropical Butterflies. I. Survival Rate and Density in Two Species of *Parides*. *Biotropica* **3**, 17-20.

DeVries PJ (1987) *The butterflies of Costa Rica and Their Natural History*. Princeton University Press, New Jersey.

Ehrlich PR, Davidson SE (1960) Techniques for capture-recapture studies of Lepidoptera populations. *Journal of the Lepidopterists' Society* **14**, 227-229.

- Ehrlich PR (1984) The structure and dynamics of butterfly populations. In: Vane-Wright RI, Ackery PR. *The biology of butterflies*. Academic Press, London. pp.25-40.
- Ehrlich PR, Gilbert LE (1973) Population structure and dynamics of the tropical butterfly *Heliconius ethilla*. *Biotropica* **5**, 69-82.
- Emmel TC, Emmel JF (1969) Selection and Host Overlap in Two Desert Papilio Butterflies. *Ecology* **50**, 158–159.
- Fagua G, Ruiz N, González F, Andrade-C MG (1998) Calidad del hospedero en el ciclo de desarrollo de *Battus polydamas* (Lepidoptera: Papilionidae: Troidini). *Revista Colombiana de Entomología* **24**, 131-140.
- Feeny P (1995) Ecological opportunism and chemical constraints on the host associations of swallowtail butterflies. In: Scriber J M, Tsubaki Y, Lederhouse RC (eds) *Swallowtail butterflies: their ecology and evolutionary biology*, Scientific Press, Gainesville. pp. 9-16.
- Francini RB (2010) CMLR_2010 Programa para estimativas populacionais. Available with author.
- Freitas AVL (1993) Biology and population dynamics of *Placidula euryanassa*, a relict Ithomiine butterfly (Nymphalidae: Ithomiinae). *Journal of the Lepidopterists' Society* **47**, 87-105.
- Freitas AVL, Ramos RR (2001) Population Biology of *Parides anchises nephalion* (Papilionidae) in a costal site in southeast Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **61**, 623-630.
- Garcia-Barros E (2000). Body size, egg size, and their interspecific relationships with ecological and life history traits in butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea, Hesperioidea). *Biological Journal of the Linnean Society* **70**, 251-284.
- Garraway E, Bailey AJA, Emmel TC (1993) Contribution to the ecology and conservation biology of the endangered *Papilio homerus*. *Tropical Lepidoptera* **4**, 83-91.
- Herkenhoff EV, Monteiro RF, Esperanço AP, Freitas AVL (2013) Population biology of the endangered fluminense swallowtail butterfly *Parides ascanius*. *Journal of the Lepidopterists' Society* **67**, 29-34.

- Hernández MIM, Benson WW (1998) Small-male advantage in the territorial tropical butterfly *Heliconius sara* (Nymphalidae): a paradoxical strategy? *Animal Behaviour* **56**, 533-540.
- Hu Y, Xie Y, Zhu F, Wang C, Lei C (2010) Variation in sexual size dimorphism among populations: testing the differential-plasticity hypothesis. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **137**, 204-209.
- Jansen SHDR, Holmgren M, Langevelde FV, Wynhoff I (2012) Resource use of specialist butterflies in agricultural landscapes: conservation lessons from the butterfly *Phengaris (Maculinea) nausithous*. *Journal of Insect Conservation* **16**, 921-930.
- Johnson NF, Triplehorn CA (2004) *Introduction to the Study of Insects*. Thompson Brooks Cole, Belmont.
- Kingsolver JG, Huey RB (2008) Size, temperature, and fitness: three rules. *Evolutionary Ecology Research* **10**, 251-268.
- Klitzke CF, Brown Jr. KS (2000) The occurrence of aristolochic acids in neotropical troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae). *Chemoecology* **10**, 99-102.
- Knob A (1978) Levantamento Fitossociológico da formação mata do Morro do Coco, Viamão, RS, Brasil. *Iheringia Série Botânica* **23**, 65-108.
- Kuefler D, Haddad NM, Hall S, Hudgens B, Bartel B, Hoffman E. (2008) Distribution, Population Structure and Habitat Use of the Endangered Saint Francis Satyr Butterfly, *Neonympha mitchelli i francisci*. *The American Midland Naturalist* **159**, 298-320.
- Lederhouse RC (1995) Comparative mating behavior and sexual selection in North American swallowtail butterflies. In: Scriber J M, Tsubaki Y, Lederhouse RC (eds) *Swallowtail butterflies: their ecology and evolutionary biology*, Scientific Press, Gainesville. pp. 117-132.
- Lehnert MS (2008) The population biology and ecology of the Homerus swallowtail, *Papilio (Pterourus) homerus*, in the Cockpit Country, Jamaica. *Journal of Insect Conservation* **12**, 179-188.
- Lehnert MS, Scriber J M, Gerard PD, Emmel TC (2012) The “Converse to Bergmann’s Rule” in Tiger Swallowtail Butterflies: Boundaries of Species and Subspecies Wing Traits are Independent of Thermal and Host-Plant Induction. *American Entomologist* **58**, 156-165.

- Matsumoto K (1985) Population dynamics of the Japanese clouded Apollo *Parnassius glacialis* Butler (Lepidoptera: Papilionidae). I. Changes in population size and related population parameters for three successive generations. *Research Population Ecology* **27**, 301-312.
- Mega NO (2014) The adult body size variation of *Dryas iulia* (Lepidoptera, Nymphalidae, Heliconiinae) in different populations is more influenced by temperature variation than by host-plant availability during the seasons. *Entomological Science* **17**, 1-10.
- Menegat R, Porto ML, Carraro CC, Fernandes LAD (1998) *Atlas ambiental de Porto Alegre*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Morehouse NI, Mandon N, Christides JP, Body M, Bimbard G, Casas J (2013) Seasonal selection and resource dynamics in a seasonally polyphonic butterfly. *Journal of Evolutionary Biology* **26**, 175-185.
- Nishida R (1995) Oviposition stimulants of swallowtail butterflies. In: Scriber J M, Tsubaki Y, Lederhouse RC (eds) *Swallowtail butterflies: their ecology and evolutionary biology*, Scientific Press, Gainesville. pp. 17-26.
- Nishida R, Fukami H (1989) Ecological adaptation of an Aristolochiaceae feeding swallowtail butterfly, *Atrophaneura alcinous*, to aristolochic acids. *Journal of Chemical Ecology* **15**, 2549-2563.
- Nylin S, Gotthard K, Nygren GH (2005) Seasonal plasticity, host plants, and the origin of butterfly biodiversity. In: Fellowes MDE, Holloway GJ, Rolff J (eds) *Insect Evolutionary Ecology*, CABI Publishing, Wallingford. pp. 111-138.
- Numata H, Hidaka T (1980) Development of males sex cells in the swallowtails, *Papilio xuthus* L. (Lepidoptera: Papilionidae) in relation to pupal diapause. *Applied Entomology Zoology* **15**, 151-158.
- Núñez-Bustos EN (2010) *Mariposas de la ciudad de Buenos Aires y alrededores*. Vazquez Mazini, Buenos Aires.
- Otero LS, Brown Jr. KS (1986) Biology and ecology of *Parides ascanius* (Cramer 1775) (Lepidoptera, Papilionidae), a primitive butterfly threatened with extinction. *Atala* **10/12**, 2-16.

- Paim AC, Di Mare RA (2002) Ecologia de Papilionidae I: Parâmetros biológicos e demográficos de *Parides agavus* (Papilioninae, Troidini) no sul do Brasil. *Biociências* **10**, 33-48.
- Pinheiro F, Diniz IR, Coelho D, Bandeira MPS (2002) Seasonal pattern of insect abundance in the Brazilian Cerrado. *Austral Ecology* **27**, 132-136.
- Ríos OM, Canamero AB (2010) Temporal and spatial segregation of *Battus devilliers* and *Battus polydamas cubensis* (Papilionidae) in La Habana, Cuba. *Journal of Research on the Lepidopterist* **42**, 52-63.
- Romanowski HP, Gus R, Araujo AM (1985) Studies on the genetics and ecology of *Heliconius erato* (Lepidoptera Nymphalidae) III. Population size, preadult mortality, adult resources and polymorphism in natural populations. *Revista Brasileira de Biologia* **45**, 563-569.
- Saalfed K, Araújo AM (1981) Studies on the genetics and ecology of *Heliconius erato* (Lepidoptera, Nymphalidae). I: Demography of natural population. *Revista Brasileira de Biologia* **41**, 855-860.
- Scott JA (1972) Mating of Butterflies. *Journal of Research on the Lepidoptera* **11**: 99-127.
- Scott JA (1973) Population biology and adult behavior of the circumpolar butterfly, *Parnassius phoebus* (Papilionidae). *Entomologica Scandinavica* **4**, 161-168.
- Scott JA (1983) Mate-location behavior of western North American butterflies. II. New observations and morphological adaptations. *Journal of Research on the Lepidoptera* **21**, 177-187.
- Scriber JM, Keefover K, Nelson S (2002) Hot summer temperatures may stop movement of *Papilio Canadensis* butterflies and genetic introgression south of the hybrid zone in the North American Great Lakes region. *Ecography* **25**, 184-192.
- Scriber JM, Sonke B (2011) Effects of diurnal temperature range on adult size and emergence time from diapausing pupae in *Papilio glaucus* and *P. canadensis* (Papilionidae). *Insect Science* **18**, 435-442.
- Silveira FS, Miotto STS (2013) A família Fabaceae no Morro Santana, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil: aspectos taxonômicos e ecológicos. *Brazilian Journal of Biosciences* **11**, 93-114.

- Sims SR (1980) Diapause dynamics and host plant suitability of *Papilio zelicaon* (Lepidoptera: Papilionidae). *American Midland Naturalist* **103**, 375-384.
- Sims SR (1983) Prolonged diapause and pupal survival of *Papilio zelicaon* Lucas (Lepidoptera: Papilionidae). *Journal of the Lepidopterists' Society* **37**, 29-37.
- Sims SR, Shapiro AM (1983) Seasonal Phenology of *Battus philenor* (L.) (Papilionidae) in California. *Journal of the Lepidopterists' Society* **37**, 281-288.
- Stillwell RC, Davidowitz G (2010) Sex differences in phenotypic plasticity of a mechanism that controls body size: implications for sexual size dimorphism. *Proceedings of the Royal Society Biological Science* **277**, 3819-3826.
- Tyler H, Brown Jr. KS, Wilson K (1994) *Swallowtail Butterflies of the Americas. A study in Biological Dynamics, Ecological Diversity, Biosystematics and Conservation*. Scientific Publishers, Gainesville. 375 p.
- Walter H (1985) *Vegetation of the Earth*. Springer-Verlag, Berlin.
- Wang XP, Yang QS, Zhou XM, Xu S, Lei CL (2009) Effects of photoperiod and temperature on diapause induction and termination in the swallowtail, *Serzinus montelus*. *Physiological Entomology* **34**, 158-162.
- Weintraub JD (1995) Host plant association patterns and phylogeny in the tribe Troidini (Lepidoptera: Papilionidae). In: Scriber JM, Tsubaki Y, Lederhouse RC (eds) *Swallowtail butterflies: their ecology and evolutionary biology*, Scientific Press, Gainesville. pp. 307-316.
- Wolda H (1978) Seasonal fluctuations in rainfall, food and abundance of tropical insects. *Journal of animal ecology* **47**, 369-381.
- Yamamoto K, Tsujimura Y, Kometani M, Kitazawa C, Islam ATMF, Yamanaka A (2011) Diapause pupal color diphenism induced by temperature and humidity conditions in *Byasa alcinous* (Lepidoptera: Papilionidae). *Journal of Insect Physiology* **57**, 930-934.
- Young A (1971) Mimetic associations in natural populations of tropical papilionid butterflies. I. life history and structure of a tropical dry forest breeding population of *Battus polydamas polydamas*. *Revista de Biologia Tropical* **19**, 211-240.



Figure 1. Different landscape formations present at Morro do Coco, Viamão, RS, Brazil. Open grasslands (A), hill slope forest (B), lowland moist forest (C) and Restinga forest (D).

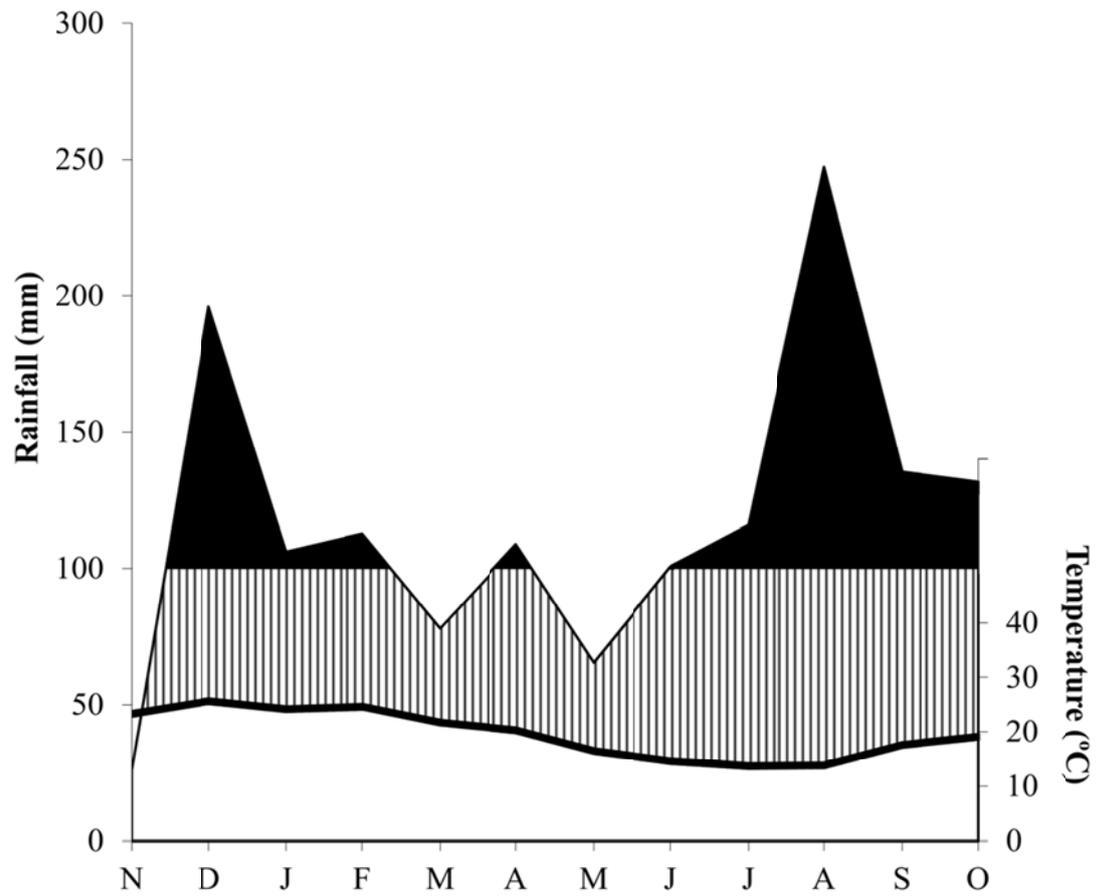


Figure 2. Climatic diagram from November 2012 to October 2013 at Morro do Coco, Viamão, RS, Brazil (according to Walter 1985). Black, superhumid periods; crosshatched, humid periods.

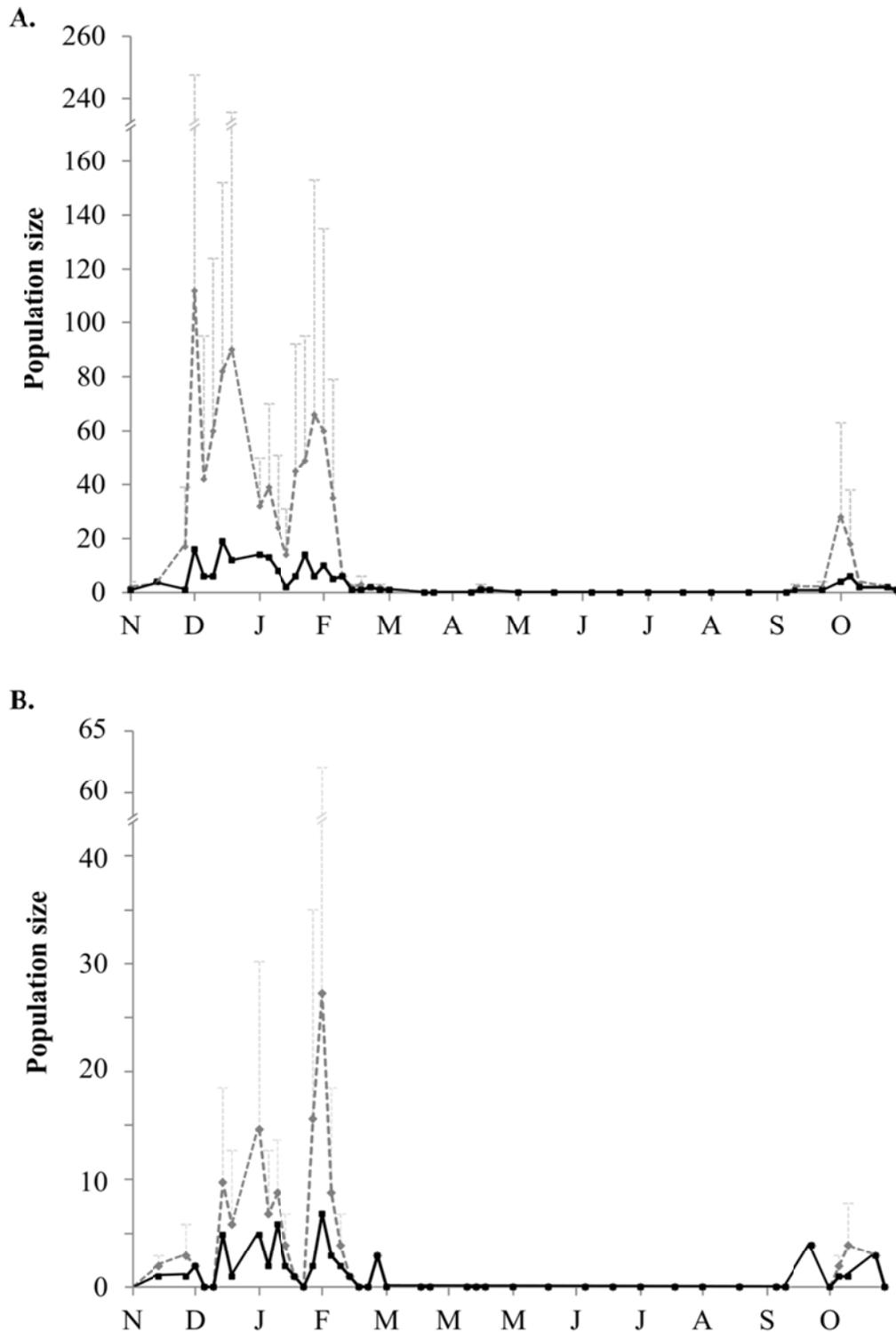


Figure 3. Number of males (A) and females (B) of *Battus polystictus* from November 2012 to October 2013 at Morro do Coco, Viamão, RS, Brazil. Black circles are the number of individuals present per day, gray diamonds are the estimated number and standard error based on the Lincoln-Petersen method.

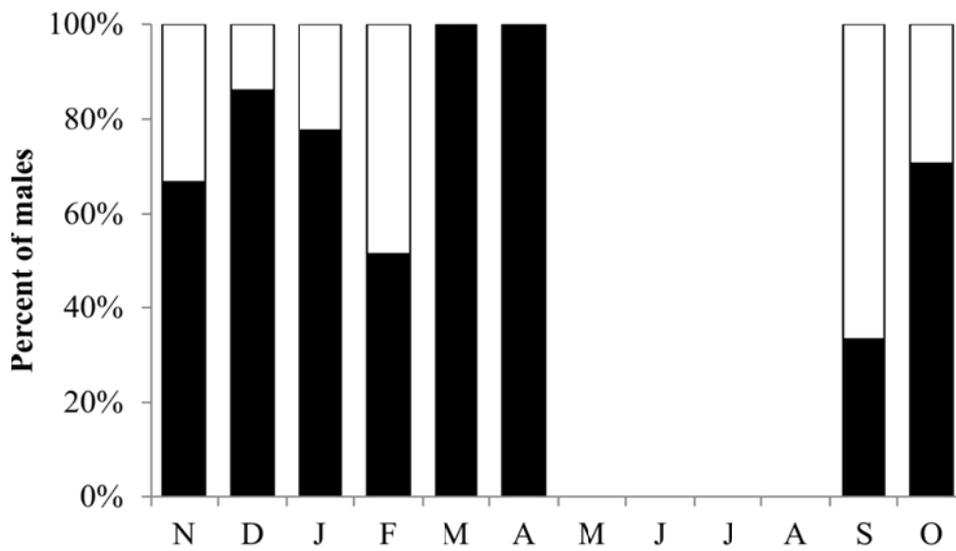


Figure 4. Sex ratio of *Battus polystictus* from November 2012 to October 2013 at Morro do Coco, Viamão, RS, Brazil. Data presented as the percentage of males (in black) by month (based on daily means of captures). Data from May 2013 to August 2013 is blank due to the absence of butterflies during the period.

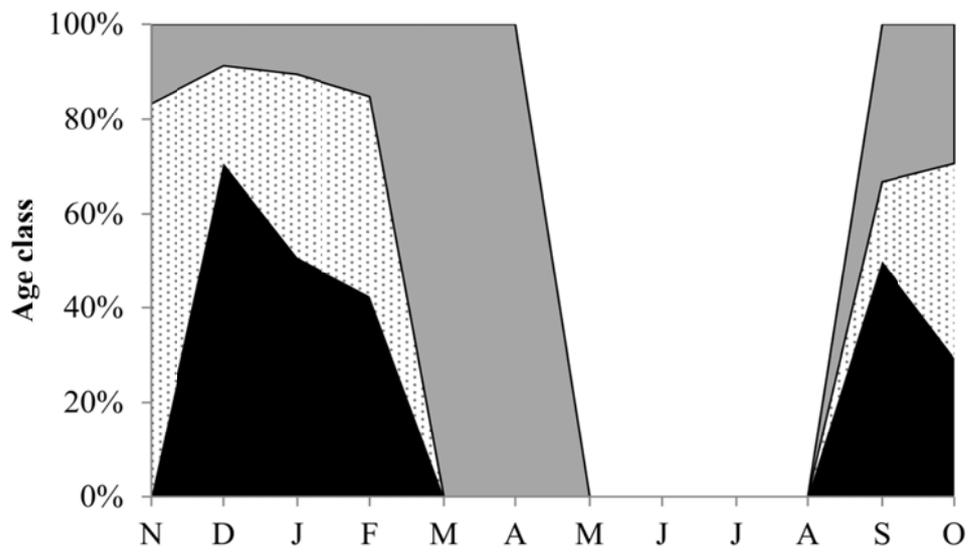


Figure 5. Age structure of *Battus polystictus* population from November 2012 to October 2013 at Morro do Coco, Viamão, RS, Brazil. Black, new individuals; gray, intermediate; crosshatched, old. The white area from May 2013 to August 2013 represents the absence of butterflies during this period.

Table 1. Month average of wing size (mm) for females and males of *Battus polystictus polystictus*, from November 2012 to October 2013, at Morro do Coco, Viamão, RS, Brazil. Data from May to August is not shown due to the absence of butterflies during the period.

Year	Month	Wing size (mean \pm standard error)	
		Females	Males
2012	November	51.01 \pm 0.07	49.16 \pm 1.55
	December	52.65 \pm 1.32	48.72 \pm 7.37
	January	50.63 \pm 1.85	48.26 \pm 2.43
2013	February	50.96 \pm 2.25	46.97 \pm 1.91
	September	47.64 \pm 2.30	47.47 \pm 0.18
	October	48.73 \pm 3.26	45.76 \pm 1.63
	Mean	50.64 \pm 2.40	48.08 \pm 4.44

ARTIGO 2

Manuscrito a ser submetido à revista

Journal of Insect Science

Título:

Interações ecológicas entre *Battus polydamas* e *Battus polystictus* (Lepidoptera, Papilionidae, Troidini): evidências de dinâmicas populacionais, seleção de hábitat e histórias de vida.

Autores: Vanessa Willems Scalco^{1,*}, Ana Beatriz Barros de Moraes², Helena Piccoli Romanowski^{1,3}, Nicolás Oliveira Mega^{1,3}.

Filiações

¹ Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do. Av. Bento Gonçalves 9500/43435. Código Postal 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

² Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Faixa de Camobi, km 9, Código Postal 97105-900. Santa Maria, RS, Brasil.

³ Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves 9500/43435. Código Postal 91501-970. Porto Alegre, RS, Brasil.

*AUTORA PARA CORRESPONDÊNCIA.

Emails: vanessawscalco@gmail.com, abdemorais@gmail.com, hpromano@ufrgs.br, nicolas.mega@gmail.com

Título de execução: Interações ecológicas entre *B. polydamas* e *B. polystictus*.

Resumo: A distribuição espacial de insetos ao longo dos ambientes é influenciada por fatores bióticos e abióticos, estando ligada a mecanismos de seleção e especificidade de hábitat. Assim, insetos especialistas e generalistas apresentam requerimentos ecológicos diferentes, geralmente relacionados às limitações neurofisiológicas das espécies em explorar ambientes com qualidades diferentes. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar se as dinâmicas populacionais da borboleta generalista *B. polydamas* e da especialista *B. polystictus* podem ser explicadas com base na estrutura fisionômica das áreas de ocorrência, na disponibilidade de plantas hospedeiras, e adequabilidade das fontes alimentares utilizadas pelas larvas. Para tanto foi utilizada uma abordagem integrada entre estudos de campo e laboratório. Os resultados obtidos sugerem que as duas espécies de *Battus* possuem seletividades ambientais diferentes. *Battus polydamas* é menos seletiva, podendo utilizar com sucesso áreas abertas e antropizadas; *B. polystictus* é mais exigente, ocorrendo somente em áreas de mata higrófila preservada. Os picos populacionais das duas espécies não se sobrepuseram, sugerindo que as dinâmicas demográficas diferentes podem estar evitando a sobreposição temporal entre as populações. Ambas as espécies são capazes de utilizar como hospedeiras tanto *Aristolochia sessilifolia* como *Aristolochia triangularis*, mas com desempenhos distintos. *Battus polydamas* apresentou desempenho similar em ambas hospedeiras, enquanto *B. polystictus* mostrou melhor desempenho em *A. triangularis*. Em simpatria, onde apenas *A. triangularis* está presente, parece haver compartilhamento de recursos entre as duas espécies de *Battus*, que são mantidas por adaptações comportamentais; enquanto *B. polydamas* oviposita em ramos baixos de hospedeiras, *B. polystictus* coloca os ovos em ramos altos. Futuras investigações sobre as interações com outras hospedeiras deverão ser feitas para identificar porque a oviposição não ocorre em certas plantas, mesmo que haja aceitação e desenvolvimento das larvas nelas, e como a exclusão competitiva por recursos larvais pode ter influenciado o comportamento de oviposição das fêmeas.

Palavras-chave: *Aristolochia*, desempenho larval, compartilhamento de recursos, marcação-recaptura, preferências ecológicas, seleção de hábitat.

INTRODUÇÃO

A distribuição espacial de borboletas ao longo dos ambientes é influenciada por fatores bióticos e abióticos, tais como as características da paisagem, ocorrência de plantas hospedeiras, disponibilidade de flores com néctar, condições microclimáticas e interações intra e interespecíficas (Loertscher *et al.* 1995; Hardy *et al.* 2007; Janzen *et al.* 2012). Apesar de se tratar de um conceito complexo, dependente da escala em que são analisadas as interações ecológicas de uma espécie, comumente os táxons são categorizados em generalistas e especialistas. As espécies generalistas, por possuírem grande plasticidade ecológica, geralmente apresentam extensas distribuições geográficas e utilizam uma ampla gama de hospedeiras, como consequência adaptativa da disponibilidade de plantas presentes em fisionomias distintas. Por sua vez, espécies especialistas apresentam pequena plasticidade ecológica, normalmente possuem distribuições geográficas restritas e utilizam uma menor gama de hospedeiras, como consequência da especificidade de habitat e de restrições adaptativas aos recursos alimentares disponíveis em fisionomias particulares (Bernays 1999, Dennis *et al.* 2005).

De acordo com Kursar e colaboradores (2006) a disponibilidade e a previsibilidade de certo alimento tem se mostrado como fator chave na escolha ou preferência da dieta nos insetos. Além disso, as habilidades de reconhecimento das plantas hospedeiras podem variar conforme o grau de especialização dos herbívoros (Janz e Nylin 2008). Neste contexto, as habilidades de insetos especialistas e generalistas estariam relacionadas às limitações neurológicas das espécies. Insetos especialistas normalmente encontram e selecionam suas plantas hospedeiras através de sinais fortes ou bem definidos, que sobrepõe o ruído ambiental através da canalização da informação sensorial apropriada por reforço positivo. As espécies generalistas apresentam mecanismos de detecção de sinais que são menos sensíveis aos ruídos ambientais, sendo comumente reforçados negativamente. Assim, em insetos especialistas a sinalização necessária para disparar o estímulo de alimentação pode ser muito mais simples do que os processos envolvidos na detecção dos compostos presentes em hospedeiras diferentes (Bernays 1996).

Os efeitos das interações entre organismos, no tocante às influências sobre as abundâncias das espécies e variações fenotípicas, vêm sendo estudados com grande intensidade nas últimas décadas sob o ponto de vista evolutivo e ecológico (Strauss & Irwin 2004). De modo geral, a comparação das características populacionais de espécies

diferentes pode ajudar a melhorar o entendimento sobre as alterações nas dinâmicas das populações (Wallner 1987), permitindo a verificação de diferenças nos requerimentos ecológicos de diferentes espécies. Como as flutuações populacionais dos insetos são influenciadas por diversos fatores como a disponibilidade de recursos e a capacidade de suporte ambiental (Dempster e Pollard 1981), o monitoramento de populações tem se mostrado uma ferramenta útil para esclarecer quais fatores ecológicos que têm influência sobre as espécies, em particular para borboletas (Freitas e Ramos 2001). No entanto, estudos desta natureza são escassos em insetos, e os poucos existentes estão voltados para mostrar que as densidades populacionais das espécies estão relacionadas à fragmentação e continuidade das áreas de vida, bem como a particularidades existentes na paisagem (Krauss *et al.* 2003).

Outra característica importante das espécies, no que se refere à adaptação dos indivíduos para evitar situações de competição como outros grupos, é a capacidade de movimentação dos indivíduos. Em Lepidoptera, esta característica pode favorecer o isolamento de populações, fazendo com que as borboletas selecionem o hábitat de acordo com as plantas hospedeiras existentes nos locais (Janz e Nylin 2008). Nesse sentido, as especializações entre generalistas e especialistas ocorrem de acordo com os requerimentos ecológicos de cada espécie. As relações entre o uso de plantas hospedeiras e borboletas da família Papilionidae (Lepidoptera) vêm sendo intensamente estudadas ao longo das últimas décadas (Scriber e Feeny 1979; Scriber 1986; Morais e Brown Jr. 1991; Berenbaum 1995; Scriber *et al.* 2008). Em particular, as espécies da tribo Troidini são amplamente conhecidas por sua estreita relação com espécies de plantas do gênero *Aristolochia* (Brown Jr. *et al.* 1981, Weintraub 1995), relação esta que teria surgido através de processos coevolutivos ocorridos entre herbívoros e plantas (Ehrlich e Raven 1964). As lagartas destas espécies são conhecidas por sequestrarem compostos secundários presentes nas plantas hospedeiras, transformando os metabólitos das plantas em compostos protetores contra a ação de predadores (Rothschild *et al.* 1970; Nishida e Fukami 1989; Klitzke e Brown Jr. 2000; Sime *et al.* 2000).

Entre os Troidini (Lepidoptera, Papilionidae), o gênero *Battus* apresenta 11 espécies de distribuição Neotropical (Häuser *et al.* 2005) e uma de ocorrência Neártica (Tyler *et al.* 1994). No Brasil ocorrem cinco espécies do gênero, totalizando nove diferentes subespécies (Tyler *et al.* 1994). Entre elas destaca-se *Battus polydamas polydamas* (Linnaeus, 1758) (doravante *B. polydamas*), por apresentar a maior distribuição

geográfica entre todos os Troidini, distribuindo-se do Arizona e Texas, nos EUA, até o norte do Peru e Argentina central (Tyler *et al.* 1994). Os indivíduos desta espécie são encontrados em ambientes perturbados, áreas abertas, jardins de cidades, em pastagens e florestas impactadas (Núñez-Bustos 2010), sendo considerada uma espécie com hábitos ecológicos pouco exigentes (Canals 2003; Núñez-Bustos 2010). Já *Battus polystictus polystictus* (doravante *B. polystictus*) se distribui desde as regiões Sul e Sudeste do Brasil, até a Argentina (Tyler *et al.* 1994). Ocorre em interior ou borda de matas úmidas, possui o voo rápido e planado (Núñez-Bustos 2010), apresentando exigências ecológicas maiores quanto ao tipo de habitat (DeVries 1987; Canals 2003; Núñez-Bustos 2010). Segundo compilação de dados realizada por Beccaloni e colaboradores (2008), imaturos de *B. polydamas* foram observados em mais de 50 diferentes espécies de plantas como hospedeiras, enquanto *B. polystictus* foi observada apenas três espécies. Estes padrões de herbivoria categorizariam as duas espécies de *Battus*, respectivamente, como polífaga e oligófaga (*sensu* Bernays & Chapman 1994). As plantas hospedeiras de *Battus* fazem parte da família Aristolochiaceae, sendo o gênero *Aristolochia* o maior em número de espécies (Kelly e Gonzáles 2003). No Brasil ocorrem cerca de 90 espécies (Leitão e Kaplan 1992), enquanto que para o extremo sul do país registram-se nove espécies (Giehl 2012). As plantas deste gênero são geralmente sub-arbustos e lianas, que possuem folhas de diferentes formatos apresentado filotaxia simples ou alterna (Ahumada 1975). Possuem como característica química principal a produção de ácidos aristolóquicos, ácidos labdonóicos e alcaloides benzilisoquinolínicos, que geralmente são associados a processos de defesa contra ação de herbívoros (Nishida e Fukami 1989). Nem todas as espécies de *Aristolochia* possuem os mesmos compostos distribuídos igualmente pelas diferentes estruturas da planta. No entanto, a presença ou ausência destes compostos pode influenciar nas escolhas de diferentes espécies de Troidini quanto ao uso de distintas espécies como hospedeira (Klitzke 1992). A primeira barreira seletiva para o uso de diferentes espécies de plantas ocorre no comportamento de oviposição, de modo que a seleção de hospedeira desempenha um papel importante na determinação da amplitude da dieta e na aceitação de novas plantas como fontes alimentares (ver discussão em Silva *et al.* 2014). Contudo, a ocorrência de alta especificidade na seleção da dieta reflete mais do que modificações comportamentais frente à disponibilidade de recursos, sendo comumente observado que a escolha também reflete *trade-offs* entre desempenho de desenvolvimento e disponibilidade de fontes alimentares (Joshi e Thompson 1995, Janz e Nylin 1997).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar se as dinâmicas populacionais de *B. polydamas* e *B. polystictus*, durante seus picos de densidade, podem ser explicadas com base na (1) estrutura fisionômica das áreas de ocorrência, (2) na disponibilidade de plantas hospedeiras, (3) na adequabilidade das fontes alimentares utilizadas pelas larvas. Para tanto foi utilizada uma abordagem integrada entre estudos de campo, envolvendo monitoramento das populações das espécies de borboletas e de plantas hospedeiras, além de experimentos de laboratório em condições controladas, visando determinar as condições de adequabilidade e desempenho de desenvolvimento em diferentes espécies de *Aristolochia*.

MATERIAL E MÉTODOS

Áreas de estudo

Foram selecionadas duas áreas com diferentes graus de manejo e conservação na cidade de Porto Alegre, RS, Brasil, onde tanto *B. polydamas* como *B. polystictus* já haviam sido registradas. O clima na região é do tipo Köppen Cfa, com verões quentes e invernos frios. A temperatura média mensal varia de 15,6 a 24,8°C, sendo as maiores médias observadas em janeiro e fevereiro, enquanto a pluviosidade mensal varia entre 88 e 133 mm, sendo mais concentrada entre junho e setembro (Menegat *et al.* 1998). A primeira das áreas escolhidas foi o Jardim Botânico de Porto Alegre (JB) (30°03' 04"W, 51°10' 34"S) (Fig. 1A e 1B). O JB consiste em uma área verde urbana de 40,5 ha localizada na feição geomorfológica de origem granítica denominada Crista da Matriz, que tem altitude máxima de 134 m. Atualmente, o JB apresenta grande variedade de ambientes naturais e artificiais, contendo tanto plantas nativas como exóticas (Fig. 1B), que incluem jardins, arboretos, gramados, áreas com mata secundária, capoeiras, lagos, banhados e espaços urbanizados (FZB 2004). Segundo Bueno & Martins (1986), nos locais mais úmidos ocorrem espécies arbustivas e subarbustivas; onde o solo é seco destacam-se os grvatás e as gramíneas. A área da trilha utilizada para as amostragens no JB abrangeu um mosaico de paisagens, incluindo ambientes de borda de mata nativa e ambientes abertos de campos e jardins (Fig. 1B).

A segunda área escolhida foi o Morro Santana (MS) (30°03' 32"W, 51°07' 25"S) (Fig. 1C e 1D). O MS consiste de uma área verde natural de 1000 ha, localizado na feição geomorfológica de origem granítica denominada Crista de Porto Alegre, que tem altitude máxima de 311 m. O solo da região é arenoso e pouco desenvolvido,

apresentando granito pouco alterado nas porções altas, em afloramentos rochosos sob a forma de lajeados e matacões, e depósitos aluviais arenosos nas terras baixas (Menegat *et al.* 1998; Phillip *et al.* 2009). Atualmente, com a expansão da fronteira urbana, os campos da face norte do MS foram parcialmente substituídos por zonas urbanizadas, enquanto os cerca de 600 ha de floresta da face sul permaneceram preservados (Menegat *et al.* 1998). A área da trilha utilizada para as amostragens estava localizada na base da face sul do MS, onde predomina a formação vegetal do tipo florestal (Fig. 1D).

Amostragens das borboletas

As amostragens das populações de *Battus* foram conduzidas entre novembro de 2011 à fevereiro de 2013, quando são observadas as maiores abundâncias das duas espécies na região. Foram realizadas três expedições por mês em cada área, em trilhas de aproximadamente 750 m cada. As trilhas foram percorridas entre 9h00 e 13h00 (horário solar) por dois amostradores munidos com rede entomológica, totalizando um esforço amostral de 24 horas rede-mês para cada localidade. Os indivíduos capturados foram marcados no centro da célula discal das asas posteriores com um código numérico único, com caneta de tinta permanente, e posteriormente liberados no mesmo local de captura. Para cada indivíduo capturado/recapturado foram registradas as seguintes informações: idade (baseado no desgaste das asas, conforme Ehrlich e Gilbert 1973), sexo (através da inspeção da genitália), tamanho da asa anterior (inserção da asa anterior no tórax e a terminação da veia R4) e o código numérico de captura.

Estimativas dos parâmetros populacionais

Os dados obtidos por marcação-recaptura foram analisados pelo método de Lincoln-Petersen, com correção de continuidade de Bailey para amostras pequenas, utilizando o software CMRL (Francini 2010a). Para estimar o número de indivíduos presentes por dia, os indivíduos recapturados foram considerados como estando presentes em todos os dias desde a primeira captura (Freitas 1996; Freitas e Ramos 2001). O tempo de residência dos indivíduos na população foi calculado como base no número de dias decorridos entre a primeira marcação e a última recaptura do mesmo indivíduo (Brussard *et al.* 1974).

Plantas hospedeiras presentes nas áreas de estudo

Para avaliar a presença de plantas hospedeiras no JB e no MS, foi realizado o censo das espécies de *Aristolochia* presentes em cada área de estudo. O mapeamento das hospedeiras foi realizado a cada mês de amostragem em campo, seguindo as mesmas trilhas utilizadas para a amostragem das borboletas. Todos os ramos ou touceiras de *Aristolochia* contendo pelo menos uma folha madura e uma gema apical foram contabilizados com um indivíduo. Eventuais registros de ocorrência de formas imaturas de *B. polydamas* e *B. polystictus* nas plantas analisadas foram contabilizadas.

Testes de desempenho larval em diferentes plantas hospedeiras

Para determinar o desempenho larval de *B. polydamas* e *B. polystictus* nas diferentes plantas hospedeiras presentes no JB e MS, ovos das duas espécies foram coletados em campo e acondicionados individualmente em potes de 400 ml, forrados com papel-toalha umedecido, e levados ao laboratório. Os potes foram mantidos em condições controladas em incubadora do tipo B.O.D. (Eletrolab, modelo 102 G) em temperatura de 25° C e fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro até a eclosão dos ovos. As larvas provenientes dos ovos foram submetidas a testes de aceitação e desempenho em diferentes plantas hospedeiras, utilizando as mesmas condições de incubação dos ovos e com oferta *ad libitum* de folhas frescas. O delineamento utilizado contou com dois grupos de teste (*B. polydamas* e *B. polystictus*) e dois tratamentos experimentais (*Aristolochia triangularis* e *Aristolochia sessilifolia*)(conforme Lewis e Van Emden 1986). Cada indivíduo usado nos testes foi acompanhado de primeiro instar até a emersão do adulto, sendo anotado se houve consumo da planta, o tempo de desenvolvimento e a mortalidade em cada estágio. Foi considerada como aceita a hospedeira se houve consumo da planta oferecida, permitindo que o imaturo realizasse a primeira muda. Foram consideradas medidas de desempenho o tempo necessário para completar o ciclo de desenvolvimento de primeiro instar até pupa, a taxa de sobrevivência e o peso das pupas no segundo dia após o empupamento (conforme Klitzke 1992).

Análises estatísticas

A abundância das espécies de *Aristolochia* encontradas no JB e MS foi avaliada através de uma tabela de contingência 2x2. O tempo de desenvolvimento foi analisado para normalidade, através do teste de Kolmogorov-Smirnov, e com o teste *t* de Student. As taxas de mortalidade ao longo dos estágios de desenvolvimento e estádios larvais entre as espécies de *Battus* alimentadas com diferentes espécies de *Aristolochia* foram comparadas através do Teste Exato de Fischer, com correção por FDR (Benjamini e Hochberg 1995). Para verificar a diferença entre médias de peso das pupas, os dados foram primeiro analisados para normalidade, através do teste de Kolmogorov-Smirnov, e subsequentemente comparados através do teste de Mann-Whitney.

RESULTADOS

Ocorrência das espécies de Battus e dinâmicas populacionais:

No JB foram capturados 81 adultos de *B. polydamas* e dois de *B. polystictus*, sendo 40% de *B. polydamas* recapturados ao menos uma vez durante as amostragens. A eficiência de captura variou entre 34% e 43% (média de 39%) para *B. polydamas*. O número de indivíduos de *B. polydamas* capturados/recapturados por dia variou entre quatro e 23 borboletas (média = 4,33) (Fig. 2A), enquanto o número médio de indivíduos de *B. polystictus* capturados/recapturados foi inferior a um por dia. Os números de capturas e recapturas de *B. polystictus* foram baixos no JB, não permitindo a realização de estimativas populacionais precisas. Como padrão geral, as estimativas de tamanho populacional de *B. polydamas* sugerem um gradativo aumento no número de indivíduos à medida que se chega próximo ao meio do verão, com tendência de decaimento populacional para o final da estação mais quente (Fig. 2A). A menor estimativa de tamanho populacional foi observada no início de novembro de 2011 (6 ± 3 indivíduos) enquanto que a maior foi observada no final de janeiro de 2012 (168 ± 224 indivíduos).

No MS, foram capturados 33 adultos de *B. polydamas* e 145 de *B. polystictus*, sendo que 28 deles foram recapturados ao menos uma vez. A eficiência de captura variou entre 8% e 58% (média de 36%) para *B. polydamas*, e entre 29% e 57% (média de 32%) para *B. polystictus*. O número de indivíduos de *B. polydamas* capturados/recapturados por dia variou entre um e seis (média de 0,91), enquanto o número de *B. polystictus*

capturados/recapturados por dia variou de zero a 29 borboletas (média de 6,16) (Fig. 2B). Os números de recapturas de *B. polydamas* foram baixos no MS, inviabilizando realização de estimativas populacionais precisas. De forma geral, as estimativas de tamanho populacional sugerem um aumento nos tamanhos populacionais à medida que se chega próximo ao verão. Observa-se um grande aumento populacional em dezembro, e outro de menor intensidade em janeiro. Em fevereiro a população mostrou um grande decréscimo no tamanho populacional, chegando à zero no final do mês (Fig. 2B). A menor estimativa de tamanho populacional foi obtida para novembro de 2011 (2±1 indivíduos) enquanto que a maior estimativa foi obtida para dezembro de 2012 (242±261 indivíduos).

Parâmetros analisados das populações:

Em função dos baixos números de recapturas de *B. polystictus* no JB e *B. polydamas* no MS, os parâmetros apresentados a seguir se referem às populações de *B. polydamas* no JB e de *B. polystictus* no MS.

Proporção sexual: A razão sexual encontrada foi ligeiramente desviada em favor dos machos para ambas as espécies nas duas localidades (Tabela 1). Na população de *B. polydamas* do JB foram capturados 49 machos e 32 fêmeas no total (1,5M: 1F). Contudo, estas diferenças não foram estatisticamente significativas ($\chi^2=3,568$; $p=0,0589$). Os machos dominaram as capturas na maioria dos meses, com exceção no mês de dezembro (2,5F: 1M). Já na população de *B. polystictus* do MS os machos dominaram as capturas em todos os meses de coleta, sendo capturados 113 machos e 32 fêmeas no total (3,5M: 1F). Esta diferença entre as proporções sexuais foi significativa em todos os meses de amostragens ($\chi^2=45,248$; $p<0,0001$).

Tamanho dos adultos: O tamanho corporal médio das duas espécies variou pouco entre os meses de amostragem nas duas localidades (Tabela 1). Entre as fêmeas de *B. polydamas* do JB, o tamanho das asas oscilou entre 37,25 a 53,34 mm enquanto que nos machos variou entre 38,62 e 52,14 mm, sendo o tamanho médio das fêmeas significativamente maiores do que o tamanho dos machos ($t=3,675$; $p<0,0001$). Nas populações de *B. polystictus* do MS, tamanho das asas das fêmeas variou entre 45,22 e

53,89 mm, e dos machos variou entre 42,25 e 52,03 mm, sendo o tamanho médio das fêmeas significativamente maiores do que o dos machos ($t=5,2261$; $p<0,0001$).

Tempo de residência: O tempo de residência médio para os indivíduos da população de *B. polydamas* no JB foi de 5,11 dias, com o máximo de permanência registrada de 51 dias. O tempo de residência médio para os indivíduos da população de *B. polystictus* foi de 1,34 dias, com o máximo de permanência de 34 dias.

Estrutura etária: A estruturação etária de *B. polydamas* no JB, ao longo das ocasiões de amostragem, mostrou predominância de jovens e intermediários (Fig. 3A). Indivíduos tenerais foram capturados em baixa densidade em todos os meses. A quantidade de indivíduos velhos foi ligeiramente superior aos tenerais, sugerindo que o recrutamento de indivíduos novos, recém-emergidos da pupa, é relativamente baixo. Outra característica marcante da população de *B. polydamas* no JB foi a estruturação diversificada entre as classes etárias no mês de janeiro, justamente a época onde foram obtidas as maiores estimativas de tamanho populacional. Nesse período, a proporção de indivíduos velhos foi equivalente à proporção de indivíduos jovens. Já a estruturação etária de *B. polystictus* no MS indicou a predominância de jovens e intermediários durante o período amostrado (Fig. 3B). Os indivíduos intermediários predominaram no mês de novembro, chegando a representar 65% do total capturado. Ainda em novembro, a proporção de indivíduos velhos foi a maior entre todos os meses amostrados. A partir de dezembro foi observada uma diminuição expressiva na proporção de indivíduos velhos, dando lugar aos tenerais e jovens, que começaram a ser capturados em maior frequência.

Disponibilidade de plantas hospedeiras

Apenas duas espécies de *Aristolochia* foram registradas no JB e no MS, *A. sessilifolia* e *A. triangularis*. No JB foi registrada maior abundância de *A. sessilifolia*, sendo a proporção de *A. triangulares* inferior a 5%. No MS, *A. triangularis* foi a mais abundante, sendo a proporção de *A. sessilifolia* inferior a 5% do total de hospedeiras (Tabela 2). Foram observados ovos e larvas de *B. polydamas* em *A. sessilifolia* no JB, e em *A. triangularis* no MS entre 0,3 e três metros de altura. Imaturos de *B. polystictus* foram observados somente em *A. triangularis* no MS, sempre em alturas superiores a três metros (Fig. 4). Em nenhuma *A. triangularis* inspecionadas foi observada sintopia de formas imaturas das duas espécies de *Battus* ocorrendo na mesma porção de um mesmo ramo.

Desempenho de Battus em diferentes plantas hospedeiras:

Em geral, *B. polydamas* se desenvolve de maneira equivalente em ambas as espécies de plantas hospedeiras. O peso médio das pupas não diferiu significativamente entre os sexos dos imaturos alimentados com as diferentes plantas hospedeiras (Fêmeas: $t = 0,353$; $p = 0,727$; Machos: $t = 0,895$; $p = 0,375$. Fig. 5A). Com relação ao tempo de desenvolvimento, houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos (*A. sessilifolia* = $11,09 \pm 2,21$ dias, *A. triangularis* = $14,11 \pm 4,04$ dias; $t = -6,096$, $p = 0,005$) (Fig. 6). Com *B. polystictus* os testes mostraram que as larvas têm melhor desempenho em *A. triangularis*. Houve diferença significativa entre o peso das pupas em ambos sexos quando alimentadas em diferentes plantas hospedeiras ($U_{fêmeas} = 0$, $p = 0,008$; $U_{machos} = 0$; $p = 0,05$. Fig. 5B). Também foi observada diferença significativa no tempo de desenvolvimento entre os imaturos alimentados com diferentes hospedeiras (*A. sessilifolia* = $22,28 \pm 2,57$ dias; *A. triangularis* = $18,09 \pm 4,69$ dias; $t = 4,395$; $p = 0,0004$. Fig. 6).

As curvas de sobrevivência indicaram que as espécies de *Battus* apresentaram desempenhos distintos quando alimentadas com diferentes hospedeiras. Os resultados sugerem que a adequabilidade de ambas as plantas para *B. polydamas* são equivalentes, enquanto que para *B. polystictus* a melhor adequabilidade ocorre em *A. triangularis*. *Battus polydamas* teve uma taxa de mortalidade significativamente menor que *B. polystictus* em *A. sessilifolia* ($\chi^2 = 8.7477$; $p = 0.0031$. Fig. 7A), enquanto que não

foram observadas taxas de mortalidade significativamente diferentes entre as espécies de *Battus* alimentadas com *A. triangularis* ($\chi^2 = 0.1072$; $p = 0.7433$; Fig. 7B).

DISCUSSÃO:

Seletividade de hábitat e dinâmicas populacionais

Os mecanismos que levam a ocorrência de espécies em uma paisagem são relacionados à disponibilidade de recursos no meio e às condições ecológicas necessárias para o estabelecimento das espécies (Townsend *et al.* 2006). O estabelecimento de populações residentes de insetos em uma determinada área depende da constância de recursos alimentares tanto para os adultos como para os imaturos (Zalucki *et al.* 2002). Os resultados apresentados aqui indicam que não existem populações residentes de *B. polystictus* no JB e de *B. polydamas* no MS, sugerindo que a presença das duas espécies nas áreas estudadas esteja relacionada às diferenças de estrutura fisionômica dos dois ambientes.

De modo geral, as populações de *B. polydamas* no JB apresentaram densidades numéricas inferiores às estimadas para *B. polystictus* no MS. *Battus polydamas* parece recrutar imaturos para compor a população de adultos em suas áreas de vida gradualmente, havendo aumento progressivo na densidade de indivíduos em direção ao final de janeiro, quando as temperaturas costumam ser elevadas na região Sul do Brasil. Já o pico populacional de *B. polystictus* ocorreu no início de dezembro, coincidente com o final da primavera e amenização das condições climáticas na latitude 31°S. Estes dados sugerem que os eventos de recrutamento-colonização-recolonização de áreas pelas duas espécies obedecem a dinâmicas distintas. Contudo, os processos que levam a estas diferenças ainda não são conhecidos.

Muitas espécies de Papilionidae se mantêm em diapausa durante os meses frios e com menor fotoperíodo do ano (Yosshio e Ishii 1998; Scriber *et al.* 2005; Wang *et al.* 2009; Yamamoto *et al.* 2011), de modo que a tendência no aumento das populações de adultos na primavera geralmente está relacionada com quebra do estado de diapausa causada pelo aumento gradual da temperatura e modificação do fotoperíodo (ver discussão em Scott 1979). *Battus polystictus* parece ser mais sensível à chegada de primavera, quando o fotoperíodo diário passa a ter mais horas de claridade do que de escuridão. Já *B. polydamas* parece responder mais ao aumento da temperatura, que sofre significativo

incremento na região com a proximidade do solstício de verão. Por outro lado, considerando as diferenças das duas espécies, no tocante ao uso do hábitat, onde *B. polydamas* mais generalista que *B. polystictus*, também seria esperado que a primeira espécie dependesse mais da dispersão de indivíduos provenientes de outras populações para repovoar uma determinada área, enquanto que a segunda espécie dependeria mais do restabelecimento de populações locais pelo recrutamento de indivíduos que permaneceram em estado de diapausa durante o inverno. Estas hipóteses necessitariam testes adicionais para serem comprovadas, mas o efeito final das diferentes dinâmicas de repovoamento geraria uma ausência de sobreposição temporal entre as maiores densidades populacionais dos adultos das duas espécies, o que poderia diminuir a competição entre elas em áreas de simpatria.

A estrutura etária de *B. polydamas* variou mais ao longo dos meses de amostragem no JB do que a estruturação observada para as populações de *B. polystictus* no MS. As características observadas sugerem uma estabilização entre as taxas de recrutamento e mortalidade nos períodos onde houve os picos populacionais das duas espécies, evidenciados pelo equilíbrio maior entre as proporções das diferentes classes etárias. Esse padrão também foi concordante com os dados de marcação-recaptura, já que os números populacionais variaram pouco entre janeiro e fevereiro, mantendo-se praticamente na mesma faixa de densidade populacional.

O conhecimento da estrutura etária e da longevidade dos indivíduos é importante para entendimento da dinâmica de uma população, pois a distribuição de diferentes idades influencia diretamente o crescimento populacional (Francini 2010b). Conforme proposto por Schowalter (2006) grandes proporções nas classes de indivíduos jovens representam populações com baixa sobrevivência, enquanto populações com poucos jovens refletem uma alta sobrevivência dos indivíduos. No caso das espécies de *Battus* estudadas, os resultados obtidos sugerem que ambas espécies possuem baixas taxas de sobrevivência dos adultos.

Apesar das diferenças particulares das duas espécies de *Battus*, os padrões demográficos obtidos apresentam características similares às observadas em outra espécie de Troidini, *Parides agavus*, que foi estudada na região central do Estado do Rio Grande do Sul (Paim e Di Mare 2002). Na população de *P. agavus* os maiores tamanhos populacionais também foram registrados entre dezembro e janeiro, quando a temperatura foi mais elevada. A proporção sexual desviada para os machos e o maior tamanho de asas das

fêmeas, encontrado tanto para *B. polydamas*, como para *B. polystictus*, também foram similares às encontradas em outras populações de Troidini estudadas na região Neotropical (Cook *et al.* 1971; Brown Jr. *et al.* 1981; Freitas e Ramos 2001; Lehnert, 2008; Beirão *et al.* 2012; Herkenhoff *et al.* 2013).

Variação na disponibilidade de hospedeiras e desempenho em diferentes espécies de Aristolochia

Apesar de haver indicação de nove espécies de *Aristolochia* no extremo sul Brasil, apenas duas delas foram registradas nas áreas estudadas: *A. sessilifolia* e *A. triangularis*. No JB, onde ocorrem populações de *B. polydamas*, *A. sessilifolia* é hospedeira mais abundante, enquanto que no MS, onde há população de *B. polystictus*, a disponibilidade de *A. triangularis* é predominante.

Os registros de campo indicam a utilização de *A. triangularis* como hospedeira por ambas espécies de *Battus*, porém na literatura não há registro de uso de *A. sessilifolia* por nenhuma delas. Durante nossas amostragens em campo, foram observados comportamentos de oviposição de *B. polydamas* nas duas espécies de *Aristolochia*, porém fêmeas de *B. polystictus* foram avistadas inspecionando somente plantas de *A. triangularis*. Contudo, os resultados dos testes em laboratório demonstram que as duas espécies de *Battus* são capazes de se desenvolverem até estágio de pupa em ambas hospedeiras testadas, apesar de diferenças de desempenho em função do tipo de alimento utilizado terem sido encontradas.

A adequabilidade equivalente de ambas *Aristolochia* como alimento larval para *B. polydamas* poderia ser explicada pela plasticidade da espécie, que ocorre em diversos biomas da região Neotropical e está sujeita à disponibilidade variável de hospedeiras ao longo de sua distribuição. Já a aceitação de *A. sessilifolia* por *B. polystictus*, em conjunto com sua menor adequabilidade como hospedeira, não teria relação direta com a plasticidade desta borboleta, mas com as condições dos testes realizados em laboratório. Como os testes foram de escolha simples, sem o fornecimento de hospedeiras alternativas, a falta de opções alimentares para larvas pode ter influenciado o uso de *A. sessilifolia* como planta hospedeira.

Outra hipótese a ser considerada no uso de plantas hospedeiras alternativas é a evolução independente entre os sistemas de reconhecimento de hospedeira por parte das fêmeas e

da aceitação destas plantas pelas larvas (Price 2000). Mesmo que haja diferenças nutricionais entre diferentes espécies de hospedeiras, e que as fêmeas tenham desenvolvido estratégias para localizar e selecionar as melhores plantas para suas proles, provavelmente algumas características químicas compartilhadas entre as espécies de hospedeiras filogeneticamente próximas pode permitir o reconhecimento e aceitação das larvas de maneira indiscriminada. As larvas de *B. polydamas* podem se desenvolver satisfatoriamente em uma grande variedade espécies de *Aristolochia* na região da Colômbia, mesmo havendo preferência das fêmeas por certas espécies em particular (Fágua *et al.* 1998). Segundo Klitzke (1992), as espécies de *Aristolochia* utilizadas por Troidini podem ser divididas em três grupos, baseado na presença ou ausência de ácidos aristolóquicos e ácidos labdonóicos. De acordo com estas análises, as espécies *A. sessilifolia* e *A. triangularis* aparecem juntas no mesmo grupo, ambas possuindo apenas ácidos aristolóquicos na composição das folhas, o que justificaria o reconhecimento indiscriminado entre estas duas plantas pelas larvas de *B. polystictus*.

Como nos experimentos conduzidos em laboratório às condições ambientais foram constantes para todos os testes, os resultados aqui apresentados sugerem que as espécies de *Aristolochia* testadas apresentam diferenças de qualidade nutricional, ou que as duas espécies de *Battus* apresentam assimilação diferencial dos compostos presentes em cada uma das hospedeiras por conta de particularidades anatômicas dos tecidos consumidos. No primeiro caso, características químicas particulares de cada espécie, como teor de nitrogênio, conteúdo de água e compostos secundários podem variar, gerando plantas com diferentes composições químicas. No segundo caso, características morfológicas como área foliar, dureza, pilosidade e espessura da folha podem dificultar a assimilação dos compostos disponíveis, tornando o alimento mais indigesto para certas larvas (Scriber e Slansky 1981; Coley e Barone 1996; Schoonhoven *et al.* 1998).

Outro resultado que elucidada os padrões exigentes de condições ideais para seu desenvolvimento em *B. polystictus* foi à ocorrência de diapausa causada por estivação em condições de laboratório. A diapausa durou por no mínimo 60 dias até a eclosão dos adultos, sendo quebrada somente após as pupas terem sido submetidas a um tratamento reestabelecendo níveis de umidade elevados. A ocorrência de diapausa por estivação é conhecida em outras espécies de Troidini, como, por exemplo, em *Byasa alcinous* (Yamamoto *et al.* 2011).

As fêmeas da tribo Troidini são extremamente seletivas quando ao comportamento de oviposição, utilizando mecanismos de reconhecimento químico e morfológico para reconhecer plantas que garantam a melhor sobrevivência para sua prole (Nishida 1995; Rausher 1995). De maneira geral, nos insetos herbívoros a escolha da dieta envolve muitos fatores que podem afetar diretamente o crescimento, a sobrevivência e o comportamento dos imaturos, como as características físico-químicas das plantas e a fenologia das hospedeiras (Slansky 1993; Zaluckiet al. 2002; Kursar et al. 2006;). Além disso, o estágio ontogenético das larvas, a morfologia das mandíbulas e também a sua capacidade de forrageamento são alguns fatores determinantes no comportamento alimentar dos insetos (Hochuli 2001; Larsson 2002; Bernays et al. 2004). Os imaturos de *Battus philenor*, por exemplo, tem crescimento acelerado quando alimentadas com folhas jovens de *Aristolochia reticulata*. Esta eficiência no desempenho do desenvolvimento das larvas deve-se a maior quantidade de nitrogênio, a menor dureza foliar e a maior quantidade de água presentes nas folhas da espécie, que adquire estas características em consequência do crescimento vegetativo em condições abióticas amenas de insolação e disponibilidade de água (Rausher 1981).

Ocorrência em sintopia e compartilhamento de recursos entre B. polydamas e B. polystictus

Segundo os pressupostos do princípio de exclusão competitiva de Gause, espécies que utilizam os mesmos recursos não podem coexistir em um ambiente estável (Hardin 1960). Como ambientes estáveis fazem as populações atingirem seu equilíbrio demográfico em poucas gerações, o fator limitante para a ocorrência em sintopia de espécies que usam os mesmos recursos seria disponibilidade dos mesmos. Mesmo que uma determinada área apresente abundância de recursos, é esperado que competidores potenciais apresentem alguma diferenciação em algum aspecto de seu, de maneira à diminuir a interferência de uma espécie sobre a outra.

Os resultados apresentados aqui, indicando ausência de sobreposição entre os maiores picos populacionais das duas espécies de *Battus* e a ausência de plantas hospedeiras alternativas sobre as diferenças de dinâmicas populacionais entre as duas espécies de *Battus* estudadas em diferentes áreas, somados sugerem a existência de segregação de nicho entre *B. polydamas* e *B. polystictus*. Contudo, o fator mais importante parece ser a

ausência de plantas hospedeiras alternativas em abundâncias suficientes, o que obrigaria as duas espécies a dividir as mesmas hospedeiras. Como *A. sessilifolia* ocorre em áreas de campo aberto, localidades exploradas apenas por *B. polydamas*, situações de competição entre as duas espécies de *Battus* ocorreriam somente em áreas de mata, onde a dominância é de *A. triangularis*.

As evidências apontam que ambas as espécies de *Battus* podem utilizar *A. sessilifolia* como recurso larval, apesar de *A. triangularis* conferir melhor desempenho. Porém, como geralmente o melhor desempenho das larvas está associado à preferência de oviposição das fêmeas, em áreas de floresta onde o recurso disponível em abundância é *A. triangularis*, a ocorrência em sintopia das duas espécies de *Battus* poderia gerar competição pelos mesmos recursos alimentares. Uma alternativa para coexistência em sintopia com minimização da competição seria compartilhar as mesmas plantas de maneira diferencial, selecionando diferentes sítios de oviposição, como observado entre espécies de Heliconinae (Benson 1978). Tendo em vista que o hábito ecológico de *A. triangularis* é do tipo escandente, é comum encontrar plantas que se desenvolvem em alturas que alcançam o dossel da floresta.

De fato, observações de campo (V.W. Scalco, dados não publicados) sugerem que exista uma estratificação vertical para preferência de oviposição nas fêmeas de *Battus*. Por diversas vezes as fêmeas de *B. polystictus* foram avistadas inspecionando plantas em alturas elevadas, enquanto a maioria das fêmeas de *B. polydamas* foram avistadas inspecionando ramos de *A. triangularis* mais próximos ao chão, geralmente em alturas inferiores a três metros. Durante as inspeções de *A. triangularis* no MS, larvas e ovos de *B. polystictus* foram encontrados somente em ramos localizados acima da cota de três metros de altura, enquanto os imaturos de *B. polydamas* foram encontrados em grande quantidade abaixo de três metros de altura, corroborando as observações de atividade das fêmeas.

A distribuição dos recursos exerce grande influência no comportamento de distribuição e abundância temporal das borboletas (Jansen *et al.* 2012). Estudos mostram que a evolução da especialização entre as borboletas da tribo Troidini e as plantas do gênero *Aristolochia* seria um resultado da distribuição das espécies de borboleta, onde aquelas com áreas restritas de distribuição geográfica tenderiam ser mais exigentes em termos ambientais e usariam uma gama menor de hospedeiras, enquanto que as espécies com amplas distribuições seriam menos exigentes e usariam uma gama maior de

hospedeiras. Neste contexto, a determinação da dieta seria resultado da disponibilidade e abundância de diferentes plantas hospedeiras ao longo das distribuições das espécies (Weitraub 1995; Silva-Brandão *et al.* 2005;). Dessa forma, quanto menos exigente for uma determinada espécie, melhor será seu desempenho em ambientes variáveis (Hardy *et al.* 2007).

Considerações finais

Os dados apresentados aqui sugerem que as duas espécies de *Battus* possuem exigências ambientais diferentes. *Battus polydamas* é mais generalista, podendo utilizar com sucesso áreas abertas e antropizadas; *B. polystictus* é mais restrita a áreas de mata higrófila preservadas. Os picos populacionais das duas espécies não se sobrepõem, sugerindo que existam dinâmicas demográficas diferentes responsáveis pela redução de sobreposição temporal entre elas. Ambas as espécies são capazes de utilizar como hospedeiras tanto *A. sessilifolia* como *A. triangularis*, mas com desempenhos distintos. *Battus polydamas* utiliza ambas as espécies de hospedeiras de maneira eficiente, enquanto *B. polystictus* mostrou ter melhor desempenho em *A. triangularis*, hospedeira comum nos ambientes com bom nível de preservação onde esta espécie de borboleta é encontrada. Em sintopia, onde as duas espécies de *Battus* utilizam *A. triangularis* como hospedeira, parece ocorrer algum mecanismo evitando a exclusão competitiva entre elas. De fato, a estratificação vertical para sítios de oviposição diferenciado entre *B. polydamas* e *B. polystictus* sugere a ocorrência de compartilhamento de recursos. Futuras investigações sobre as interações com outras hospedeiras deverão ser feitas para identificar porque a oviposição não ocorre em certas plantas, mesmo que haja aceitação e desenvolvimento larval nas mesmas, assim como a realização de experimentos controlados para esclarecer como a competição por recursos larvais pode ter influenciado o comportamento de oviposição.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação Zoobotânica de Porto Alegre e a Prefeitura do Campus do Vale da UFRGS pelo acesso e apoio durante as atividades de campo, ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela licença de coleta (#35153-1) e ao Sistema Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade / Rede Nacional de Pesquisa e Conservação de Lepidoptera (SiSBiota/RedeLep) para a bolsa de estudos fornecida à VWS. Os autores também agradecem GWG Atencio, LL Fucilini e LRF Verane, pela assistência em campo e em laboratório. VWS pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (#563332/2010), ABBM pelo SISBiota/RedeLep, HPR pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e NOM pelo Programa Nacional de Pós-Doutorado (PNPD/CAPES) (#23038.8306/2010-62). Esta é a contribuição #571 do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Ahumada LZ, 1975. Aristolochiáceas. In: Reitz PR. Editor. pp. 1-55. Flora ilustrada Catarinense - I parte. Herbário Barbosa Rodrigues.
- Beccaloni GW, Vilorio AL, Hall SK, Robins GS (2008) *Catalogue of the hostplants of the Neotropical butterflies*. Monografias Tercer Milenio. Zaragoza (Spain): S.E.A., RIBES-CYTED, The Natural History Museum, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, 536 pp.
- Beirão MV, Campos-Neto FC, Pimenta IA, Freitas AVL 2012. Population Biology and Natural History of *Parides burchellanus* (Papilionidae: Papilioninae: Troidini), an Endangered Brazilian Butterfly. *Annal of the Entomological Society of America* 105: 36-43.
- Benjamini Y, Hochberg Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society* 57: 289-300.
- Benson WW. 1978. Resource partitioning in passion vine butterflies. *Evolution* 32: 493-518.

- Bernays E. 1996. Selective attention and host-plant specialization. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80: 125-131.
- Bernays EA. 1999. When host choice is a problem for a generalist herbivore: experiments with the whitefly, *Bemisia tabaci*. *Ecological Entomology* 24: 260-267.
- Bernays EA, Singer MS, Rodrigues D. 2004. Foraging in nature: foraging efficiency and attentiveness in caterpillars with different diet breadths. *Ecological Entomology* 29: 389-397.
- Berenbaum MR. 1995. Chemistry and oligophagy in the Papilionidae. In: Scriber J M, Tsubaki Y, Lederhouse RC. Editors. pp 27-38. *Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology*. Scientific Publishers.
- Brown Jr. KS, Damman HJ, Feeny P. 1981. Troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) in southeastern Brazil: natural history and foodplant relationship. *Journal of Research on the Lepidoptera* 19: 199-226.
- Brussard PF, Ehrlich PR, Singer MC. 1974. Adult movements and population structure in *Euphydryas editha*. *Evolution* 28: 408-415.
- Bueno OL, Martins SMA. 1986. Flora e vegetação espontânea do Jardim Botânico de Porto Alegre, RS, Brasil. Fanerógamas herbáceas e arbustivas. *Iheringia Série Botânica* 35: 5-23.
- Canals, G.R. 2003. *Mariposas de Misiones*. LOLA.
- Chown SL, Gaston KJ. 2010. Body size variation in insects: a macroecological perspective. *Biological Reviews* 85: 139-169.
- Coley PD, Barone JA. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 305-355.
- Cook LM, Frank K, Brower LP. 1971 Experiments on Demography of Tropical Butterflies. I. Survival Rate and Density in Two Species of *Parides*. *Biotropica* 3: 17-20.
- Davidowitz G, D'Amico LJ, Nijhout HF. 2003. Critical weight in the development of insect body size. *Evolution and Development* 5, 188–197.
- Dempster JP, Pollard E. 1981. Fluctuations in resource availability and insect populations. *Oecologia* 50: 412-416.

- Dennis RLH, Shreeve TG, Arnold HR, Roy DB. 2005. Does diet breadth control herbivorous insect range size? Predictions and tests using butterflies. *Journal Insect Conservation* 9: 187-200.
- DeVries PJ. 1987. *The butterflies of Costa Rica and Their Natural History*. Princeton University Press.
- Ehrlich PR. 1984. The structure and dynamics of butterfly populations. In: Vane-Wright RI, Ackery PR. (Editors) pp. 25-40. *The biology of butterflies*. Academic Press.
- Ehrlich PR, Raven PH. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.
- Erlich PR, Gilbert LE. 1973. Population structure and dynamics of the tropical butterfly *Heliconius ethilla*. *Biotropica* 5: 69-82
- Fagua G, Ruiz N, González F, Andrade-C MG (1998) Calidad del hospedero en el ciclo de desarrollo de *Battus polydamas* (Lepidoptera: Papilionidae: Troidini). *Revista Colombiana de Entomología* 24: 131-140.
- Francini RB. 2010a. CMLR_2010. Programa para estimativas populacionais. Disponível com o autor.
- Francini RB. 2010b. Métodos para estudar ecologia de populações de borboletas. (disponível em: <https://archive.org/details/MtodosParaEstudarEcologiaDePopulaesDeBorboletas/>) último acesso 22/01/2014.
- Freitas AVL. 1996. Population biology of *Heterosais edessa* (Nymphalidae) and its associated Atlantic Forest Ithomiinae Community. *Journal of the Lepidopterists' Society* 50: 273-289.
- Freitas AVL, Ramos RR. 2001. Population Biology of *Parides anchises nephalion* (Papilionidae) in a costal site in southeast Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 61: 623-630.
- Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. 2004. Plano Diretor do Jardim Botânico de Porto Alegre. *Publicações avulsas*: 12.
- Giehl ELH. 2012. Flora digital do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. URL: <http://ufrgs.br/floradigital>. Último acesso em 06/02/14.
- Hardin G. 1960. The Competitive Exclusion Principle. *Science* 131: 1292-1297.

- Hardy PB, Sparks TH, Isaac NJB, Dennis RLH. 2007. Specialism for larval and adult consumer resources among British butterflies: implications for conservation. *Biological Conservation* 138: 440-452.
- Haukioja E. 1993. Effects of food and predation on population dynamics. In: Stamp N E, Casey TM. (Editors) pp. 425-447. Caterpillars – Ecological and evolutionary constraints on foraging. Chapman & Hall.
- Häuser CL, Jong RD, Lamas G, Robbins RK, Smith C, Vane-Wright RI. 2005. Papilionidae - revised GloBIS/GART species checklist (2nd draft). www.insects-online.de/frames/papilio.htm - Último acesso em 20/01/14.
- Herkenhoff EV, Monteiro RF, Esperanço AP, Freitas AVL (2013) Population biology of the endangered fluminense swallowtail butterfly *Parides ascanius*. *Journal of the Lepidopterists' Society* 67: 29-34.
- Hochuli DF. 2001. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behaviour, morphology and host use? *Austral Ecology* 26: 563-570.
- Jansen SHDR, Holmgren M, Langevelde FV, Wynhoff I. 2012. Resource use of specialist butterflies in agricultural landscapes: conservation lessons from the butterfly *Phengaris (Maculinea) nausithous*. *Journal Insect Conservation* 16: 921-930.
- Janz N, Nylin S. 1997. The role of female search behaviour in determining host plant range in plant feeding insects: a test of the information processing hypothesis. *Proceedings of the Royal Society Biological Science* 264: 701-707.
- Janz N, Nylin S. 2008. The oscillation hypothesis of host plant-range and speciation. In: Tilmon KJ. Editor. pp. 203–215. *Specialization, Speciation, and Radiation: the Evolutionary Biology of Herbivorous Insects*. University of California Press.
- Joshi A, Thompson N. 1995. Trade-offs and the evolution of host specialization. *Evolutionary Ecology* 9: 82-92.
- Kelly LM, Gonzáles F. 2003. Phylogenetic relationships in Aristolochiaceae. *Systematic Botany* 28: 236-249.
- Klitzke CF. 1992. Ecologia química e coevolução na interface Troidini (Papilionidae) *Aristolochia* (Aristolochiaceae). Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas – Unicamp. Campinas.

- Klitzke CF, Brown Jr. KS. 2000. The occurrence of aristolochic acids in neotropical troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae). *Chemoecology* 10: 99-102.
- Krauss J, Steffan-Dewenter I, Tschamntke T. 2003. How does landscape context contribute to effects of habitat fragmentation on diversity and population density of butterflies? *Journal of Biogeography* 30: 889-990.
- Kursar TA, Wolfe BT, Epps MJ, Coley PD. 2006. Food quality, competition, and parasitism influence feeding preference in a neotropical lepidopteran. *Ecology* 87 (12): 3058-3069.
- Larsson S. 2002. Resistance in trees to insects – an overview of mechanism and interactions. In: Wagner MR. Editor. pp. 1-29. *Mechanisms and deployment of resistance in trees to insects*. Kluwer Academic Publishers.
- Lehnert MS. 2008. The population biology and ecology of the Homerus Swallowtail, *Papilio (Pterourus) homerus*, in the Cockpit Country, Jamaica. *Journal of Insect Conservation* 12: 179-188.
- Leitão GG, Kaplan MAC. 1992. Química do gênero *Aristolochia*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 73: 65-75.
- Lewis AC, Van Emden HF. 1986. Assays for insect feeding. In: Miller JR., Miller TA. pp. 95-119. *Insect-plant interactions*. Springer-Verlag.
- Loertscher M, Erhardt A, Zettel J. 1995. Microdistribution of butterflies in a mosaic-like habitat: The role of nectar sources. *Ecography* 18: 15-26.
- Menegat R, Porto ML, Carraro CC, Fernandes LAD. 1998. Atlas ambiental de Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Menna-Barreto Y, Araújo AM. 1985. Evidence for host plant preferences in *Heliconius erato phyllis* from southern Brazil (Nymphalidae). *Journal of Research on the Lepidoptera* 24: 41-46.
- Nascimento DS do, Cervi AC, Guimarães OA. 2010. A família Aristolochiaceae Juss. no estado do Paraná, Brasil. *Acta botânica brasílica* 24: 414-422.
- Nishida R. 1995. Oviposition stimulants of swallowtail butterflies. In: Scriber J M, Tsubaki Y, Lederhouse RC. Editors. pp. 17-26. *Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology*. Scientific Publishers.

- Nishida R, Fukami H. 1989. Ecological adaptation of an Aristolochiaceae-feeding swallowtail butterfly, *Atrophaneura alcinous*, to aristolochic acids. *Journal Chemical Ecology* 15: 2549-2563.
- Nylin S, Gottard K. 1998. Plasticity in life-history traits. *Annual Review of Entomology* 43: 63-83.
- Núñez-Bustos, E. 2010. *Mariposas de la Ciudad de Buenos Aires y alrededores*. Vázquez Mazzini.
- Paim AC, Di Mare RA. 2002. Ecologia de Papilionidae I: Parâmetros biológicos e demográficos de *Parides agavus* (Papilioninae, Troidini) no sul do Brasil. *Biociências* 10: 33-48.
- Périco E, Araújo AM. 1991. Suitability of host plants (Passifloraceae) and their acceptableness by *Heliconius erato* and *Dryas iulia* (Lepidoptera, Nymphalidae). *Evolución Biológica* 5: 59-74.
- Philipp RP, Vargas JA, Di Benedetti V. 2009. A memória geológica do centro antigo de Porto Alegre: o registro da evolução urbana nos prédios históricos e no urbanismo da cidade. *Pesquisas em Geociências* 36: 59-77.
- Porto ML, Meira JR., Mohr FV, Oliveira MLAA. 1998. Unidades de conservação ambiental. In: Menegat R, Porto ML, Carraro CC, Fernandes LAD. Editores. pp. 79-92. Atlas ambiental de Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Price PW 2000. Insect Herbivores and Biocontrol. In.: Spencer ND [ed.]. pp. 583-590. Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds. Bozeman, Montana State University.
- Rausher MD. 1981. Host plant selection by *Battus philenor* butterflies: the roles of predation, nutrition, and plant chemistry. *Ecological Monographs* 51: 1-20.
- Rausher MD. 1995. Behavioral ecology of oviposition in the pipevine swallowtail, *Battus philenor*. In: Scriber J M, Tsubaki Y, Lederhouse RC. Editors. pp. 53-62. *Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology*. Scientific Publishers.
- Rodrigues D, Moreira GRP. 1999. Feeding preference of *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) in relation to leaf age and consequences for larval desempenho. *Journal of the Lepidopterists' Society* 53: 108-113.

- Rodrigues D, Moreira GRP. 2004. Seasonal variation in larval host plants and consequences for *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) adult body size. *Austral Ecology* 29: 437-445.
- Rothschild M, Reischstein T, Von Euw J, Aplin R, Harman RRM. 1970. Toxic Lepidoptera. *Toxicon* 8: 293-298.
- Slansky SJ. 1993. Nutritional ecology: the fundamental quest for nutrients. In: Stamp NE, Casey T. Editors. pp. 29-91. *Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging*. Chapman and Hall.
- Scott JA. 1979. Hibernial diapause of North American Papilionoidea and Hesperioidea. *Journal of Research on the Lepidoptera* 18: 171-200.
- Schoonhoven LM, Jermy T, Van Loon JJA. 1998. Plants as insect food: Not the ideal. In: Schoonhoven LM, Jermy T, Van Loon JJA. Editors. pp. 83-120. *Insect-plant biology: From physiology to evolution*. Chapman & Hall.
- Schowalter DT. 2006. *Insect Ecology: an ecosystem approach*. Academic Press.
- Scriber JM. 1984. Larval foodplant utilization by the world Papilionidae (Lepidoptera): Latitudinal gradients reappraised. *Tokurana* 6-7: 1-16.
- Scriber JM. 1986. Origins of the regional feeding abilities in the tiger swallowtail butterfly: ecological monophagy and the *Papilio glaucus australis* subspecies in Florida. *Oecologia* 71: 94-103.
- Scriber JM. 1995. Overview of swallowtail butterflies: taxonomic and distributional latitude. In: Scriber J M, Tsubaki Y, Lederhouse RC. Editors. pp. 3-20. *Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology*. Scientific Publishers.
- Scriber JM, Feeny P. 1979. Growth of herbivorous caterpillars in relation to feeding specialization and to the growth form of their food plants. *Ecology* 60: 829-850.
- Scriber JM, Ording GJ. 2005. Ecological speciation without host plant specialization; possible origins of a recently described cryptic *Papilio* species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115 : 247-263.
- Scriber JM, Slansky Jr. 1981. The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology* 26: 183-211.

- Scriber JM, Larsen ML, Allen GR, Wlaker PW, Zalucki MP. 2008. Interaction between Papilionidae and ancient Australian Angiosperms: evolutionary specialization or ecological monophagy? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 128: 230-239.
- Silva AK, Gonçalves GL, Moreira GRP. 2014. Larval feeding choices in heliconians: induced preferences are not constrained by performance and host plant phylogeny. *Animal Behaviour* 89: 155-162
- Silva-Brandão KL, Freitas AVL, Brower AVZ, Solferini VN. 2005. Phylogenetic relationships of the New World Troidini swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) based on COI, COII, and EF-1a genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 36: 468-483.
- Silva-Brandão KL, Solferini VN. 2007. Use of host plants by Troidini butterflies (Papilionidae, Papilioninae): constraints on host shift. *Biology Journal of the Linnean Society* 90: 247-261.
- Sime KR, Feeny PP, Haribal MM. 2000. Sequestration of aristolochic acids by the pipevine swallowtail, *Battus philenor* (L.): evidence and ecological implications. *Chemoecology* 10: 169-178.
- Strauss SY, Irwin RE. 2004. Ecological and evolutionary consequences of multispecies plant-animal interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 435-466.
- Tyler H, Brown Jr. KS, Wilson K. 1994. *Swallowtail Butterflies of the Americas. A study in Biological Dynamics, Ecological Diversity, Biosystematics and Conservation*. Scientific Publishers.
- Townsend CR, Begon M, Harper JL. 2006. *Fundamentos em Ecologia*. Artmed.
- Yamamoto K, Tsujimura Y, Kometani M, Kitazawa C, Islam ATMF, Yamanaka A. 2011. Diapause pupal color diphenism induced by temperature and humidity conditions in *Byasa alcinous* (Lepidoptera: Papilionidae). *Journal of Insect Physiology* 57: 930-934.
- Yoshio M, Ishii M. 1998. Geographical variation of pupal diapause in the great Mormon butterfly, *Papilio memnon* L. (Lepidoptera: Papilionidae), in Western Japan. *Applcata Entomologist Zoology* 33: 281-288.
- Zalucki MP, Clarke AR, Malcolm SB. 2002. Ecology and behavior of first larval Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 47: 361-93.

Wallner WE. 1987. Factors affecting insect population dynamics: Differences between outbreak and non-outbreak species. *Annual Review of Entomology* 32: 317-340.

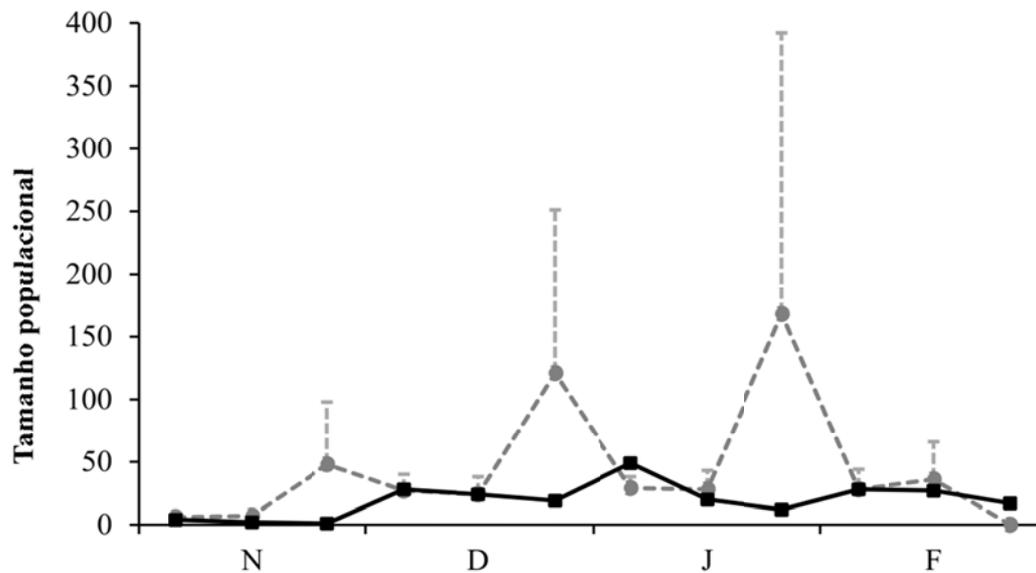
Wang XP, Yang QS, Zhou XM, Xu S, Lei CL. 2009. Effects of photoperiod and temperature on diapause induction and termination in swallowtail, *Sericanus montelus*. *Physiological Entomology* 34: 158-162.

Weintraub JD. 1995. Host plant association patterns and phylogeny in the tribe Troidini (Lepidoptera: Papilionidae). In: Scriber J M, Tsubaki Y, Lederhouse RC. Editors. pp. 307-316. *Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology*. Scientific Publishers.



Figura 1. Aspectos gerais das áreas de estudo. A. Jardim Botânico, Porto Alegre, RS (JB) – vista aérea. B. JB - aspecto da trilha percorrida nas amostragens. C. Morro Santana, Porto Alegre, RS (MS) - vista aérea. D. MS - aspecto da trilha percorrida nas amostragens.

A.



B.

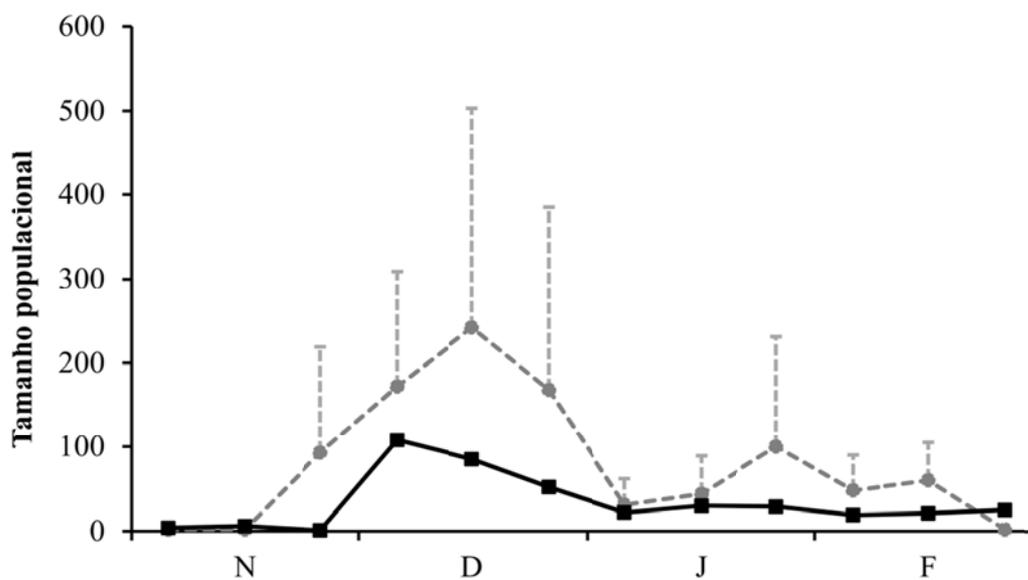
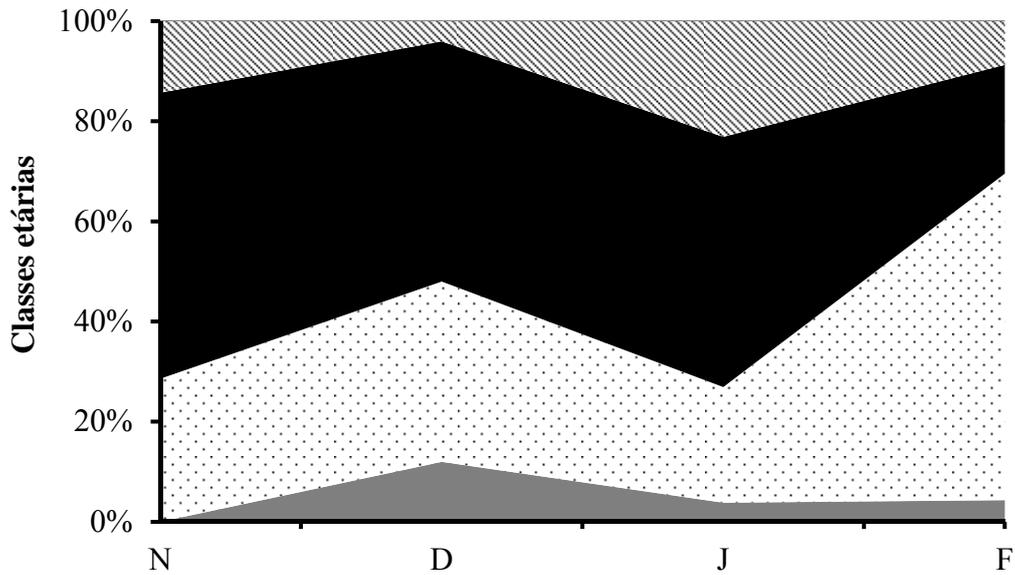


Figura 2. Estimativas de tamanho populacional realizadas entre novembro de 2011 e fevereiro de 2012. (A) *Battus polydamas*, Jardim Botânico, Porto Alegre, RS; (B) *Battus polystictus*, Morro Santana, Porto Alegre, RS. As estimativas estão indicadas a cada ocasião de amostragem. Linha cinza, estimativas dos tamanhos populacionais; linha preta, registros em campo (capturas e avistamentos); barras verticais, erro padrão das estimativas.

A.



B.

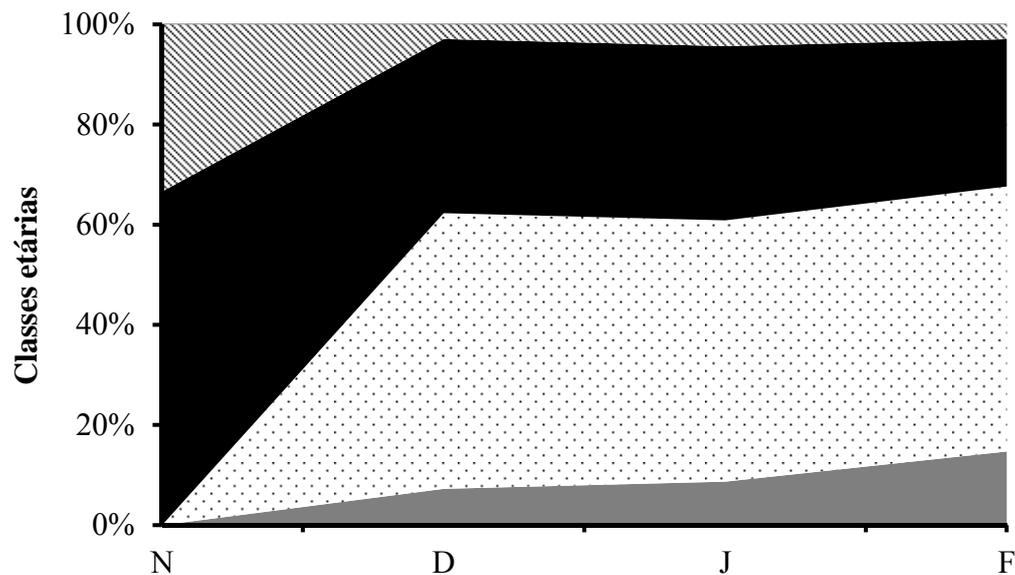


Figura 3. Estruturação etária das populações observadas entre novembro de 2011 e fevereiro de 2012. (A) *Battus polydamas*, Jardim Botânico, Porto Alegre, RS; (B) *Battus polystictus*, Morro Santana, Porto Alegre, RS. As proporções entre as diferentes classes etárias estão expressas em frequência relativa. Classes etárias: cinza, teneral; pontilhado, jovem; preto, intermediário, hachurado, velho.

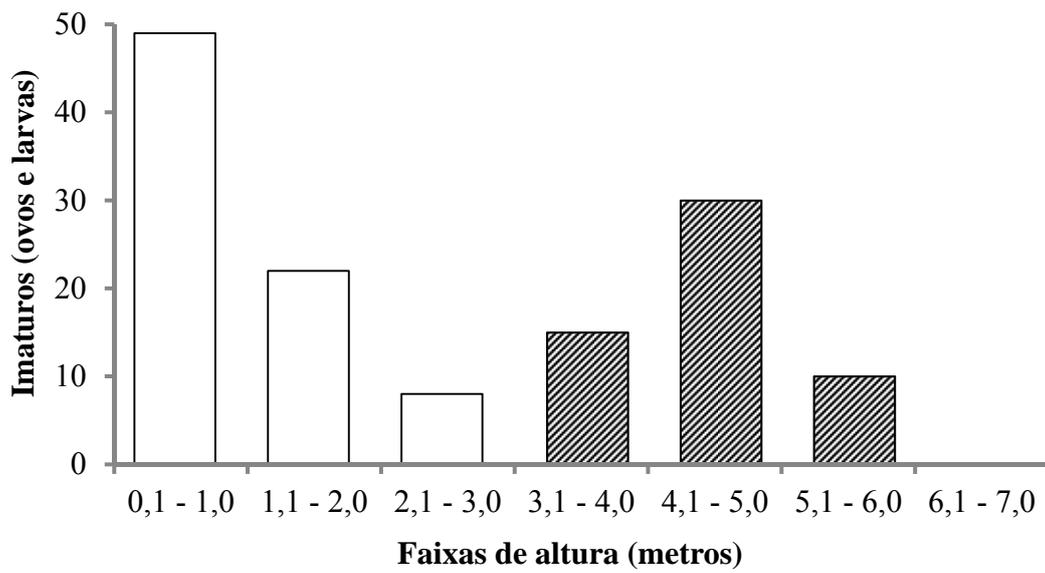
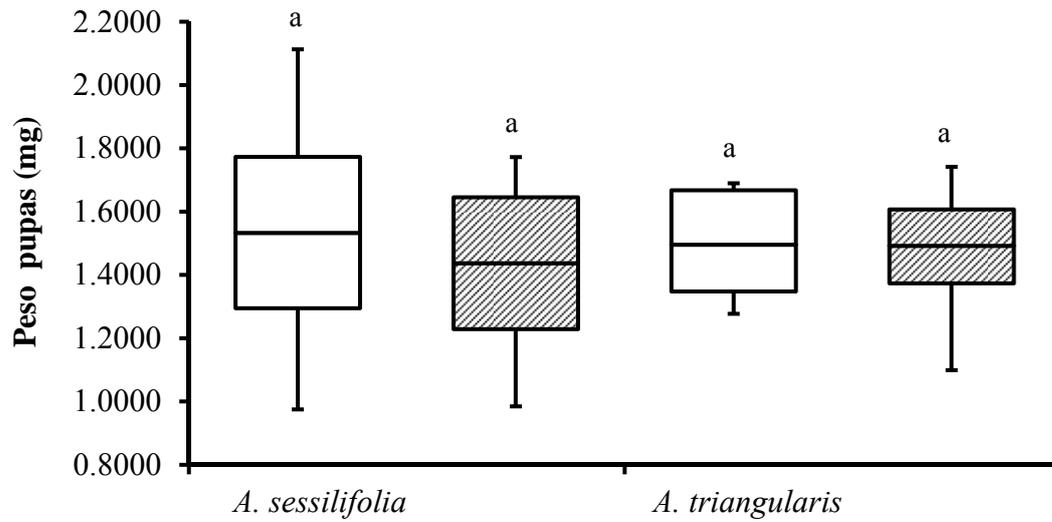


Figura 4. Estratificação vertical da ocorrência de imaturos (ovos e larvas) em ramos de *Aristolochia triangularis* ocorrentes no Morro Santana, Porto Alegre, RS. Barras brancas, *Battus polydamas*. Barras hachuradas, *Battus polystictus*.

A.



B.

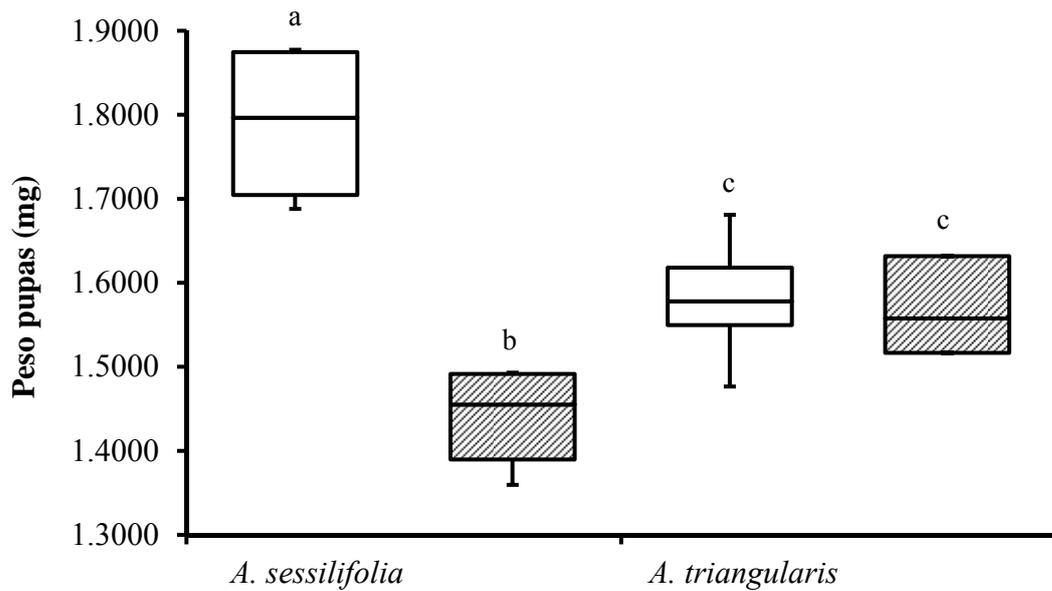


Figura 4. Peso final das pupas de (A) *Battus polydamas* (B) *Battus polystictus* em diferentes plantas hospedeiras. Caixas brancas, fêmeas; caixas hachuradas, machos. As caixas marcadas com letras distintas acima das barras indicam diferenças significativas entre os grupos.

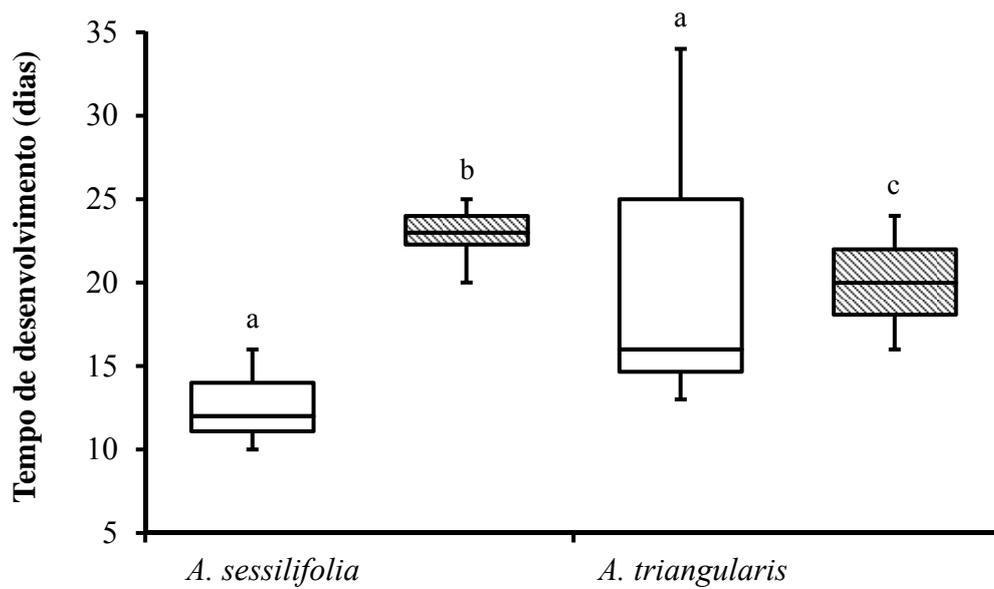
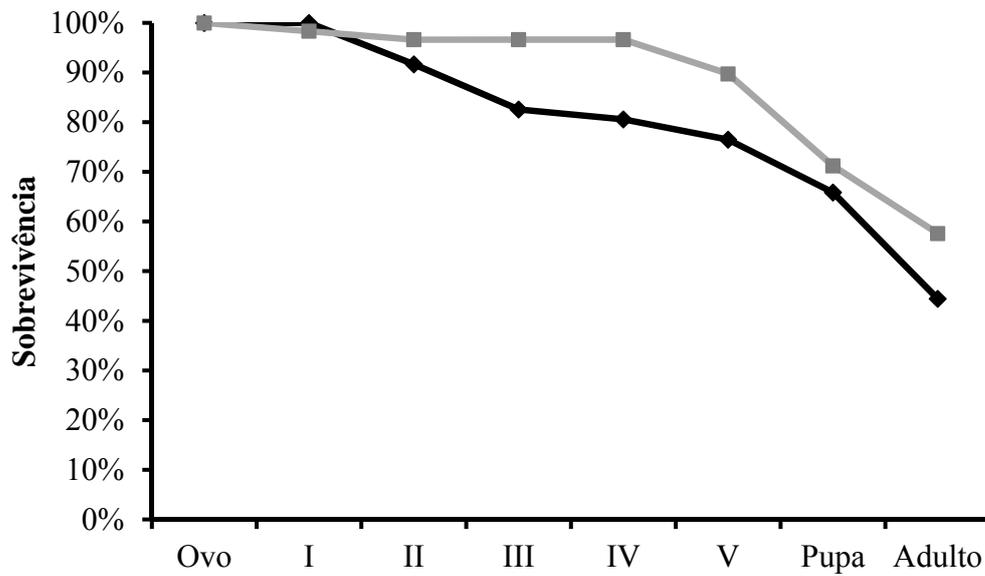


Figura 5. Tempo de desenvolvimento em *Battus polydamas* (caixas brancas) e *Battus polystictus* (caixas hachuradas) em diferentes plantas hospedeiras. As caixas marcadas com letras distintas acima das barras indicam diferenças significativas entre os grupos.

A.



B.

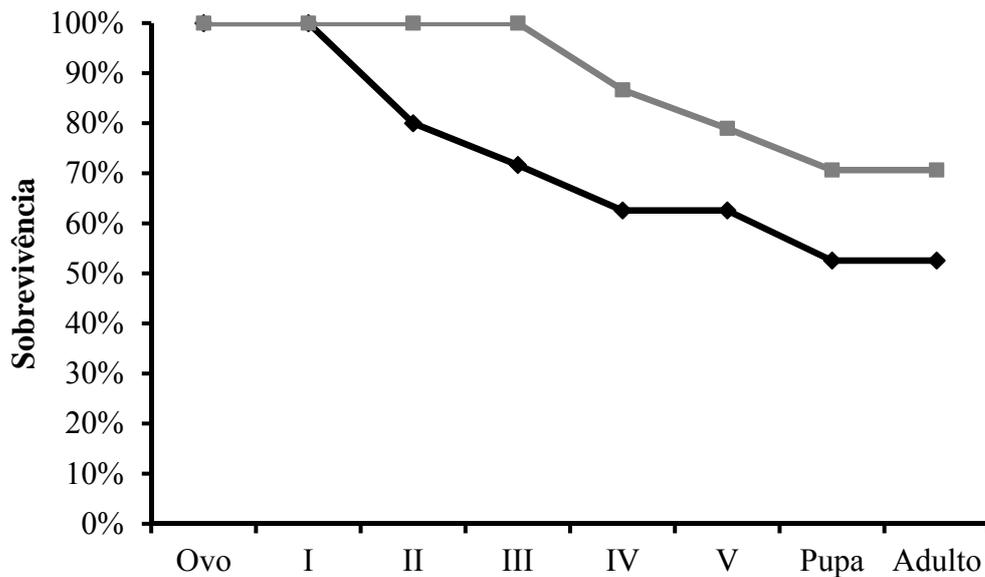


Figura 6. Curvas de sobrevivência de (A) *Battus polydamas* e (B) *Battus polystictus* a cada estágio (ovo, larva, pupa e adulto) e a estágio larval (I-V) de desenvolvimento em diferentes plantas hospedeiras. Linha preta, *Aristolochia sessilifolia*; Linha cinza, *Aristolochia triangularis*.

Tabela 1. Parâmetros populacionais médios obtidos para as populações de *Battus polydamas* do Jardim Botânico e *B. polystictus* do Morro Santana, Porto Alegre, RS, entre novembro de 2011 e fevereiro de 2012. Tamanho das asas – média \pm desvio padrão.

	<i>Battus polydamas</i>	<i>Battus polystictus</i>	
#	Proporção sexual	1,5 M: 1 F	3,5 M: 1 F
	Tamanho dos machos	46,57 \pm 3,47	46,92 \pm 0,26
#	Tamanho das fêmeas	49,38 \pm 3,10	49,87 \pm 0,80
	Tempo de residência	5,11 dias	1,38 dias
#			

Tabela 2. Proporção de plantas hospedeiras registradas nas duas áreas de estudo ao longo dos meses de amostragem. A. Jardim Botânico. B. Morro Santana.

A.				
Jardim Botânico				
	NOV	DEZ	JAN	FEV
<i>A. triangularis</i>	0.03	0.02	0.01	0.01
<i>A. sessilifolia</i>	0.97	0.98	0.99	0.99

B.				
Morro Santana				
	NOV	DEZ	JAN	FEV
<i>A. triangularis</i>	0.99	0.98	0.98	0.99
<i>A. sessilifolia</i>	0.01	0.02	0.02	0.01

5. RESULTADOS GERAIS

- ✓ Ao longo de 12 meses de amostragem no Morro do Côco, foram capturados e marcados 140 machos e 50 fêmeas *B. polystictus*, dos quais 16% foram recapturados ao menos uma vez.
- ✓ As populações de *B. polystictus* não demonstram padrão estável durante o ano, ocorrendo um marcado pico populacional no início do verão, em dezembro, com tamanho estimado de 300 indivíduos. O decréscimo populacional ocorreu no início do outono, havendo extinção local durante os meses mais frios; o repovoamento da área ocorreu logo no início da próxima primavera.
- ✓ A vagilidade dos machos de *B. polystictus* é maior do que a das fêmeas, apesar destes apresentarem asas menores. A maior distância de deslocamento registrada para machos foi de 2350 metros, enquanto para as fêmeas foi de 1050 metros. Durante as horas mais quentes do dia os machos se deslocaram pouco, apresentando comportamento territorialista no topo de árvores.
- ✓ No Jardim Botânico (JB), foram encontradas apenas populações residentes de *B. polydamas*, tendo sido capturados 81 indivíduos entre novembro e fevereiro (49 machos e 32 fêmeas). As maiores densidades populacionais foram observadas em janeiro (~150 indivíduos).
- ✓ No Morro Santana (MS), foram encontradas apenas populações residentes de *B. polystictus*, tendo sido capturados 145 indivíduos (113 machos e 32 fêmeas). As maiores densidades populacionais foram observadas no final da primavera (~250 indivíduos).
- ✓ As densidades populacionais de *B. polystictus* se mostraram maiores quando comparadas às de *B. polydamas*. Estes resultados sugerem capacidades de suporte ambiental distintas entre o JB e MS. Ambientes florestados forneceriam maiores subsídios para manutenção de populações mais numerosas, como o caso de *B. polystictus* no MS; ambientes urbanizados, ou com maiores influências antrópicas, propiciariam condições mais restritivas para as populações, como o caso de *B. polydamas* no JB.
- ✓ Em média, as estimativas de tempo de residência sugerem maior longevidade para os machos em ambas as espécies. Alguns machos foram recapturados até 20 dias após a sua primeira captura, enquanto que nas fêmeas a maior diferença de tempo entre estes eventos foi de 10 dias.

- ✓ *Battus polystictus* voa no bordo e interior da mata, próximo aos recursos florais. O comportamento de oviposição das fêmeas ocorre exclusivamente nas plantas de *A. triangularis* e se inicia com a inspeção nas folhas mais baixas, terminando nas folhas mais altas da planta, próximo ao meristema apical. A oviposição ocorre em faixas de altura superiores a 3 metros.
- ✓ *Battus polydamas* voa predominantemente nas bordas de mato e em áreas abertas. As fêmeas forrageiam a procura de plantas hospedeiras em diferentes mosaicos da paisagem dentro da sua área de vida. A oviposição ocorre em diferentes espécies e em diferentes faixas de altura, desde o nível do solo até 3 metros de altura.
- ✓ O desempenho das duas espécies não é o mesmo nas diferentes hospedeiras. Os experimentos mostram que *B. polydamas* aceita e utiliza ambas as plantas de maneira equivalente, não havendo diferenças significativas em termos de sobrevivência em função da dieta larval. *Battus polystictus* também aceita e utiliza ambas as plantas, porém se desenvolve melhor em *A. triangularis*. Nesta última planta as larvas exibem taxas de sobrevivência maiores, tempo de desenvolvimento mais curto e peso pupal maior, quando comparada a *A. sessilifolia*.
- ✓ A aceitação e capacidade de desenvolvimento de ambas as espécies de *Battus* em *A. sessilifolia* representam um novo registro da adequabilidade do uso de plantas hospedeira alternativas para estas espécies.
- ✓ A ocorrência de diapausa no estágio pupal, provocada por estivação, representa um novo achado para *Battus polystictus*. A diapausa durou por no mínimo 60 dias até a emersão dos adultos, sendo quebrada somente após as pupas terem sido submetidas a um tratamento que reestabeleceu níveis de umidade elevados.
- ✓ Os registros de campo sugerem a ocorrência de uma partição de recursos entre as duas espécies de *Battus* quando ocorrentes em sintopia, evidenciada pela estratificação vertical nos sítios de oviposição em *A. triangularis*, nas encostas de morros graníticos da região de Porto Alegre. Ovos de *B. polydamas* foram encontrados em porções mais baixas das plantas, desde bem próximas ao solo até no máximo três metros de altura, e os ovos de *B. polystictus* foram encontrados nos ramos de *A. triangularis* somente acima de três metros de altura.
- ✓ A estrutura da vegetação e a disponibilidade de plantas hospedeiras parecem influenciar significativamente as dinâmicas populacionais das *Battus* no extremo sul do Brasil.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Buscando compreender os padrões de diferenciação populacional das duas espécies de *Battus* quando ocorrentes em simpatria, obtivemos resultados que suscitam discussões sobre processos adaptativos atuantes sob a ecologia das espécies. De forma geral, observamos diferenças importantes nos requerimentos ecológicos das espécies estudadas. Apesar das amostragens de *B. polystictus* em diferentes localidades não representarem réplicas amostrais, os dois conjuntos de dados apontaram as mesmas tendências estruturais em diferentes populações, evidenciando, de certa forma, o padrão para a espécie. A ocorrência de *B. polystictus* apenas em áreas florestadas revela a sua seletividade por ambientes preservados ou com pouca influência antrópica. Somente áreas abrigo florestas úmidas, com boa estruturação ambiental, permitiram a manutenção de populações residentes desta espécie de borboleta. Já as características de *B. polydamas* não puderam ser comparadas com a outra área de estudo, o Morro do Côco, devido à baixa densidade populacional nesta localidade. No entanto, os resultados obtidos durante o pico populacional da espécie no Jardim Botânico concordam com outros trabalhos já realizados com *B. polydamas* em outras regiões (Brown Jr. *et al.* 1981, Cook *et al.* 1971), sugerindo o padrão observado como uma dinâmica geral para ambientes antropizados. *Battus polydamas* consegue sobreviver desde ambientes com grande influência antrópica até ambientes mais preservados, como os encontrados nos biomas Mata Atlântica e Pampa. Como consequência desta plasticidade ambiental as populações tendem a ser menores, já que estão mais suscetíveis a distúrbios ambientais frequentes, como, por exemplo, o manejo e corte da vegetação em áreas antropizadas.

A técnica de marcação e recaptura mostrou-se eficaz para a obtenção de dados necessários para estimar os parâmetros populacionais das espécies de *Battus* no sul do Brasil, onde a sazonalidade é bastante marcada. Os picos populacionais de ambas as espécies foram detectados e as taxas de recaptura obtidas são consideradas baixas quando comparado a outros grupos de Lepidoptera, apesar dos resultados concordarem com os padrões demográficos observados para outras espécies da família Papilionidae.

As flutuações nos números de insetos são influenciadas pela sazonalidade, bem como pela disponibilidade de alimento (Wolda 1978). Nesse sentido, os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a disponibilidade de plantas hospedeiras é um fator determinante para a ocorrência das espécies e manutenção das populações de *Battus*.

Em insetos tropicais a disponibilidade de recursos pode variar ao longo do tempo por diversos motivos, tais como sucessões vegetais, introdução ou extinção de espécies, variações de abundância anual ou sazonal, e ainda devido a interferências causadas pelos humanos. Tal heterogeneidade de recursos também é manifestada ao longo de gradientes ambientais, principalmente em áreas de tensão ecológica, como é o caso de Porto Alegre, que se encontra geograficamente em uma zona de transição entre os biomas Mata Atlântica e Pampa. Nestes ambientes, modificações de comportamentos alimentares podem ocorrer pelo fato de novas espécies de hospedeiras se tornarem disponíveis aos herbívoros, como tem sido demonstrado em diversas espécies de insetos (Wolda 1978; Fox & Morrow 1981).

Embora as espécies de *Battus* apresentem plasticidades ecológicas diferenciadas, os resultados deste trabalho apresentam importantes informações sobre os mecanismos que garantem a ocorrência das espécies em simpatria, principalmente nos ambientes de encosta de morro. Considerando que a ocorrência e sobrevivência das espécies estão relacionadas ao nicho ecológico das espécies, que por definição é a soma de todos os fatores ambientais que atuam sobre a ocorrência de um organismo (Hutchinson 1944), quando duas espécies utilizam dos mesmos recursos e ocorrem em sintopia, estamos evidenciando uma sobreposição de nichos. Em ambientes com recursos ou condições limitadas, uma estratégia adaptativa das espécies teria sido desenvolver nichos realizados menos sobrepostos, que possibilitem uma partilha de recursos e a manutenção de populações viáveis (Pianka 1978). Nesse sentido, as evidências da estratificação vertical para sítios de oviposição entre as duas espécies de *Battus* nas áreas de florestas estudadas corroboram a teoria. Novas investigações merecem ser realizadas para que sejam esclarecidos quais mecanismos desencadeiam as respostas diferenciais observadas no comportamento de oviposição das duas espécies estudadas. Quantificar e mapear este tipo de comportamento em outras áreas do Brasil, onde ocorra o mesmo tipo de relação, seria uma abordagem importante para compreender melhor as relações ecológicas entre *Battus* e *Aristolochia*, sobretudo do ponto de vista da coevolução entre Troidini e Aristolochiaceae.

Os resultados com *B. polydamas* revelaram o uso de uma planta hospedeira até então desconhecido pela ciência. Durante as atividades de campo, foi verificado o comportamento de oviposição e a ocorrência de imaturos em folhas de *A. sessilifolia* na região de Porto Alegre. Apesar da extensão do uso desta planta não ser conhecida, a

plasticidade ecológica de *B. polydamas* sugere que a espécie seja capaz de usá-la de forma eficiente, garantindo a manutenção de populações naturais em áreas apresentando grandes densidades de *A. sessilifolia*. Considerando o hábito especialista de *B. polystictus*, os resultados de aceite de *A. sessilifolia* pelas larvas desta espécie de borboletas são instigantes do ponto de vista adaptativo. Apesar de *B. polystictus* utilizar uma pequena gama de hospedeiras, os testes sugerem que, dependendo das condições a que a espécie é submetida, pode haver uma resposta plástica que permita garantir a sobrevivência dos indivíduos mesmo em plantas de baixa qualidade nutricional.

O conhecimento dos requerimentos ecológicos de espécies filogeneticamente próximas, mas que possuem hábitos distintos, sob o ponto de vista conservacionista, é importante para estabelecimentos de planos de manejo e preservação de áreas naturais. Neste sentido, os estudos populacionais com lepidópteros são considerados boas ferramentas para subsidiar tais ações (Freitas & Marini-Filho 2011). Devido à ampla diversidade de borboletas no Brasil, pouco se conhece sobre as estruturas demográficas e sobre as dinâmicas de populações destes insetos. Assim, o presente trabalho representa uma contribuição importante no sentido de elucidar os padrões populacionais de *Battus* no sul do Brasil. Tais resultados são importantes para uma melhor compreensão acerca da biologia populacional de espécies que vivem em ambientes sazonais. Adicionalmente, pesquisas voltadas para a biologia comportamental do uso de plantas hospedeiras alternativas, em cenários ecológicos que envolvam a competição entre as espécies filogeneticamente próximas podem ajudar a esclarecer quais características químicas compartilhadas entre as diferentes espécies utilizadas como hospedeiras permitem o reconhecimento e aceitação das mesmas como alimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(De acordo com as normas da Revista Brasileira de Entomologia)

Brown Jr., K.S., Damman, H.J. & Feeny, P. 1981. Troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) in southeastern Brazil: natural history and foodplant relationship. **Journal of Research on the Lepidoptera** **19**: 199-226.

Cook, L.M., Frank, K. & Brower, L.P. 1971. Experiments on Demography of Tropical Butterflies. I. Survival Rate and Density in Two Species of *Parides*. **Biotropica** **3**: 17-20.

Freitas, A.V.L. & Marini-Filho, O.J. 2011. Plano de Ação Nacional para a Conservação dos Lepidópteros Ameaçados de Extinção. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Brasília.

Fox, L.R. & Morrow, P.A. 1981. Specialization: Species property or local phenomenon? **Science** **211**: 887-893.

Pianka, E.R. 1978. **Evolutionary ecology**. New York. Harper & Row. 397 p.

Wolda, H. 1978. Seasonal fluctuations in rainfall, food and abundance of tropical insects. **Journal of animal ecology** **47**: 369-381.

ANEXOS



Author Guidelines

Authors wishing to submit to *Entomological Science* should read these instructions carefully before preparing their manuscripts. They are also recommended to consult the following reference: *Scientific Style and Format: The CBE Manual for Authors, Editors, and Publishers*, Sixth Edition, CBE Style Manual Committee, 1994, Cambridge University Press.

AIMS AND SCOPE

Entomological Science is the official English language journal of the Entomological Society of Japan. The Journal publishes original research papers and reviews from any entomological discipline or from directly allied field in ecology, behavioral biology, physiology, biochemistry, development, genetics, systematics, morphology, evolution and general entomology. Papers on techniques or applications will be considered for publication if they significantly advance the field of entomological science in the opinion of the Editors and Editorial Board.

ONLINE SUBMISSION

Authors should submit their manuscripts to *Entomological Science* online to facilitate even quicker and more efficient processing. Please log onto the site directly at: <http://mc.manuscriptcentral.com/ens>

All manuscripts submitted to the Journal must comply with these Author Guidelines. Failure to do so will result in return of the manuscript and possible delay in publication. Manuscripts should be written so that they are intelligible to the professional reader who is not a specialist in the particular field. They should be written in English, in a clear, concise, direct style. Where contributions are judged as acceptable for publication on the basis of scientific content, the Editor and the Publisher reserve the right to modify typescripts to eliminate ambiguity and repetition and improve communication between author and reader.

Pre-submission English-language editing

Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services should be paid for and arranged by the author, and the use of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Early View

Entomological Science is covered by Wiley Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled print issue. Early View articles are complete and final. They

have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. As they are in the final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not have volume, issue or page numbers yet, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used for citing and accessing the article. More information about DOIs can be found at <http://www.doi.org/faq.html>. Any articles with nomenclatural acting will not be published in Early View.

MANUSCRIPT CATEGORIES AND STANDARD

Manuscripts may be submitted as research papers or review articles. Research papers should be the product of original scientific research or observation, and are classed as either short or long communications. Short communications should have the main body of the text no longer than three printed pages.

All manuscripts, including short communications, should include a discussion of the significance of the results and their relationship to other work, and will be reviewed by at least two referees. Manuscripts will be considered for publication only if they have not been published or submitted for publication elsewhere.

FORMAT AND PREPARATION

File formats and page settings

Manuscripts must be on A4 size pages, in 12 pt font size, with 24 to 28 lines per page, and with all-round margins of 30 mm. The manuscript has to be submitted as Microsoft Word or Rich Text Format.

Manuscript composition

The manuscript should start with the title of the paper, followed by the names of the authors and membership number (in case author is a member of the Entomological Society of Japan), the addresses of the institutions at which the work was carried out, an abstract, key words and the main body of text. The abstract should be a concise summary (250 words or fewer) of the manuscript's significant content. There should be no more than seven key words, which should not duplicate words in the title and should be arranged in alphabetical order, and preferably include the order and family names of the major organism(s) considered, if not appearing in the title.

The IMRAD format ("Introduction", "Materials and methods", "Results" and "Discussion") is recommended for long manuscripts, although following this format is at the author's discretion. The text of manuscripts submitted as short communications should be undivided.

Character and paragraph formats

Words to be italicized should be typed in italics but should not be underlined, and capitalization should be avoided in all cases except for headings, abbreviations of depositories and/or institutions, and technical terms. Hard returns should be used only at the end of a paragraph and words should not be hyphenated. Other formatting, such as headings and subheadings, should follow that in the latest issue of *Entomological Science*.

Units and numeric values

Measurements should be expressed in SI units (but preferably avoiding cm and dm). Numbers between one and ten in the main body of the text should be written in full except dates, the numbering of figures and , numbers accompanying metrical units (such as mm, m, km, mg, g and kg) including time units (sec, min, h, day, week, month and year), and numbers used in taxonomic descriptions. Numbers greater than ten should be written as numerals. Numbers greater than 1000 should include thousand separators using thin space, e.g. 1 000. Fractions should be written as decimals.

Scientific names

All papers must conform to the latest edition of the International Code of Zoological Nomenclature. The first mention of an animal should include the full scientific name with the authority and, particularly in taxonomic papers, the year of publication. The authority and the year of publication should be separated by a comma. Genus names should not be abbreviated at the beginning of a sentence.

Research permits

If the research was carried out in areas for which research permits are necessary (e.g. nature reserves) or if it deals with organisms for which collection or import/ export permits are required (e.g. protected species), the authors must clearly detail obtaining these permits in the acknowledgments paragraph.

Taxonomic papers

In taxonomic papers, type specimens must be clearly designated and type depositories must be clearly indicated. Authors are required to deposit the name-bearing type material in an internationally recognized institution (not in private collections). For the number of segment, Roman numerals (e.g. tergum X) should be used. Body part terms specific to a given taxon should be explained in the "MATERIALS AND METHODS" or be indicated in figures. The second couplets of the key should start with a dash only (-). The list of specimens examined should be as compact as possible; for example, "Specimens examined. Japan: 1F (IUNH), Mito, 26.xi.2004, J. Kojima; 3C2F (IUNH), . . ." The holotypes (or other name-bearing types) and paratypes (or paralectotypes) are listed separately, and full label data should be given for the name-bearing types in quotation marks when they are designated in the paper.

Acknowledgments

Acknowledgments should be typed in a single paragraph headed "ACKNOWLEDGMENTS", directly preceding the "REFERENCES" section. The source of financial grants and other funding must be acknowledged, including a frank declaration of the authors' industrial links and affiliations. The contribution of colleagues or institutions should also be acknowledged. Personal thanks and thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

REFERENCES

The Harvard (author/date) system of referencing should be used. In the text, give the author's name followed by the year in parentheses: Smith (2000). If there are two authors, use 'and': Smith and Jones (2001); but if cited within parentheses use '&': (Smith & Jones 2001). When reference is made to a work by three or more authors, the first name followed by *et al.* should be used: MacDonald *et al.* (2002). This format of

referencing should also be adopted for the synonym list in a taxonomic paper; for example, *Vespa crabro* Linnaeus (1758): 572.

In the reference list, references should be listed in alphabetical order. Cite the names of all authors (or editors) when there are six or fewer; when seven or more, list the first three followed by *et al.* Do not use *ibid.* or *op cit.* The title of the cited work should be given in full and journal titles should not be abbreviated. Reference to unpublished data and personal communications should be avoided if at all possible but if absolutely necessary should not appear in the reference list but should be cited in the text only (e.g. 'A. Smith, unpubl. data, 2000'). All other citations in the text, tables or figures must be listed in the reference list.

Journals

Atkinson WD, Shorrocks B (1984) Aggregation of larval Diptera ... for coexistence. *American Naturalist* **124**, 336-351.

Journal article using DOI articles published online in advance without volume, issue, or page number (More information about DOIs: <http://www.doi.org/faq.html>)

Lo N, Gloag R S, Anderson D, Oldroyd B P (2009) A molecular phylogeny of the genus *Apis* suggests that the Giant Honey Bee of the Philippines, *A. breviligula* Maa, and the Plains Honey Bee of southern India, *A. indica* Fabricius, are valid species (p). *Syst. Entomol.* Published online: 8 DEC 2009; DOI:10.1111/j.1365-3113.2009.00504.x

Books

Gerson U, Simley R (1990) *Acarine Biocontrol Agents: An Illustrated Key and Manual*. Chapman and Hall, London.

Chapter in a book

Weis AE (1992) Plant variation ... herbivore performance. In: Fritz RS, Simms EL (eds) *Plant ... and Pathogens*, pp. 140-171. University of Chicago Press, Chicago.

Title in English but text in a language other than English

Matsuura M (1995) *Social Wasps of Japan in Color*. Hokkaido University Press, Sapporo. (In Japanese.)

Title translated by the author(s) into English

Tanaka A (1990) [*Feeding Habits of Diptera*]. Hokuryukan, Tokyo. (In Japanese.)

Electronic material

Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2002) Arlequin ver. 2.001. University of Geneva, Geneva. Available from: <http://anthro.unige.ch/arlequin>.

Schmid-Egger C (2001b) Schlüssel für die Männchen und Weibchen der europäischen Sceliphron-Arten (*Hymenoptera: Sphecidae*) [homepage on the Internet]. Bembix Online, Herrsching, Germany [updated August 2001; cited August 2003]. Available from: http://www.bembix-newsletter.de/Original_contributions/key_sceliphron.htm/.

Japanese Ant Database Group (2003) Japanese Ant Image Database 2003 [database on the Internet]. Available from: <http://ant.edb.miyakyo-u.ac.jp/E/index.html/>.

Noyes J (2002) *Interactive Catalogue of World Chalcidoidea*, 2nd edn [CD-ROM]. Taxapad, Vancouver and The Natural History Museum, London.

Reference management tools

We recommend the use of a tool such as Reference Manager for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here: <http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

TABLES AND FIGURES

Tables and figures should be limited to those required for clear communication and must be referred to in the text. The same data should not be presented in both table and figure format. Each table should be typed on a separate sheet with title and legend, and be numbered in sequence with Arabic characters. In electronic files, tables should be prepared by using the 'Insert Table' function in MS Word or each cell should be separated by a tab.

All illustrations, including photographs, graphs and maps are treated as figures, even if they are arranged in plates. Figures should be arranged on paper no larger than 170 x 220 mm (A4 size) and, if possible, they should be sized to fit within a single column (up to 80 mm) in vertically long or full text width (up to 170 mm) in horizontally wide in order to utilize the paper layout. This is applied to the Figures in plate but also to all illustrations. Authors may be asked to restructure the figures in plate by order of Editors if some are considered to be smaller.

All lettering in the figures, where possible, should be in '**Arial**' font and 12 pt or bigger. The degree of magnification used should be indicated by means of a scale line.

Figure legends should be included with the main text of the manuscript, after the references on separate page(s).

For digital figure files format, 300 dpi TIFF in halftone images and EPS or 800 dpi TIFF in line arts or combination figures are recommended. Other common image file formats (e.g. JPEG, PNG) are also allowed on authors' responsibility. If the provided files are too low in resolution or are problematic, authors may be asked for a resupply after acceptance.

Wiley websites for authors also provide detailed information on the preparation and submission of articles at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/journal.asp>, and figures at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Color figures

Color illustrations (including color photographs) will be accepted and should be submitted in good quality. In print, however, they will appear in color only if the author agrees to make a contribution (¥64 000 for the first three color figures and ¥32 000 for each extra color figure) to printing costs. Otherwise, the figures will be printed in black and white.

Color on Web Services

In the event that an author is not able to cover the costs of reproducing color figures in color in the printed version of the journal, *Entomological Science* offers authors the opportunity to reproduce color figures in color for free in the online version of the article (but they will still appear in black and white in the print version). If an author wishes to take advantage of this free color-on-web service, they should liaise with the Publisher to ensure that the appropriate documentation is completed. Please note that, in such cases, it is the authors' responsibility to prepare figures to be illustrated enough to convey the necessary information even after they are converted into black and white.

Supporting Information

Authors are welcome to submit additional "Supporting Information", such as data sets or additional figures or tables. This material will not be published in the print edition of the journal but it will be viewable via the online edition. Only material that is a valuable addition to the article should be included. Such supporting information should be referred to in the text as, for example, "see Appendix S1 in Supporting Information".

Supporting files are hosted by the Publisher in the format supplied by the author and are not copy-edited by the Publisher. It is the responsibility of the author to supply supporting information in an appropriate file format and to ensure that it is accurate and correct. Prior to publication, authors will be sent the URL of their Supporting Information for them to check the content. Extensive editing of material is not possible at this stage and the author has the responsibility to ensure that material is sent in a correct form at the time of submission.

The author must advise Wiley if the URL of the Web site where the Supporting Information is located changes. The content of the Supporting Information must not be altered after the paper has been accepted for publication.

Authors should include a 'Supporting Information' section immediately after their References section, which should be in the following form:

Supporting Information Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Appendix S1 Short title of supplementary appendix S1*

Appendix S2 Short title of supplementary appendix S2

Please note: Wiley is not responsible for the content or functionality of any supplementary materials supplied by the authors. Any queries (other than missing material) should be directed to the corresponding author for the article.

*Only short titles to appendices should be given in this section; full titles can be given with the Supporting Information itself.

For information on how to submit files, please click [Here](#).

COPYRIGHT

Authors publishing in the Journal will be asked to sign a Copyright Assignment Form. Author can download the form by [clicking here](#).

In signing the form, it is assumed that authors have obtained permission to use any copyrighted or previously published material. All authors must read and agree to the conditions outlined in the form, and must sign the form or agree that the corresponding author can sign on their behalf. Articles cannot be published until a signed form has been received.

PUBLICATION ETHICS GUIDELINES

Entomological Science is committed to integrity in scientific research and recognizes the importance of maintaining the highest ethical standards. Please find the following Best Practice Guidelines on Publication Ethics. Further information at <http://publicationethics.org/>

English:

<http://authorservices.wiley.com/bauthor/publicationethics.asp>

Chinese:

http://authorservices.wiley.com/bauthor/PublicationEthic_Simplified_Chinese_low.pdf

Japanese:

http://authorservices.wiley.com/bauthor/Publication_Ethics_Bklt_jap.pdf

PROOFS

It is essential that corresponding authors supply an email address to which proofs can be emailed. Notification of the URL from where to download a Portable Document Format

(PDF) typeset proof will be sent via email as a final check of the layout, tables and figures. Alterations (other than the essential correction of errors) are unacceptable at PDF stage. Further instructions will be sent with the proof.

OFFPRINTS

A minimum of 50 offprints will be provided upon request at the author's expense. These paper offprints may be ordered online. Please visit <http://offprint.cosprinters.com/>, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields. If you have queries about offprints please email offprint@cosprinters.com.

PAGE CHARGES

It is Journal policy that a page charge fee is levied on articles appearing in the Journal that are in excess of 16 printed pages for Original Articles and unsolicited Review Articles. No page charge is applied to invited Articles.

MEMBERS (The Entomological Society of Japan) at least one author of the article: For manuscripts exceeding these limits a page charge of ¥8 000/US\$65 per each additional page is levied.

NON-MEMBERS: For manuscripts exceeding these limits a page charge of ¥12 000/US\$100 per each additional page is levied. This procedure notwithstanding, no paper will be rejected or given extraordinary treatment on any basis other than its scientific merit. Any articles received by Wiley with page charges will not be published until the form has been returned.

Membership in The Entomological Society of Japan is open to anyone who has interest in entomology. Please visit the society's website at: <http://www.soc.nii.ac.jp/entsocj/e/e-home.htm>

Author material archive policy:

Authors who require the return of any submitted material that is accepted for publication should inform the Editorial Office after acceptance. If no indication is given that author material should be returned, Wiley will dispose of all hard copy and electronic material two months after publication.

Wiley Author Services:

Author Services enables authors to track their article, once it has been accepted, through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated emails at key stages of production so they do not need to contact the production editor to check on progress. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/author.asp> for more details on online production tracking and for a wealth of resources, including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

OnlineOpen

OnlineOpen is a service from Wiley that offers authors whose papers are accepted for publication the opportunity to pay for their article to become open access (i.e. free for all to view and download) via the Wiley Online Library. Each OnlineOpen article will be subjected to a one-off fee of \$3,000 (payable only in US Dollars) to be met by or on behalf of the Author in advance of publication. Upon online publication, the article (both full-text and PDF versions) will be available to all for viewing and download free of charge. The print version of the article will also be branded as OnlineOpen and will

draw attention to the fact that the paper can be downloaded for free via the Wiley Online Library.

Any authors wishing to have their paper OnlineOpen will be required after acceptance of the manuscript to complete the OnlineOpen Order Form at:<https://onlinelibrary.wiley.com/onlineOpenOrder>

(Please note this form is for use with OnlineOpen material ONLY.)

This form should be faxed or emailed to the Editorial Office as soon as possible after notification of acceptance (preferably within 24 hours to avoid any delays in processing).

****IMPORTANT:** Please do not inform the Editorial Office or Editors prior to acceptance whether or not you intend to take up the Online Open option. ******

Address for Editorial Correspondence

Editorial Office of Entomological Science, Graduate School of Agriculture, Hokkaido University Kita Ku, Sapporo 060-8589, Japan.

Tel: +81-11-706-2480

Fax: +81-11-706-4939

Email: ent-sci@agr.hokudai.ac.jp

Author Guidelines:

Each submission must include the following:

A message to the Editor. This message should state the hypothesis of the manuscript and what it adds to scientific knowledge. You should state if there been any previous correspondence with JIS regarding this manuscript. Do not suggest potential reviewers: JIS will not use them.

The manuscript must include the figures and tables at the end of the manuscript after the references. Appropriate legends must accompany the figures and tables.

The tables must also be submitted separately from the manuscript as Excel or Word files.

The figures must also be submitted separately from the manuscript as .jpg or .png files.

Guidelines for writing the manuscript

There is no limitation on the length of a manuscript. JIS does not distinguish short communications from longer ones.

The organization of a manuscript is up to the authors. However, all manuscripts should show the title, list of authors, institutional addresses, email addresses of ALL of the authors, and keywords (keywords must be different from those in the title).

Recent decisions by Google mail have resulted in JIS mail being blocked. Please avoid using a gmail address.

Most manuscripts include an Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements and References. Reviews and taxonomic papers do not follow this organization.

Combining the results and discussion is discouraged.

Fonts, manuscript design, equations:

The manuscript should be written as a Word document. Use Times New Roman as the font, font size 12

- Do not indent paragraphs
- Lines should be numbered (continuously, not by page)
- Page breaks should not be used anywhere in the text
- Dividing the text into sections and using subtitles can be helpful to the reader, but sections should not be numbered
- Please provide images of equations

Abbreviations:

JIS discourages the use of abbreviations. Their use makes the text difficult to follow as the reader must continually try to remember what they mean.

- Abbreviations should not be used for the species name (use *H. zea*, not CBW), common names should not be used in place of species names (use 'B. mori', not 'silkworm').
- Standard abbreviated words can be used without definition: DNA, RNA, PCR, g, mg, µg, mL, µL,.

Species names

The common name and full species names with authority and taxonomy of all organisms used in the experiments must be given in the Abstract and the first use in the text e.g. the fire ant, *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae). Thereafter the genus name should be abbreviated: *S. invicta*.

For species not used in the experiments do not give the authority or taxonomy. Giving both the common name and species name is helpful to the reader.

The Title

The title should be concise and include the common names and species names (without authority or taxonomy). Avoid abbreviations in the title, except for standards such as DNA, PCR, etc.

Authors

Names can be a source of confusion as they are used differently in different countries and cultures. A major source of confusion can be defining what the first name and last name means. If this is done incorrectly it will be very difficult to use author names to search for a paper. We use the western standard of given name, middle name and family name, with apologies to those that use the eastern format. The western format is widely used for international journals.

The order of names should be: given name, middle name (or initial), family name.

All authors must have contributed to the work that can include conception, design, execution, analysis and interpretation. Acquisition of funding, or general supervision of the laboratory does not confer authorship. Honorary or guest authorship is not acceptable. The first author is responsible for the integrity of the work, ensuring that the data obtained from all authors are complete, accurately presented and interpreted.

Colleagues that contributed to the work, but do not qualify as authors, should be mentioned in the text (e.g., specimens were identified to species by S. S. Smith) and in the Acknowledgements (e.g., we thank S. S. Smith, Department of YYY, University of XXX, city, state, for species identification).

Please carefully consider who the authors should be. Authors will not be changed after submission.

Use a superscript number to link an author to an institution. Use a superscript letter to link an author to an email address (e.g., S. S. Smith^{1a} and Y. Y. Yin^{2b}). Email

addresses of all authors must be included. Correspondence will be sent to all authors. At the time of publication one, or more, authors can be chosen as the corresponding authors.

The Abstract

The abstract should state the hypotheses, briefly describe the techniques used, and summarize the results. Details of the results should not be included, instead focus on the statistical significance of the results. Abbreviations should be avoided except for common usage terms such as DNA, PCR etc. Citations should never be included.

The abstract should include the common and full species names with authority and taxonomy for all of the organisms studied, including animals, plants, and microorganisms.

The Introduction

The introduction should discuss the background in terms that would be understood by all members of the scientific community, not just specialists in the topic area. It should include a brief description of previous work and include key references, but you should not cite every paper published on the topic. It should describe your hypotheses and the specific problem being addressed. Why did you choose this problem? Why is it interesting? Conclude by stating what you learned.

Materials and Methods

Your goals in this section are to describe how you did this work in sufficient detail so that it could be replicated by qualified colleagues. If you are using a new method it must be described in detail. If you modify a method then the changes must be described in detail. Even if the method is well established, and you can cite a reference that does describe it in detail, what you did must be understandable. Err on the side of providing too much detail.

If your manuscript is a descriptive paper (e.g., biodiversity etc.) or a field study describe when and where the work was done. Give the coordinates of the location. Describe the relevant plants and animals present in the location (include common names, species names, authority and taxonomy). Specify if endangered or protected species were studied or sampled.

- Protocols, for example, times and temperatures used for PCR, steps used in preparing tissues for microscopy, descriptions of how an extract was prepared, must be described in detail. The source of cell lines must be given.

- Provide URLs for companies that you purchased materials from i.e., Sigma, (www.sigmaaldrich.com). State levels of purity of chemicals used. Provide information on the conditions used for incubation of animals or samples i.e., temperatures, relative humidity, dark/light schedule.

- Sequences should be deposited in a publically available database such as GenBank, ENA, DDBJ, UniProt, etc.. Accession numbers must be provided in the text in parentheses after the first mention in the text.

- Samples of organisms, cell lines, or tissues used or studied should be deposited in a museum or other storage facility.

- Do not use personal pronouns i.e., I did this and then I did that. Put the emphasis on what you did not who did it. The list of authors makes it clear who did it.
- Equations should be images. Do not include equations for simple calculations, e.g., calculating a percentage.
- Describe the statistical tests you used in detail. Provide references or cite URLs that describe these tests. Editors and reviewers will often reject papers for poor statistical analysis. Experiments should be designed to provide the data needed for the desired type of analysis. The advice of a statistician is a worthwhile investment. When reporting levels of significance use $p < 0.05$ for a significant difference and $p < 0.01$ for a highly significant difference. There is no super significant level above 0.01 that makes sense biologically.

Results

This section should describe the results, and describe how you interpret the results with reference to the hypotheses described in the introduction.

- Do not combine the results and discussion. It is almost always easier for the reader if your results are discussed in the Results and the results of other workers are described in the Discussion.
- Unpublished work can be mentioned in the text as “unpublished data”, or “unpublished observations” and the source of this information should be clear, e.g., (unpublished data, S. S. Smith). The contribution of Smith should be cited in the acknowledgements.
- Spell out, and capitalize the words ‘Figure’ and ‘Table’.
- Data are placed in a table or text to make it easier for the reader to examine them. Do not repeat the data that is in a table in the text.
- Use the text to discuss the statistical significance of the data.

Discussion

- In this section you should first summarize your results. Do not repeat what you said in the results section. This summary should flow directly from the results, not from your opinion of the results, i.e., your reasoning should be obvious to the reader. You should discuss how the results relate to the hypotheses stated in the introduction. Are the hypotheses accepted or rejected? How does this affect future research?
- Then relate your results to what has been described in the literature. Use the past tense when discussing the literature.
- Personal pronouns are appropriate when you are distinguishing your work from the work of other people: "In contrast to Smith (1980) we found that ...". It is especially important to do this to make sure the reader knows that you are referring to your work, not the cited work. You can also use the personal pronoun to avoid clunky statements

like ‘the present researchers found’. For example, ‘the results we obtained agree with the results of Jones et al. (2012)...’

- You can be more speculative in the conclusions, but it should be made obvious that your opinion is not necessarily supported by the data, i.e., ‘In our opinion the data suggest that...’. The conclusions can also include your suggestions for future research.

Acknowledgements

Include people who helped, what they did, and their institutional addresses. Include names and institutions of personal communications cited in text. Include information of grant support.

References

Only published or accepted papers should be included in the reference list. An accepted paper should be cited as “In press”.

- Manuscripts that have been submitted but not yet accepted cannot be cited.

- An abstract is not a citable reference.

References must be listed at the end of the manuscript in alphabetical order of the last name of the first author. Note punctuation, fully spelled out names of journals, and use of italics for journal names. Book titles and titles of theses should also be in italics.

Book citations

Adams BC. 1990. Strategies in the biological control of insects. In: Bass M, Call LE, Adams JP, Editors. pp. 66-83. *Issues in Biological Control*. Intercept.

Cohen AC. 2004. *Insect Diets Science and Technology*. CRC Press.

Grimaldi D, Engel MS. 2005. *Evolution of the Insects*. Cambridge University Press.

Journal citations

Griffin JN, de la Haye KL, Hawkins SJ, Thompson RC, Jenkins SR. 2008. Predator diversity and ecosystem functioning: Density modifies the effect of resource partitioning. *Ecology* 89: 298-305.

Kang L, Chen X, Zhou Y, Liu B, Zheng W, Li R, Wang J, Yu J. 2004. The analysis of large-scale gene expression correlated to the phase changes of the migratory locust. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101: 17611-17615.

Leal WS, Hasegawa M, Sawada M. 1992. Identification of *Anomala schonfeldti* sex pheromone by high-resolution GC-Behavior bioassay. *Naturwissenschaften* 79: 518–519.

Citations with doi

Mann WM. 1928. A new *Microdon* from Panama. *Psyche* 35(3): 168-170. doi:10.1155/1928/73806.

Whitehill JGA, Popova-Butler A, Green-Church KB, Koch JL, Herms DA, Bonello P. 2011. Interspecific proteomic comparisons reveal ash phloem genes potentially

involved in constitutive resistance to the emerald ash borer. PLoS ONE 6 (9): e24863. doi:10.1371/journal.pone.0024863

Institution

SAS Institute, Inc. 2006. SAS OnlineDoc®. Version 9.1.3. Available online: <http://support.sas.com/onlinedoc/913/docMainpage.jsp>

Citation with URL

Tschinkel WR. 2011. The nest architecture of three species of north Florida Aphaenogaster ants. Journal of Insect Science 11:105. Available online: <http://www.insectscience.org/11.105>

Thesis

Werling BP. 2009. Conserving natural areas to enhance biological control of Wisconsin potato pests: A multi-scale landscape study. Ph.D. Thesis, Department of Entomology, University of Wisconsin, Madison, WI, USA.

Foreign language

Zhou W, Wang R. 1989. Rearing of *Orius sauteri* (Hemiptera: Anthocoridae) with natural and artificial diets. Chinese Journal of Biological Control 5: 9-12. (in Chinese)

Guidelines for preparing figures

Figures should be placed at the end of the manuscript after the References. A legend should be prepared for each figure. The legend should be above the figure and not part of the figure.

Figures should also be submitted separately from the manuscript in .png or .jpg. For high quality images, such as micrographs or detailed images, use .tiff. Such files can be very large. Use LZW to compress file size.

Image quality should be 300 ppi (pixels per inch).

Figures can be prepared using Adobe Photoshop, GIMP (freeware) or Inkscape (freeware).

Figures can be placed in the manuscript using Word/Edit/Paste Special/Picture. Size the figures for maximum visibility and allow the label to be on the same page. Do not use page breaks between figures.

Do not combine graphs, sequences or tables with images. Instead create separate files for each. Combining them will reduce quality.

For sequences use shading with care as dark shading may obscure the letters.

Avoid boxes, underlines or arrows that are not part of the document as they can be displaced. If they must be used, create an image of the sequence with them properly placed.

When figures are colored use RGB not CMYK. Use a bit depth of 8 bits per channel. Figures should be flattened before saving.

The background should be white. Do not use a transparent background. Do not allow empty space around the figure. That makes it harder to fit them on a page.

Figures should be no wider than 15 cm and higher than 20 cm.

Line graphs and black and white figures should also have a resolution of 300 ppi to ensure that the edges of the lines are crisp and lettering is readable.

Guidelines for preparing tables

Tables should be placed at the end of the manuscript after the Figures. A legend should be prepared for each table. The legend should be above the table. Footnotes should be below the table. You may create an image for the table inserted into the manuscript. This allows you to size the image. You can use Photoshop or GIMP to create the image. Insert the image using Word/Edit/Paste Special/Picture. Alternatively, you can copy the table in an Excel document and paste it into the manuscript using Word/Edit/Paste Special/Microsoft Word Document Object

Do not use page breaks between tables.

The tables must also be submitted separately from the manuscript in Excel or Word files. These files must not be images.

Wide tables will not fit on a page. Create long tables instead. Large or complicated tables can be submitted as supplemental information.

Tables must have

- headings for each column
- a single cell must include all values
- indicate headings with bold type
- use periods not commas for data: 167.36, not 167,36 (this is also true for the text).

Tables should not

- have empty columns, rows or cells
- use spaces within cells to center data
- put SD or SEM or levels of significance in separate cells
- Use merged cells to create a heading for multiple columns.
- The data must be in single cells
- Comparisons of significance can be used for means in rows or columns. You must be clear about what is being compared.

Guidelines for preparing multimedia files: sound and video

Adding a video or audio file can be a valuable addition to a manuscript. When preparing such a manuscript it is important that you reduce the length as much as possible. It often helps to divide the presentation into sections that are relevant to the points being made. For a video you might consider inserting text introducing each section, i.e., searching behavior, mating etc. The file should be no more than 10 MB. The quality of the file should be 128 kbits/s AAC audio and 480p H.264 video in MPEG-4 container.

You can create the file in any format. We will use VLC (freeware) for reviewer and reader viewing via streaming.

Preparing a taxonomic manuscript

New Species: Descriptions of new species must follow the ICZN (International Code for Zoological Nomenclature) for publishing descriptions of new species. The code is available online at <http://www.nhm.ac.uk/hosted-sites/iczn/code/>

In 2012 the ICZN published new rules regarding the publication of new species descriptions in a digital format such as is used by JIS. See *Zootaxa* 3450: 1-7, 2012 available online at <http://www.mapress.com/zootaxa/list/2012/3450.html>

These new rules allow us to register your new species in ZooBank, but your description has to comply with the ICZN code to be registered. Please be aware that you should avoid using new species names prior to publication in JIS. This includes using the names in abstracts or notices of papers to be delivered at meetings. Such information can be published and would pre-empt their publication in your paper.

Please note that you must also follow the Instructions for Authors including the reference style. The manuscript should be submitted as a .doc file with figures and tables after the references. You must also separately submit figures as .png and tables as .xls. DO NOT submit the manuscript as a PDF.

Format of the paper: As these papers use specialized terminology and formatting it will help if you read a taxonomic paper that we have published.

Some examples:

Mirab-balou M, Tong X-l, Chen X-x. 2012. A new species of Scirtothrips infesting *Ginkgo biloba* in eastern China. *Journal of Insect Science* 12:117. Available online at: <http://www.insectscience.org/12.117/i1536-2442-12-117.pdf>

Dai W, Viraktamath CA, Zhang Y. 2012. *Ulopsina*, a remarkable new ulopine leafhopper genus from China. *Journal of Insect Science* 12:70. Available online at: <http://www.insectscience.org/12.70/i1536-2442-12-70.pdf>

Hodgson, C. & Kondo, T. 2007. A second species of *Etiennea* (Coccidae: Coccoidea: Sternorrhyncha) from the New World. *Journal of Insect Science* 7:51. Available online at: <http://www.insectscience.org/7.51/i1536-2442-2007-51.pdf>

Kondo, T. 2006. A new African soft scale genus, *Pseudocribrolecanium* gen. nov. (Hemiptera: Coccoidea: Coccidae), erected for two species, including the citrus pest *P. andersoni* (Newstead) comb. nov. *Journal of Insect Science*. 6:1. Available online at: <http://www.insectscience.org/6.01/i1536-2442-2006-01.pdf>

The following recommendations were taken from the journal “Systematic Entomology” with a few modifications.

Papers must conform to the articles and recommendations of the International Code of Zoological Nomenclature.

New taxa must be clearly differentiated from existing taxa.

Holotypes, paratypes, lectotypes and neotypes must be deposited in a recognized scientific or educational institution that maintains a research collection, with proper facilities for preserving name-bearing types, and have them accessible for study.

New distributional and other noteworthy records should be documented by voucher specimens deposited in a museum or similar institution.

The abbreviations: gen.n., sp.n., syn.n. and comb.n. should be used to distinguish all new taxa, synonymies or new combinations. An author's name must follow the name of a taxon without any intervening punctuation, and a comma must be inserted between the name of the author and the date of publication. If a species is transferred from its original genus, the author's name must then be placed in parentheses. The name of a subsequent user of a scientific name must be separated from that of the original author by a semicolon or the word 'of'.

When describing new species, one specimen must be designated as the holotype, other specimens mentioned in the original description are to be listed as paratypes. Additional specimens studied, but not regarded as paratypes, should be listed separately.

For lectotype designations, consider Declaration 44, Bulletin of Zoological Nomenclature, 60(4), Dec. 2003, 263. The complete data of the holotype and paratypes, and the Institutions or museums in which they are deposited, must be recorded in the original description, e.g.:

Holotype: MEXICO, intercepted in USA, on *Bursera* sp., 3.ii.2005, B. Abijoy (USNM): adult ♀, young and in good condition.

Paratypes: data as for holotype (USNM): 4 adult ♀♀, in good condition but 1 partially sclerotised and other 3 heavily sclerotised.

Neotype: adult ♀, here designated (USNM). USA, Alabama, Auburn, 32°36'50"N, 85°28'50"W, 2.v.2006, coll. T. Kondo, ex *Liriodendron tulipifera*.

All material examined should be listed in similar format: localities should be cited in order of increasing precision as in the examples; names of countries should be in capitals. Sex symbols should be used rather than 'male' and 'female'.