

Este exemplar corresponde à redação final da tese
aprovada pela comissão julgadora, após ser defendida
pelo candidato Sr. José Roberto Trigo.

10 de fevereiro de 1988

Keith Spalding Brown Jr.

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual de
Campinas, para a obtenção do Título de
Mestre em Ciências Biológicas (Ecologia).

ORIENTADOR: Prof. Dr. KEITH SPALDING BROWN Jr.

ECOLOGIA QUÍMICA NA INTERAÇÃO ITHOMIINAE (LEPIDOPTERA:
NYMPHALIDAE)/ECHITOIDEAE (ANGIOSPERMAE: APOCYNACEAE).

JOSÉ ROBERTO TRIGO

CAMPINAS/SP

1987

A minha mãe que não é o He-Man
mas me deu a maior força.

Ao Tri, Maricy, Sandra, Evandro e Siane pela ajuda no decorrer da tese;

Aos amigos Evandro, Tri, Cica, Ana Beatriz, Maricy, Marquinhos, Rosebel, Olga, Alpina, Claudia, Cris, Klink, Adriana, Waltinho, Patricia, Nivaldo, Gilda, Célio, Dulce, Marcio, Martinho e Alex, pelas cervejas e pela amizade;

As minhas paixões pelo Δt da minha tese.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO.	1
1. SUBSTÂNCIAS SECUNDÁRIAS NA INTERAÇÃO ECOLÓGICA ENTRE INSETOS E PLANTAS.	1
2. OS ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS.	4
3. A SUBFAMÍLIA ITHOMIINAE.	7
3.1. Relação entre Ithomiinae e suas plantas hospedeiras.	14
4. ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS EM INSETOS.	15
4.1. Alcalóides Pirrolizidínicos em Ithomiinae.	16
4.2. Ithomiinae/Echitoideae/Alcalóides Pirrolizidínicos.	17
5. OBJETIVOS.	19
MATERIAIS E MÉTODOS.	20
1. ÁREAS DE ESTUDO.	20
2. ORGANISMOS ESTUDADOS.	28
2.1. Lepidópteros.	28
2.2. Plantas hospedeiras e plantas utilizadas como fonte de alimento por adultos.	29
3. DINÂMICA POPULACIONAL.	30
3.1. Estimativa Populacional, Proporção Sexual e Estrutura Etária.	30
3.2. Distância Percorrida por Lepidópteros.	32
3.3. Fontes de Alimentação de Adultos.	33

4. PLANTAS HOSPEDEIRAS E ESTÁGIOS IMATUROS.	33
5. ANÁLISE QUÍMICA.	34
5.1. Fracionamento Químico de Plantas e Insetos.	34
5.2. Isolamento e Identificação de Alcalóides Pirrolizidínicos.	37
5.2.1. Cromatografia em Camada Fina.	37
5.2.2. Cromatografia de Partição.	37
5.2.3. Análise Espectral de Alcalóides Pirrolizidínicos em Ressonância Magnética Nuclear.	38
5.3. Colorimetria de Alcalóides Pirrolizidínicos.	38
5.4. Redução com NaBH_4 .	40
6. QUANTIFICAÇÃO DE ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS EM BORBOLETAS E PLANTAS.	44
7. BIODENSAIS PARA ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS COM A ARANHA <i>Nephila clavipes</i> .	45
8. ASSIMILAÇÃO DE ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS POR BORBOLETAS.	48
RESULTADOS.	49
1. DINÂMICA POPULACIONAL.	49
1.1. Estimativa Populacional, Estrutura Etária, Proporção Sexual e Distância Percorrida em <i>Ithomiinae</i> .	49
1.2. Fenologia das Plantas Hospedeiras.	51
1.3. Visitas à Fontes de Alimentação.	61
1.4. Predação e Parasitismo em Estágios Imaturos.	68
2. ANÁLISE QUÍMICA DE PLANTAS E INSETOS.	74
2.1. Fracionamento Químico de Plantas e Insetos.	74

2.2. Ressonância Magnética Nuclear de Alcalóides Pirrolizidínicos.	77
2.3. Redução com NaBH ₄ .	77
2.4. Variação de Alcalóides Pirrolizidínicos em Insetos e Plantas.	82
2.4.1. Em lepidópteros adultos.	82
2.4.1.1. Entre amostragens mensais.	82
2.4.1.2. Entre sexos.	84
2.4.1.3. Entre populações e espécies.	89
2.4.1.4. Entre classes etárias.	92
2.4.1.5. Entre partes do corpo.	92
2.4.2. Em estágios imaturos e adultos recém emergidos.	108
2.4.3. Em plantas hospedeiras.	113
3. BIOENSAIOS PARA ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS COM A ARANHA <i>Nephila clavipes</i> .	113
DISCUSSÃO.	120
1. DINÂMICA POPULACIONAL E FONTES DE ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS.	120
1.1. Dinâmica Populacional em <i>Aeria olená</i> e <i>Tithorea harmonia</i> .	120
1.2. Fontes de Alcalóides Pirrolizidínicos.	130
2. VARIAÇÃO DE ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS EM POPULAÇÕES NATURAIS.	132
2.1. Em Lepidópteros.	132
2.2. Em Plantas.	142

3. DEFESA QUÍMICA CONTRA PREDACÃO POR <i>Nephila clavipes</i> . O PAPEL DOS ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS.	144
3.1. Defesa Química em <i>Aeria olena</i> .	145
3.2. Defesa Química em <i>Tithorea harmonia</i> .	148
3.3. Experimentos com <i>Mechanitis lysimnia</i> .	149
3.4. Aplicação Tópica de Alcalóides Pirrolizidínicos.	151
3.5. Ação de Alcalóide Pirrolizidínicos em Defesa Química.	151
3.5.1. Observações, experimentos, hipóteses e críticas.	153
CONCLUSÕES.	158
RESUMO.	160
ABSTRACT.	163
BIBLIOGRAFIA.	165

INDICE DE TABELAS.

- Tabela 1. Deslocamentos químicos (δ , ppm) de prótons de alcalóides 1,2-desidropirrolizidínicos monoésteres ($C_{15}H_{25}NO_5$) (segundo CULVENOR & SMITH, 1966). 41
- Tabela 2. Tamanho populacional, estrutura etária e proporção sexual na população de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva, no período de dezembro de 1983 a julho de 1985. 52
- Tabela 3. Tamanho populacional, estrutura etária e proporção sexual na população de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra, no período de setembro de 1984 a julho de 1985. 56
- Tabela 4. Distância percorrida entre recapturas por *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva e *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra. 60
- Tabela 5. Número de visitas de *Aeria olena* em plantas da Mata de Costa e Silva, no período de dezembro de 1983 a julho de 1985. 64

Tabela 6. Relação entre sexo e visitas a fontes de alimento com ou sem PAs na população de <i>Aeria olena</i> da Mata de Costa e Silva.	65
Tabela 7. Plantas visitadas por <i>Aeria olena</i> em outras localidades.	66
Tabela 8. Número de visitas de <i>Tithorea harmonia</i> em plantas da Mata da Pedra, no período de janeiro de 1984 a julho de 1985.	71
Tabela 9. Relação entre sexo e visitas a fontes de alimento com ou sem PAs na população de <i>Tithorea harmonia</i> da Mata da Pedra.	72
Tabela 10. Plantas visitadas por outros <i>Ithomiinae</i> .	73
Tabela 11. Fracionamento químico de plantas e insetos.	75
Tabela 12. Quantidade média de bases totais ($\mu\text{g}/\text{indivíduo}$) em <i>Aeria olena</i> da Mata de Costa e Silva, no período de fevereiro de 1984 a julho de 1985.	83

- Tabela 13. Quantidade média de bases totais (μg /indivíduo) em Aeria olena da Serra do Japi, no período de fevereiro a julho de 1985. 85
- Tabela 14. Quantidade média de bases totais (μg /indivíduo) em Mechanitis polymnia da Mata de Costa e Silva, no período de fevereiro a julho de 1985. 86
- Tabela 15. Quantidade média de bases totais (μg /indivíduo) em Tithorea harmonia da Mata da Pedra, no período de janeiro de 1984 a julho de 1985. 87
- Tabela 16. Variação de PAs entre sexos. 88
- Tabela 17. Percentagem média de bases totais (em relação ao peso seco) em Ithomiinae. 90
- Tabela 18. Percentagem média de N-óxidos (em relação ao total de PAs) em Ithomiinae. 91
- Tabela 19. Quantidade média de bases totais (μg) em classes etárias de Aeria olena da Mata de Costa e Silva. 93
- Tabela 20. Quantidade média de bases totais (μg) em classes etárias de Aeria olena da Serra do Japi. 94

Tabela 21. Quantidade média de bases totais (μg) em classes etárias de <i>Mechanitis polymnia</i> da Mata de Costa e Silva.	95
Tabela 22. Quantidade média de bases totais (μg) em classes etárias de <i>Tithorea harmonia</i> da Mata da Pedra.	96
Tabela 23. Percentagem média de bases totais em partes do corpo <i>Ithomiinae</i> capturados no mês de julho.	98
Tabela 24. Percentagem média de bases totais (normalizada) em partes do corpo de <i>Ithomiinae</i> capturados no mês de julho.	99
Tabela 25. Concentração relativa de PAs em partes do corpo de <i>Ithomiinae</i> capturados no mês de julho.	101
Tabela 26. Percentagem média de bases totais em partes do corpo <i>Tithorea harmonia</i> .	103
Tabela 27. Percentagem média de bases totais (normalizada) em partes do corpo de <i>Tithorea harmonia</i> .	104
Tabela 28. Concentração relativa de PAs em partes do corpo de <i>Tithorea harmonia</i> .	106

Tabela 29. Presença de PAs em diferentes fases do ciclo de vida
de três espécies de Ithomiinae. 109

Tabela 30. PAs em folhas de *Prestonia acutifolia*. 114

Tabela 31. Bioensaios com *Nephila clavipes* em adultos recém
emergidos de *Aeria olena*, *Tithorea harmonia* e
Mechanitis polymnia. 115

Tabela 32. Resposta de *Nephila clavipes* em relação a borboletas
palatáveis tratadas topicamente com frações extraídas
de plantas e insetos. 116

ÍNDICE DE FIGURAS.

- Figura 1. Estrutura de alguns alcalóides pirrolizidínicos e seus derivados. 8
- Figura 2. Origem biogenética dos alcalóides pirrolizidínicos. 11
- Figura 3. Localização das matas de Costa e Silva, Amarais e Monjolinho, na cidade de Campinas, SP. 22
- Figura 4. Localização da Mata da Pedra, na Fazenda Campininha, Estação Experimental de Mogi-Guaçu, no município de Mogi-Guaçu, SP. 23
- Figura 5. Localização da Serra do Japi, no município de Jundiaí. 24
- Figura 6. Diagrama climático das áreas de estudo. 25
- Figura 7. Esquema padrão para o fracionamento químico de plantas e insetos. 36
- Figura 8. Esquema do método colorimétrico para detecção de alcalóide pirrolizidínicos. 42

Figura 9. Esquema padrão para redução com NaBH_4 . 43

Figura 10. Estimativa populacional de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva, no período de dezembro de 1983 a julho de 1985. 53

Figura 11. Estrutura etária da população de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva, no período de dezembro de 1983 a julho de 1985. 54

Figura 12. Proporção sexual da população de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva, no período de dezembro de 1983 a julho de 1985. 55

Figura 13. Estimativa populacional de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra, no período de setembro de 1984 a julho de 1985. 57

Figura 14. Estrutura etária da população de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra, no período de setembro de 1984 a julho de 1985. 58

Figura 15. Proporção sexual da população de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra, no período de setembro de 1984 a julho de 1985. 59

Figura 16. Período de floração de plantas visitadas por *Aeria olena* na Mata de Costa e Silva, no período de janeiro de 1984 a agosto de 1985. 62

Figura 17. Padrão fenológico de *Prestonia coalita* da Mata de Costa e Silva, e *Prestonia acutifolia* da Mata da Pedra, no ano de 1984. 63

Figura 18. Frequência de visitas de machos de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva a fontes de PAs, no período de dezembro de 1983 a julho de 1984. 69

Figura 19. Períodos de floração de plantas visitadas por *Tithorea harmonia* na Mata da Pedra, no período de setembro de 1984 a agosto de 1985. 70

Figura 20. Ressonância Magnética Nuclear da fração alcaloidal total de folhas de *Heliotropium peruvianum*. 78

Figura 21. Ressonância Magnética Nuclear da fração alcaloidal de botões de *Eupatorium laevigatum*. 79

Figura 22. Cromatografia em coluna de partição, com o respectivo acompanhamento em cromatografia em camada fina da fração alcaloidal total de inflorescências de *Ageratum conyzoides*. 80

Figura 23. Ressonância Magnética Nuclear da fração alcaloidal total de inflorescências de *Ageratum conyzoides*. 81

Figura 24. Distribuição de FAs em adultos recém-emergidos de *Aeria olena* e *Tithorea harmonia*. 110

Figura 25. Quantidade de bases totais em estágios de vida de *Tithorea harmonia* em relação a época do ano em que foram coletados. 111

Figura 26. Quantidade de bases totais em adultos recém emergidos de *Aeria olena* em relação a época do ano em que foram coletados. 112

Figura 27. Percentagem de rejeição por *Nephila clavipes*, de indivíduos recém-emergidos de *Mechanitis lysimnia* alimentados com ascorbato de FAs, em relação ao tempo de ingestão. 119

ÍNDICE DE CÓDIGOS QUÍMICOS.

PAs: alcalóides pirrolizidínicos.
AC₂₀: anidrido acético.
BF₃: trifluoreto de boro.
CHCl₃: clorofórmio.
CDCl₃: clorofórmio deuterado.
pDMABald: 2,4-p-dimetilaminobenzaldeído.
EtOAc: acetato de etila.
EtOH: etanol
H₂O: água (destilada).
H₂O₂: peróxido de hidrogênio.
HCl: ácido clorídrico.
H₂SO₄: ácido sulfúrico.
MeOH: metanol.
NaBH₄: boroidreto de sódio.
Na₂SO₄: sulfato de sódio (anidro).
Na₂P₂O₇: pirofosfato de sódio.
NH₄OH: hidróxido de amônio.
(NH₄)₂SO₄: sulfato de amônio
NH₄Cl: cloreto de amônio.
TMS: trimetilsilano.
Zn: zinco.
AL: fração de alcalóides livres.
AP: fração apolar.
AT: fração de alcalóides totais.
NT: fração neutra.
PL: fração polar.
RMN: ressonância magnética nuclear.

INTRODUÇÃO

1. SUBSTÂNCIAS SECUNDÁRIAS NA INTERAÇÃO ECOLÓGICA ENTRE INSETOS E PLANTAS.

Muitas interações ecológicas entre seres vivos como predação, parasitismo, competição e mutualismo envolvem o uso de agentes químicos. Quando se observa o mundo verde, verifica-se que o "não evento" mais conspícuo na história das plantas verdes é a falha dos insetos e outros fitófagos atacarem em grande escala estas plantas (FEENEY, 1975). Existem duas hipóteses para explicar este fenômeno: 1. fitófagos não são limitados pela quantidade de alimento disponível e sim por outros fatores, tais como clima (EHRlich & BIRCH, 1967), predação e parasitismo (HAIRSTON et al., 1960); e 2. nem toda a fitomassa é disponível como alimento para fitófagos devido a sua composição química (SINCLAIR, 1975).

STAHL (1888 apud RHOADES, 1979) foi o primeiro autor a sugerir que propriedades químicas de plantas estariam envolvidas na defesa contra fitófagos. Substâncias secundárias de plantas (o termo é de PAECH, 1950 apud FRAENKEL, 1959), seriam responsáveis pela proteção das plantas contra insetos fitófagos e outros herbívoros; na verdade esta seria a "razão de ser" destas substâncias (FRAENKEL, 1959). Estes compostos foram selecionados inicialmente como repelentes para fitófagos em geral, atuando posteriormente como atraentes para os especialistas que

conseguiram ultrapassar a barreira química (FRAENKEL, 1959).

EHRLICH & RAVEN (1965) propuseram que substâncias secundárias exerceriam um papel fundamental na coevolução entre borboletas e suas plantas hospedeiras. A produção de substâncias secundárias em plantas em resposta ao ataque de insetos fitófagos e a resposta evolutiva recíproca destes para ultrapassar estas barreiras químicas seriam os fatores determinantes na evolução das borboletas e outros fitófagos. Entretanto, FUTUYMA (1983) argumenta que substâncias secundárias na grande maioria das angiospermas teriam surgido em plantas, antes do advento dos insetos fitófagos, devido a pressões seletivas diversas (patógenos, parasitas, competição). Em alguns casos a defesa contra insetos foi um efeito acidental destes compostos, ocorrendo posteriormente uma adaptação sequencial dos fitófagos a estas substâncias. Compostos secundários também poderiam ter origem funcional no metabolismo primário de plantas (ROBINSON, 1974; SEIGLER & PRICE, 1976).

FEENY (1975; 1976), RHOADES & CATES (1976) e RHOADES (1979), propuseram que a produção de diferentes tipos de substâncias secundárias pelas plantas (defesas quantitativas e defesas qualitativas) relacionadas respectivamente com a facilidade destas plantas em serem encontradas por fitófagos (plantas aparentes e não aparentes) seriam os padrões determinantes na evolução do hábito alimentar generalista ou especialista nestes insetos. FOX (1981) criticou esta teoria, argumentando que a dicotomia não é suficiente para identificar interações específicas inseto/planta/substâncias secundárias.

Substâncias secundárias com poucas exceções, podem ser classificadas através de suas rotas metabólicas em fenilpropanos, acetogeninas, terpenóides, esteróides e alcalóides (WHITTAKER & FEENY, 1971).

Seguindo a abordagem inicial de FRAENKEL (1959), WHITTAKER & FEENY (1971) discutiram mais detalhadamente o papel das substâncias secundárias em interações aleloquímicas, onde substâncias químicas produzidas por organismos de uma espécie afetam o crescimento, saúde, comportamento ou a biologia populacional de organismos de outra espécie. Elas poderiam atuar como alomônios, dando vantagem adaptativa para a planta produtora, ou como cairomônios, proporcionando vantagem adaptativa para fitófagos que as assimilassem ou percebessem.

O primeiro caso pode incluir substâncias repelentes, deterrentes (inibidoras de alimentação ou oviposição) ou tóxicas para fitófagos (FEENY, 1970; LEVIN, 1976; BLAU et al., 1978; TABASHNIK, 1987). Destoxificação enzimática é muitas vezes utilizada por fitófagos para contornar estes tipos de barreiras químicas (BRATTSTEN, 1979; YU, 1987).

No segundo caso substâncias secundárias são utilizadas por fitófagos como sinais de oviposição (FEENY et al., 1983), ou de alimentação (PLISKE, 1975a; b; BOWERS, 1983; 1984). Substâncias secundárias também podem ser sequestradas das plantas de alimentação por fitófagos e utilizadas como coloração (HARBORNE, 1979; DUFFEY, 1980; ROTHSCCHILD & MUMMERY, 1986), hormônios de crescimento (SLÁMA, 1979), análogos a nutrientes (REESE, 1979), sinais de impalatabilidade para predadores (BROWER et al., 1967; DUFFEY, 1980; PASTEELS et al., 1983; BROWER, 1984),

e sinais de comunicação intraespecíficos (feromônios) (PLISKE et al., 1976; DUFFEY, 1980). No caso de polinização, compostos secundários atuam como alomônios e cairomônios (WHITTAKER & FEENY, 1971).

2. OS ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS.

Os alcalóides pirrolizidínicos (PAs) constituem uma ampla família química baseada no núcleo de pirrolizidina (Fig. 1.1). Estes alcalóides constituem ésteres de aminoalcoóis (também chamados de bases necinas), tais como a retronecina (Fig. 1.2) e a crotanecina (Fig. 1.3), com uma variedade de cadeias ramificadas (geralmente ácidos carboxílicos alifáticos, também chamados ácidos necínicos ou ácidos esterificantes) (Fig. 1) (HILL, 1970; MATTOCKS, 1972). Podem ser agrupados em três classes: 1. monoésteres simples, como a heliotrina (Fig. 1.4); 2. diésteres simples, como a lasiocarpina (Fig. 1.5); ou 3. diésteres cíclicos, como a retrorsina (Fig. 1.6). Designa-se alcalóides 1,2-desidropirrolizidínicos aqueles que apresentam uma ligação dupla nos C-1 e 2 do anel necínico (Fig. 1.4-6, 9-15, 17-22). Alguns alcalóides, como a platifilina (Fig. 1.7) não têm esta ligação dupla. Poucas bases pirrolizidínicas ocorrem livres na natureza (p.e. 1-metilenopirrolizidina (Fig. 1.8)).

CULVENOR (1978), SMITH & CULVENOR (1981), e ROBINS (1982) fizeram extensivas revisões dos alcalóides pirrolizidínicos. São conhecidos aproximadamente 200 alcalóides distribuídos em 62 gêneros de 13 famílias de plantas, ocorrendo

mais frequentemente em Boraginaceae (p.e. *Heliotropium*, *Symphytum*), Asteraceae (*Senecio*, *Eupatorium*) e Leguminosae (*Crotalaria*). Os mono e diésteres simples são característicos de Boraginaceae, diésteres cíclicos são comuns em Senecioneae e *Crotalaria*, e ésteres de ácidos arílicos (Fig. 1.23) e arilalquilícos ocorrem principalmente em Kerosphaereae (*Orchidaceae*); contudo estes alcalóides não parecem ser filogeneticamente determinantes para a taxonomia no nível de família. Entretanto, são importantes para a delimitação da tribo Senecioneae e na taxonomia infragenérica de *Crotalaria*. (CULVENOR, 1978).

LEETE (1973), em sua revisão sobre biossíntese de alcalóides, propõe que o ácido senécico (ácido esterificante da retrorsina) tem origem biogenética em duas unidades do aminoácido isoleucina. O C-6 marcado na isoleucina aparece nos C-4 e C-8 do ácido senécico (Fig. 2.1). Os aminoácidos ornitina e putrecina são os precursores específicos da retronecina (HERBERT, 1981). O C-9 da retronecina é marcado com 1/4 de atividade do C-1,4 da putrecina, C-2 da ornitina e C-5 da ornitina (Fig. 2.2).

Existe um número considerável de métodos analíticos para detecção, isolamento e separação de alcalóides pirrolizidínicos (ver "Pyrrolizidine Alkaloids" em *The Alkaloids*, vols. 1 a 13, Royal Society of Chemistry). Os alcalóides muitas vezes ocorrem naturalmente na forma de seus N-óxidos (Fig. 1. 9-14), e estes são geralmente reduzidos com Zn em meio ácido para liberar as bases livres (alcalóide com a base necínica não N-oxidada) (BROWN, 1985).

MATTOCKS (1967a) desenvolveu um método para detecção de alcalóides pirrolizidínicos em cromatografia em camada fina, utilizando reagente de Ehrlich como revelador. MOLYNEAUX & ROITMAM (1980) e HUIZING et al. (1980) desenvolveram outro método utilizando cloranil como reagente. FRAHN (1969), utilizando eletroforese em papel, caracterizou 27 alcalóides pirrolizidínicos (inclusive diastereoisômeros) através de suas mobilidades em diferentes eletrólitos. FRAHN et al. (1980) separaram diastereoisômeros de alcalóides 1,2-desidropirrolizidínicos contendo grupos glicólicos vicinais de diferentes configurações, utilizando-se de cromatografia em coluna impregnada com borax. MOHANRAJ et al. (1982) utilizaram cromatografia em coluna de sílica gel alcalinizada para a separação de diastereoisômeros. SEGALL (1984) aplicou cromatografia preparativa líquida de alta performance para a separação de diastereoisômeros. MATTOCKS (1967b; 1968) e BINGLEY (1968) desenvolveram uma metodologia para a quantificação de alcalóides pirrolizidínicos através de método colorimétrico.

Farmacologicamente os alcalóides pirrolizidínicos são considerados agentes hepatotóxicos. Doenças de fígado em populações humanas na Índia são atribuídas ao consumo de plantas contendo estes alcalóides (AIKAT et al., 1979 apud ROBINS, 1981; KASTURI et al., 1979 apud ROBINS, 1981). Alguns desses alcalóides são também cancerígenos. Heliotrina (Fig. 1.4), lasiocarpina (Fig. 1.5), pentasitenina (Fig. 1.15) e senquirquina (Fig. 1.16) induzem mutações cromossômicas em cultura de células de mamíferos (TAKANASHI et al., 1980 apud ROBINS, 1982). O confrei (*Symphytum officinale*), usado como erva medicinal, mostra

atividades cancerígena e hepatotóxica crônica. Tumores hepáticos foram induzidos em ratos pela ingestão de sinfitina (Fig. 1.17), o principal alcalóide de confrei (HIRONO et al., 1979 apud ROBINS, 1981). Os N-óxidos de equinatina (Fig. 1.9), indicina (Fig. 1.13) e europina (Fig. 1.14) exibem uma atividade anti tumor em seres humanos, sem apresentarem efeitos tóxicos associados a outros alcalóides pirrolizidínicos (ZALKOW et al., 1979). Animais domésticos (principalmente de fazendas) são afetados por alcalóides pirrolizidínicos encontrados em plantas herbáceas das quais eles se alimentam (p.e. Senecio, Crotalaria) (MATTOCKS, 1972).

MATTOCKS (1972), em sua revisão de toxicidade e possíveis rotas metabólicas de alcalóides pirrolizidínicos, verificou que monoésteres são menos tóxicos em ratos que diésteres simples, e estes menos tóxicos que diésteres cíclicos. Da mesma forma, alcalóides que apresentam o anel pirrolizidínico insaturado são mais tóxicos que os saturados, e N-óxidos são menos tóxicos que bases livres. Ácidos necínicos e suas respectivas bases, quando separados por hidrólise, não apresentavam toxicidade. Diidropirrolizinas (Fig. 1.26-30) derivadas da desidrogenação de alcalóides pirrolizidínicos, são mais tóxicas que estes.

3. A SUBFAMÍLIA ITHOMIINAE.

Borboletas da subfamília Ithomiinae são frequentemente miméticas, com coloração de advertência, e constituem juntamente com os Heliconiini e Danainae, os modelos de impalatabilidade

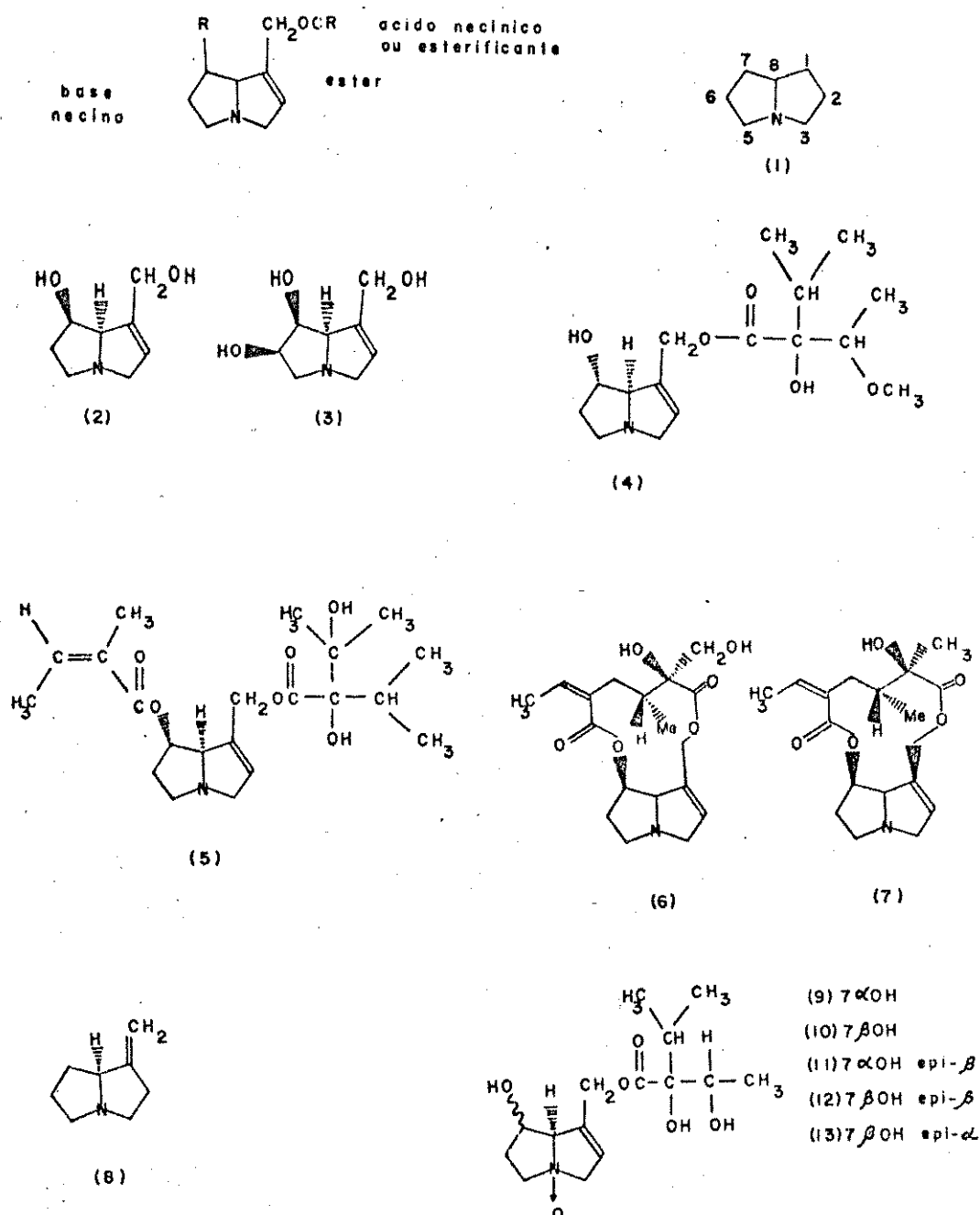
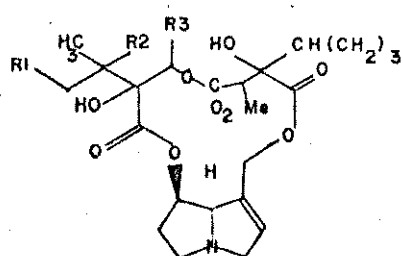
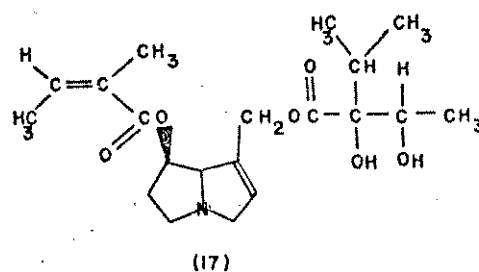
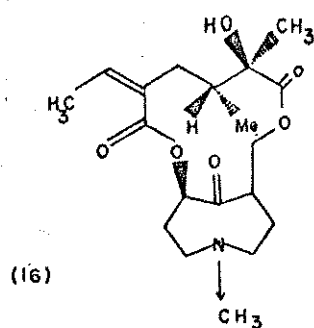
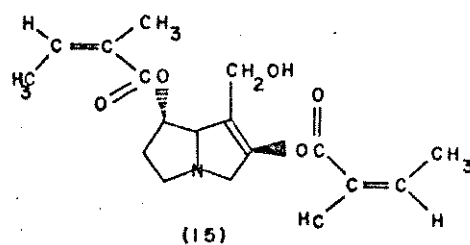
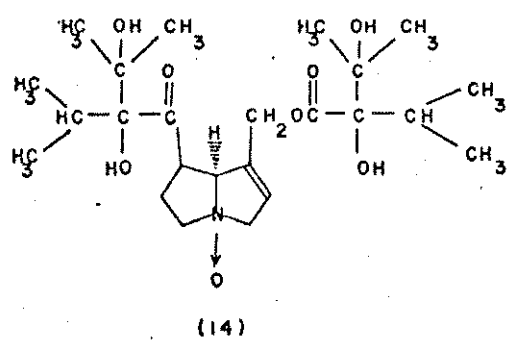


Figura 1. Estrutura de alguns alcalóides pirrolizidínicos e seus derivados.



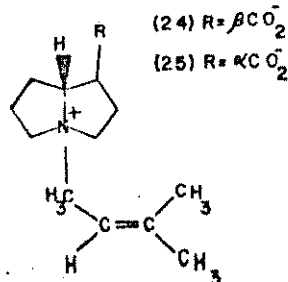
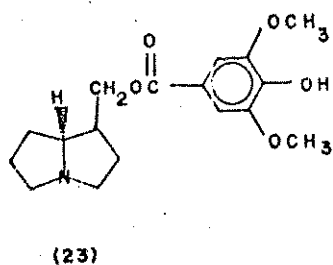
(18) $R_1=R_2=R_3=H$

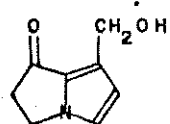
(19) $R_1=CH_3, R_2=R_3=H$

(20) $R_1=CH_3, R_2=H, R_3=OH$

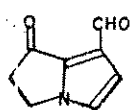
(21) $R_1=R_2=H, R_3=OH$

(22) $R_1=CH_3, R_2=R_3=OH$

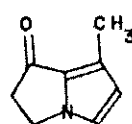




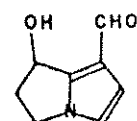
(26)



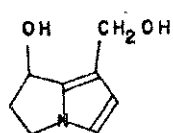
(27)



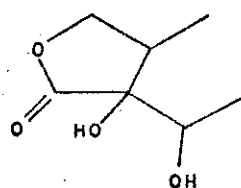
(28)



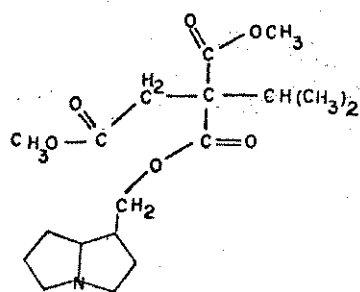
(29)



(30)



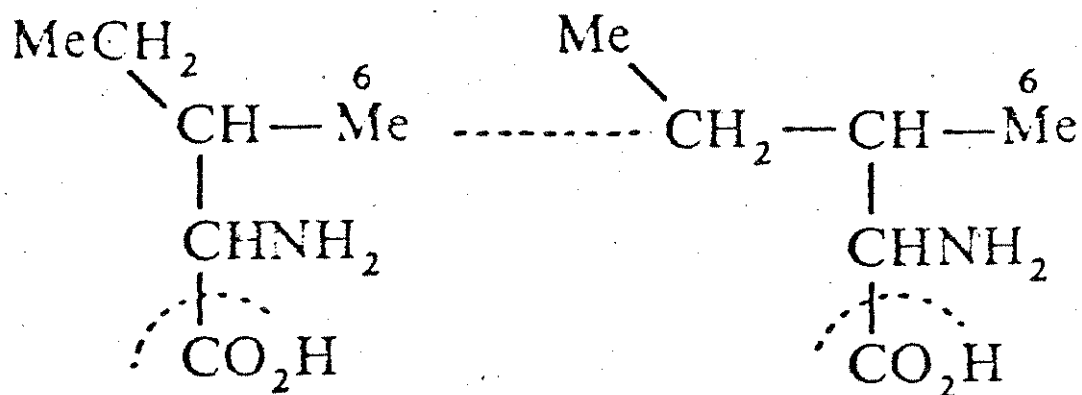
(31)



(32)

Figura 1. continuação.

ISOLEUCINA



2.1.



ÁCIDO SENÉCICO

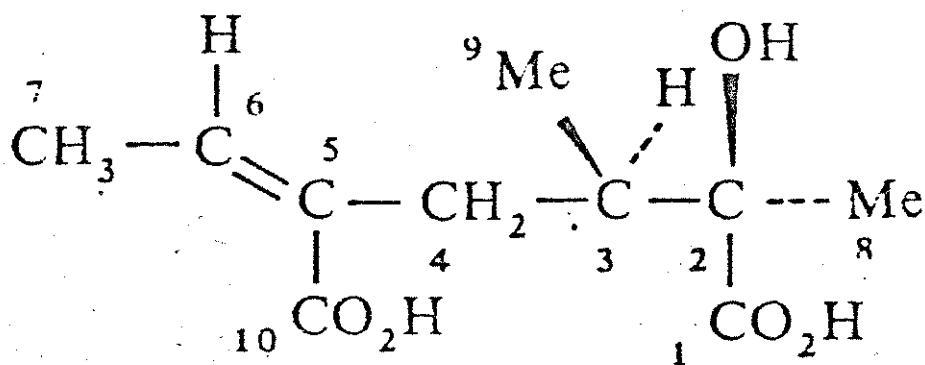


Figura 2. Origem biogenética dos alcalóides pirrolizidínicos.

2.1. Biosíntese do ácido senécico.

2.2. Rota biosintética da retronecina.

2.2.

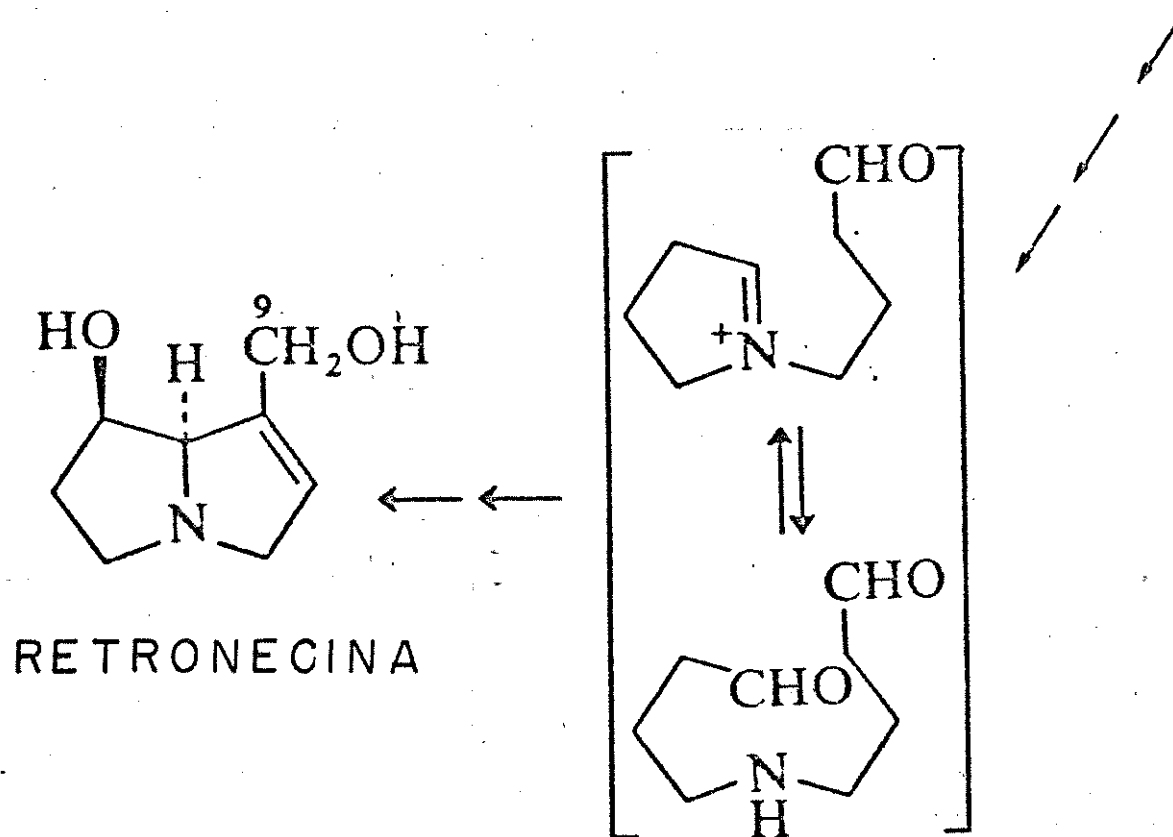
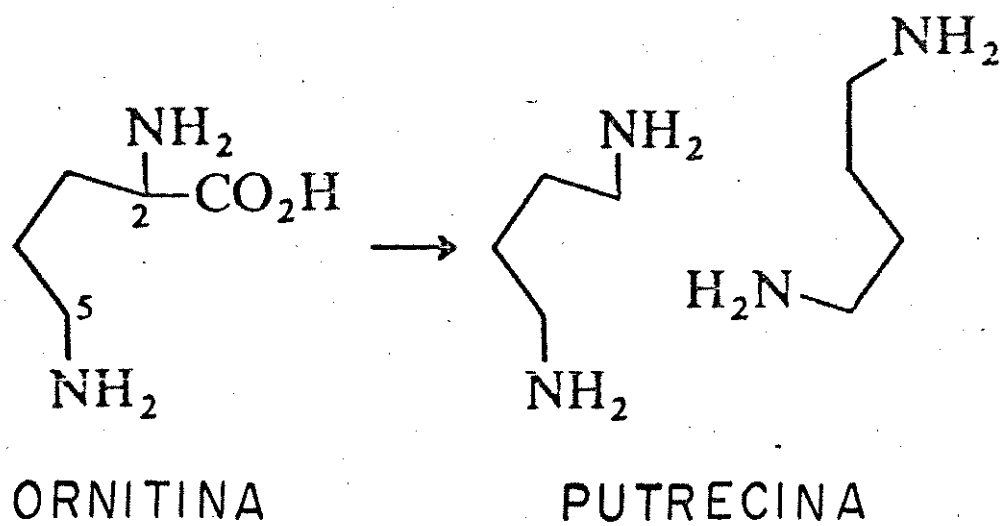


Figura 2. continuação.

melhor conhecidos nas proposições originais do mimetismo Batesiano (BATES, 1862) e mülleriano (MÜLLER, 1878; 1879). FOX (1949) e FOX & REAL (1971) classificaram o grupo como família, entretanto EHRLICH & EHRLICH (1967) e SCOTT (1985) o consideram como subfamília dos Nymphalidae.

A subfamília é essencialmente neotropical, com poucas espécies além dos trópicos, tanto no hemisfério norte quanto no sul (FOX, 1967). Apenas as espécies do gênero *Tellervo* ocorrem fora das Américas, na região da Oceania (ACKERY, 1987). DRUMMOND & BROWN (1987) relacionam aproximadamente 300 espécies em 51 gêneros e 12 tribos. Ithomiinae foi em princípio ligado filogeneticamente com os Satyridae mais primitivos (FOX, 1949), entretanto GILBERT & EHRLICH (1970) e ACKERY & VANE-WRIGHT (1984) relacionaram a subfamília com Danainae.

A morfologia, sistemática e taxonomia do grupo foi amplamente estudada por BROWN & D'ALMEIDA (1970), BROWN et al. (1970), GILBERT & EHRLICH (1970), FOX & REAL (1971), LAMAS (1973), BROWN (1977a; b; 1980), MIELKE & BROWN (1979), FOX (ver F. BROWN, 1968 para bibliografia completa) e D'ALMEIDA (ver F. BROWN, 1975, idem). YOUNG (1972; 1973; 1974a; b; c; 1978a; b), DRUMMOND (1976), HABER (1978), VASCONCELLOS-NETO (1980) e MONTEIRO (1981) estudaram diferentes aspectos da ecologia de ithomiíneos na região Neotropical. BROWN (1977a; 1979) utilizou-se da distribuição geográfica de espécies de Ithomiinae e Heliconini para subsidiar um modelo de evolução em refúgios paleoecológicos quaternários.

3.1. Relação entre Ithomiinae e suas plantas hospedeiras.

Larvas da subfamília Ithomiinae geralmente se alimentam de Solanaceae, sendo que as tribos Tellervini e Tithoreini e o gênero *Aeria* se alimentam de Echioideae (Apocynaceae) (DRUMMOND & BROWN, 1987). Ainda não se conhece as plantas hospedeiras de *Roswellia*, *Patricia*, *Athyrtis*, *Paititia*, *Aremfoxia*, *Pagyris*, e *Veladyris*, entretanto supõe-se que sejam Solanaceae. A única exceção conhecida a esse padrão é a larva de *Hyposcada virginiana* que possivelmente se alimenta de *Columna* sp e *Drymonia* sp (Gesneriaceae) (HABER, 1978).

BROWN (1985; 1987) não encontrou correlação entre a filogenia dos gêneros de Ithomiinae e Solanaceae, e sugeriu que ocorreu uma radiação ecológica destes fitófagos a partir das Apocynaceae sobre Solanaceae, posterior à diversificação destas plantas no Novo Mundo.

DRUMMOND (1986) sugere que a especificidade dos Ithomiinae sobre Solanaceae deve resultar provavelmente do comportamento discriminatório de oviposição da fêmea, influenciada por uma constelação de pressões seletivas (predadores, parasitas, competidores), criando uma monofagia mediada ecologicamente. A limitação fisiológica das larvas não deve ter sido um fator muito relevante.

4. ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS EM INSETOS.

Os alcalóides 1,2-desidropirrolizidínicos são mediadores interações inseto/planta e inseto/inseto. MEINWALD & MEINWALD (1966), MEINWALD et al. (1969), EDGAR et al. (1973), EDGAR (1975; 1982), SCHNEIDER (1975; 1977), SCHNEIDER et al. (1975), BOPPRÉ (1978) encontraram diidropirrolizinas (Danaidona - Fig. 1.27, e hidroxidanaidol - Fig. 1.29) derivadas de alcalóides pirrolizidínicos ingeridos pelos adultos de fontes de néctar, em pincéis de pelos de Danainae (Lepidoptera: Nymphalidae), onde tem função de feromônios sexuais. CONNER et al. (1981), SCHNEIDER et al. (1982), BOPPRÉ & SCHNEIDER (1985) determinaram que alcalóides pirrolizidínicos sequestrados de plantas hospedeiras por larvas de certos Arctiidae (Lepidoptera), eram precursores de feromônios sexuais em machos. Plantas que apresentam PAS atraem Danainae, Ithomiinae, Arctiinae e Ctenuchiinae, e o alcalóide é assimilado pelos lepidópteros (PLISKE, 1975a; EDGAR & CULVENOR, 1975; GOSS, 1978; EDGAR et al., 1979; EDGAR, 1982). PLISKE (1975a), EDGAR et al. (1979) e EISNER (1982) sugeriram que PAS seriam responsáveis pela defesa química nestes lepidópteros. APLIN & ROTHSCHILD (1972), BENN et al. (1979), ROTHSCHILD et al. (1979) e TRIGO (não publicado) também encontraram PAS em todos os estágios de vida de arctiídeos que se alimentavam de plantas hospedeiras contendo os alcalóides.

4.1. Alcalóide Pirrolizidínicos em Ithomiinae.

EDGAR (1975) sugeriu que a dependência de ithomiíneos por PAs se devia ao fato de seus ancestrais terem utilizado de plantas hospedeiras contendo o alcalóide. Ao colonizarem Solanaceae, essa dependência foi mantida. BOPPRÉ (1978) argumentou que a dependência de PAs foi adquirida a partir de borboletas ancestrais que se tornaram aptas a assimilarem o alcalóide de fontes de alimento do adulto. Essa assimilação foi seletivamente vantajosa já que propiciava proteção química contra predadores.

PLISKE (1975a) mostrou que plantas que continham alcalóides pirrolizidínicos eram intensamente visitadas por adultos de Ithomiinae, especialmente machos, que podem funcionar como polinizadores (PLISKE, 1975b). PLISKE (1975c), EDGAR et al. (1976) e PLISKE et al. (1976) demonstraram que uma lactona (Fig. 1.31) derivada do ácido esterificante de PAs (ver ácidos esterificantes das estruturas 9-13 na Fig. 1) seria responsável por atividade de feromônio sexual e de agregação em Ithomiinae.

BROWN (1984; 1985; 1987) verificou adultos de Ithomiinae recém emergidos, criados em folhas de Solanaceae, as quais contêm alcalóides diversos, esteróides, saponinas, e glicosídeos fenólicos, foram predados pela aranha gigante *Nephila clavipes* L., e inferiu que a proteção contra este predador não provinha do alimento larval. ROTHSCILD (1973) não encontrou alcalóides de Solanaceae em indivíduos adultos de *Mechanitis polymnia polymnia*. BROWN (1984; 1985; 1987) determinou que o princípio protetor de adultos de Ithomiinae contra predação por *Nephila clavipes* seria

alcalóides 1,2-desidropirrolizidínicos monoésteres (Fig. 1.9-13). As borboletas obtêm estes PAs do néctar de flores de Asteraceae (tribo Eupatorieae) e néctar e folhas em decomposição de algumas Boraginaceae (p.e. *Heliotropium*, *Tournefortia*). BROWN também sugeriu que outros produtos de transformação dos alcalóides, de estruturas semelhantes, poderiam ter atividade ecológica anti predação.

BROWN (1985) estudou a distribuição de PAs entre espécies, sexo e partes do corpo em Ithomiinae, sugerindo também que machos passavam PAs para fêmeas através do espermatóforo durante a cópula.

TRIGO & MOTTA (1986) verificaram que larvas de Ithomiinae que se alimentavam de Solanaceae apresentavam capacidade de sequestrar PAs artificialmente aplicados em folhas de suas plantas hospedeiras, e incorporá-los no adulto recém emergido.

4.2. Ithomiinae/Echitoideae/Alcalóides Pirrolizidínicos.

Os Ithomiinae que têm como plantas hospedeiras espécies da tribo Echitoideae (Apocynaceae) são considerados os mais primitivos e os mais estritamente relacionados filogeneticamente com os Danainae (GILBERT & EHRLICH, 1970; EDGAR 1975; 1982; 1984; ACKERY & VANE-WRIGHT, 1984).

GUPPY (1895 apud GILBERT & EHRLICH, 1970) encontrou *Tithorea harmonia* megara utilizando *Mesechites trifida* como planta hospedeira em Trinidad. FOUNTAINE (1911 apud Gilbert e Ehrlich, 1970) encontrou *T. tarracina duenna* Bates se alimentando

de uma equitóidea. MUYSHONDT et al. (1976) verificaram que *T. t. duenna* e *T. harmonia salvadoris* se utilizam das equitóideas *Prestonia guatemalensis* e *Urechites karwinskyi*, respectivamente. *Aeria eurimedia agna* utiliza como planta hospedeira *Prestonia* sp na Costa Rica e *Mesechites trifida* em Trinidad (YOUNG, 1978).

Na região da Oceania, EDGAR & CULVENOR (1975) encontraram licopsamina (Fig. 1.11), intermedina (Fig. 1.12) e indicina (Fig. 1.10) em duas equitóideas, *Parsonsia eucalyptophylla* e *P. straminea*, e EDGAR et al. (1980) encontrou parsonsina (Fig. 1.18), heterofilina (Fig. 1.19), espiralina (Fig. 1.21), espiranina (Fig. 1.20) e espiracina (Fig. 1.22) em *P. spiralis* Wall. EDGAR (1982) encontrou licopsamina (Fig. 1.11) em *Tellervo zoilus zoilus*, sendo o mesmo alcalóide encontrado em sua planta hospedeira, *P. velutina*. Na região neotropical *Prestonia guatemalensis* e *Urechites karwinskyi* apresentam PAS (EDGAR et al., 1974; EDGAR, 1982). PAS também foram encontrados em outras Apocynaceae: alafina (Fig. 1.23) em *Alafia multiflora* (FAIS et al., 1971), anodendrina (Fig. 1.24) e aloanodendrina (Fig. 1.25) em *Anodendron affine* (SASAKI & HIRATA, 1970). Loroquina (Fig. 1.26), uma diidropirrolizina, foi isolada em *Urechites karwinskyi* (Borges del Castilho et al., 1970).

BROWN (1985) verificou a presença de PAS em indivíduos adultos de *Tithorea harmonia pseudethra*, *T. h. pseudonyma*, *Aeria eurimedia agna*, *A. olena olena* e *A. elara* capturados no campo.

5. OBJETIVOS.

Neste trabalho procurou-se ampliar o conhecimento sobre o papel dos alcalóides pirrolizidínicos na mediação química entre Ithomiinae e Echitoideae. Os objetivos específicos deste estudo foram:

1. Verificar se o aumento e diminuição populacional de *Aeria olena olena* e *Tithorea harmonia pseudethra* apresentavam ligação com o aumento e diminuição das fontes utilizadas por estes lepidópteros.

2. Estudar a dinâmica de aquisição de alcalóides pirrolizidínicos por *Aeria olena olena* e *Tithorea harmonia pseudethra* de suas plantas hospedeiras e de fontes de alimento dos adultos.

3. Isolar e identificar os alcalóides pirrolizidínicos envolvidos.

4. Testar a atividade biológica dos alcalóides pirrolizidínicos em bioensaios.

5. Estudar a variação de alcalóides pirrolizidínicos nos lepidópteros, relacionando-a com seu papel na ecologia populacional destes insetos.

6. Nos itens 1 e 4 comparar os dados obtidos com dados de espécies de Ithomiinae que se alimentam de Solanaceae.

M A T E R I A I S E M É T O D O S

1. ÁREAS DE ESTUDO

Três áreas foram utilizadas para estudos populacionais das borboletas e para obtenção de material para análises. Estas áreas concentram-se na região Leste do Estado de São Paulo, a saber:

1. Mata de Costa e Silva, na Fazenda Santa Eliza do Instituto Agronômico de Campinas, na cidade de Campinas, localizada a 22° 49' S, 47° 17' W, a uma altitude de 660 metros. Esta mata possui uma área de 12 hectares, sendo rodeada em parte por uma região urbanizada (Fig. 3). A vegetação é característica de mata mesófila, semidecídua de planalto interior, entretanto altamente perturbada pela ação humana (fogo e desmate). As margens dos caminhos que cortam a mata (onde foram feitas as coletas) são ocupadas por vegetação sucessional.

2. Mata da Pedra, na Fazenda Campininha, Estação Experimental de Mogi-Guaçu do Instituto Florestal de São Paulo, na cidade de Pádua Sales, município de Mogi-Guaçu localizada a 22° 18' S, 47° 10' W, a uma altitude de 400 metros. A mata possui uma área de aproximadamente 30 hectares, localizada as margens do rio Mogi-Guaçu (Fig. 4). A vegetação é característica de mata ripária pouco perturbada.

3. Serra do Japi, localizada no município de Jundiaí, a $23^{\circ} 15' S$, $46^{\circ} 52' W$. As coletas foram feitas na área circunvizinha a represa do Departamento de Águas e Esgotos, a uma altitude de 830 metros (Fig. 5). A vegetação é característica de floresta úmida de encosta, com uma fisionomia semelhante à de Mata Atlântica. Os caminhos que cortam a mata são constituídos em suas margens de vegetação sucessional.

Foram efetuadas coletas nas áreas de Amarais e Monjolinho, também situadas na região de Campinas. A mata de Monjolinho, na Fazenda Santa Eliza do Instituto Agronômico de Campinas, localizada a $22^{\circ} 54' S$, $47^{\circ} 05' W$, a 669 metros de altitude (Fig. 3), é um arboreto de 3 hectares (árvores cultivadas, nativas e exóticas, além de plantas arbustivas em menor número) (MORAIS, 1986). A mata de Amarais também se localiza na Fazenda Santa Eliza, distante aproximadamente 1 Km da mata de Monjolinho (Fig. 3). É uma antiga plantação de *Eucalyptus* com estrato herbáceo e arbustivo bem desenvolvido em seu interior. Apresenta uma área de 35 hectares (PINHEIRO, 1987).

Nas três áreas de estudo, com pequenas variações, o padrão climático foi semelhante, com o clima super úmido de novembro a abril, um período seco em junho e julho, novamente um período super úmido em agosto e um novo período seco em outubro (Fig. 6A-C). Os dados da Mata de Costa e Silva, de 1984 e 1985, foram coletados junto ao Setor de Climatologia Agrícola do Instituto Agronômico de Campinas, os dados da Mata da Pedra foram fornecidos pelo Instituto Florestal de São Paulo, e os dados da Serra do Japi são de FONZAR (1987). Para maiores detalhes do

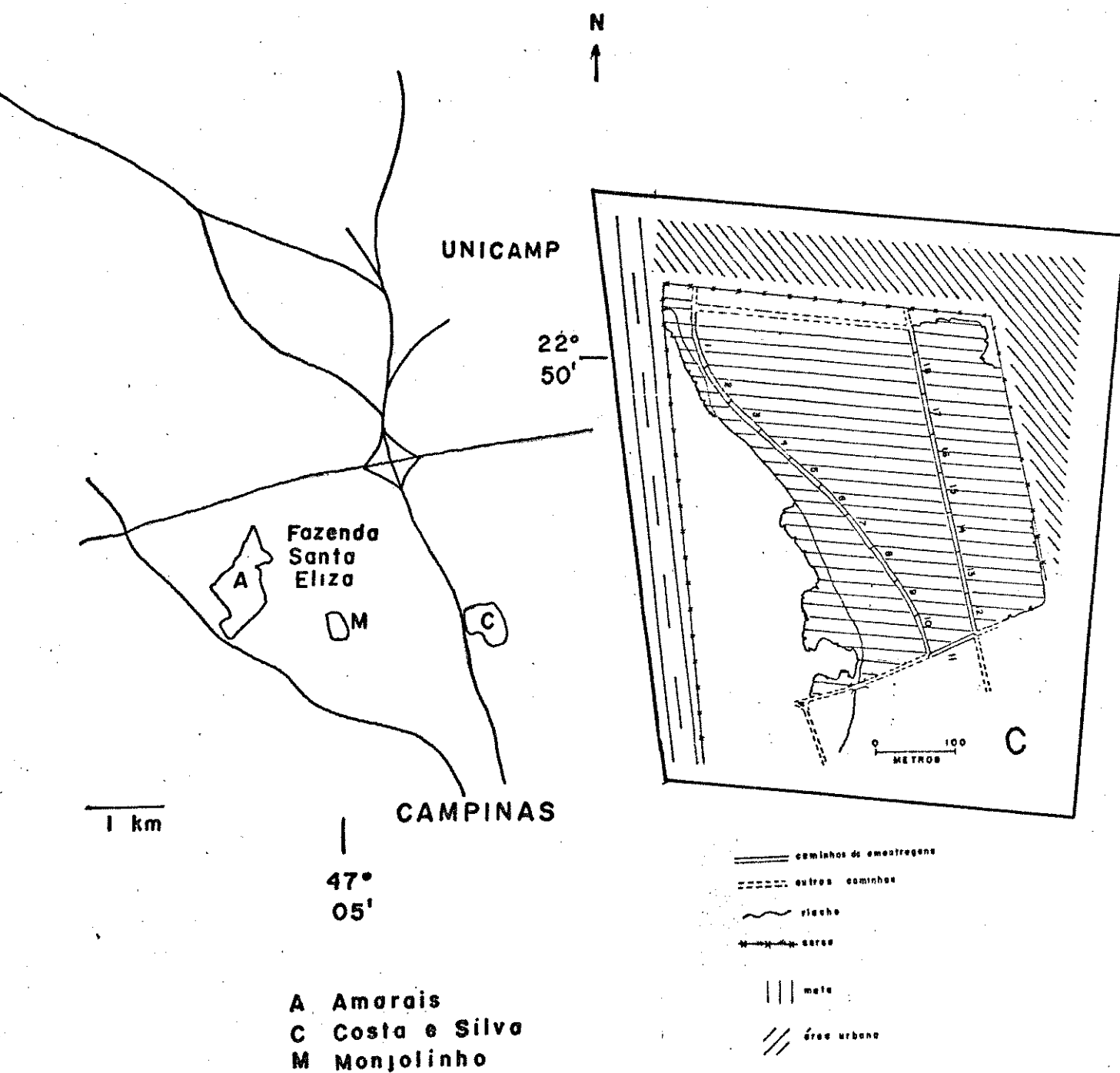


Figura 3. Localização das matas de Costa e Silva, Amarais e Monjolinho, na cidade de Campinas, SP. Os números no mapa esquemático (detalhe) da Mata de Costa e Silva correspondem as sub áreas de marcação das borboletas.

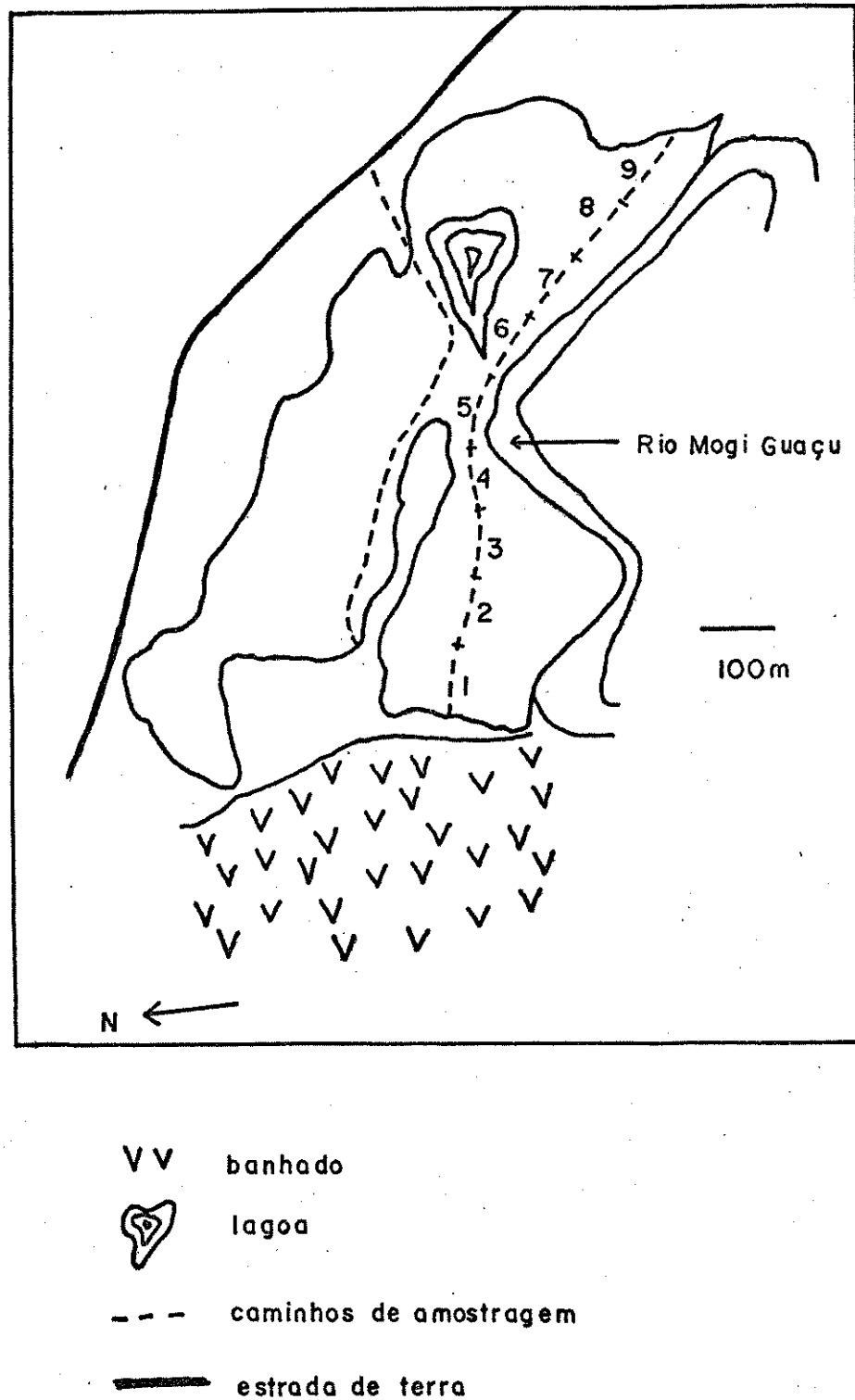
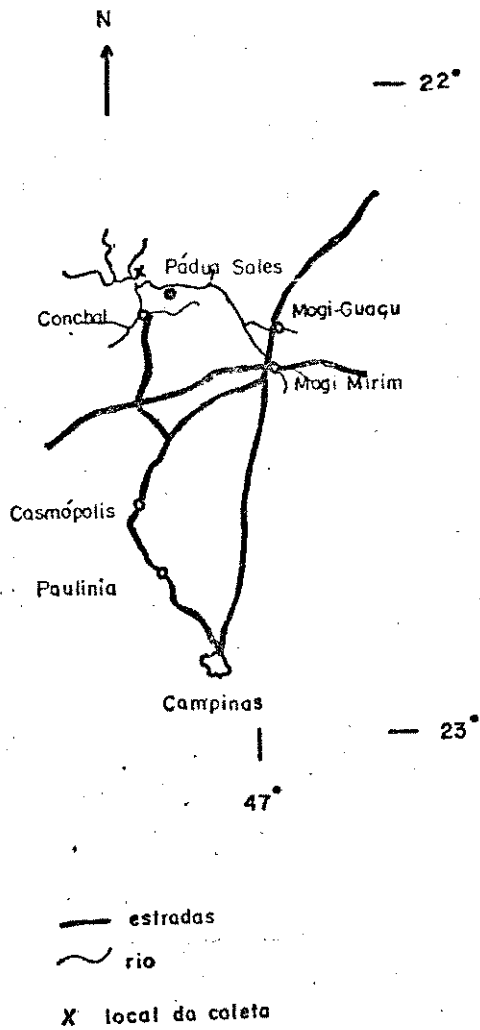


Figura 4. Localização da Mata da Pedra, na Fazenda Campininha, Estação Experimental de Mogi-Guaçu do Instituto Florestal de São Paulo, Pádua Sales, município de Mogi-Guaçu, SP. Os números no mapa esquemático (detalhe) correspondem as sub áreas de marcação das borboletas.

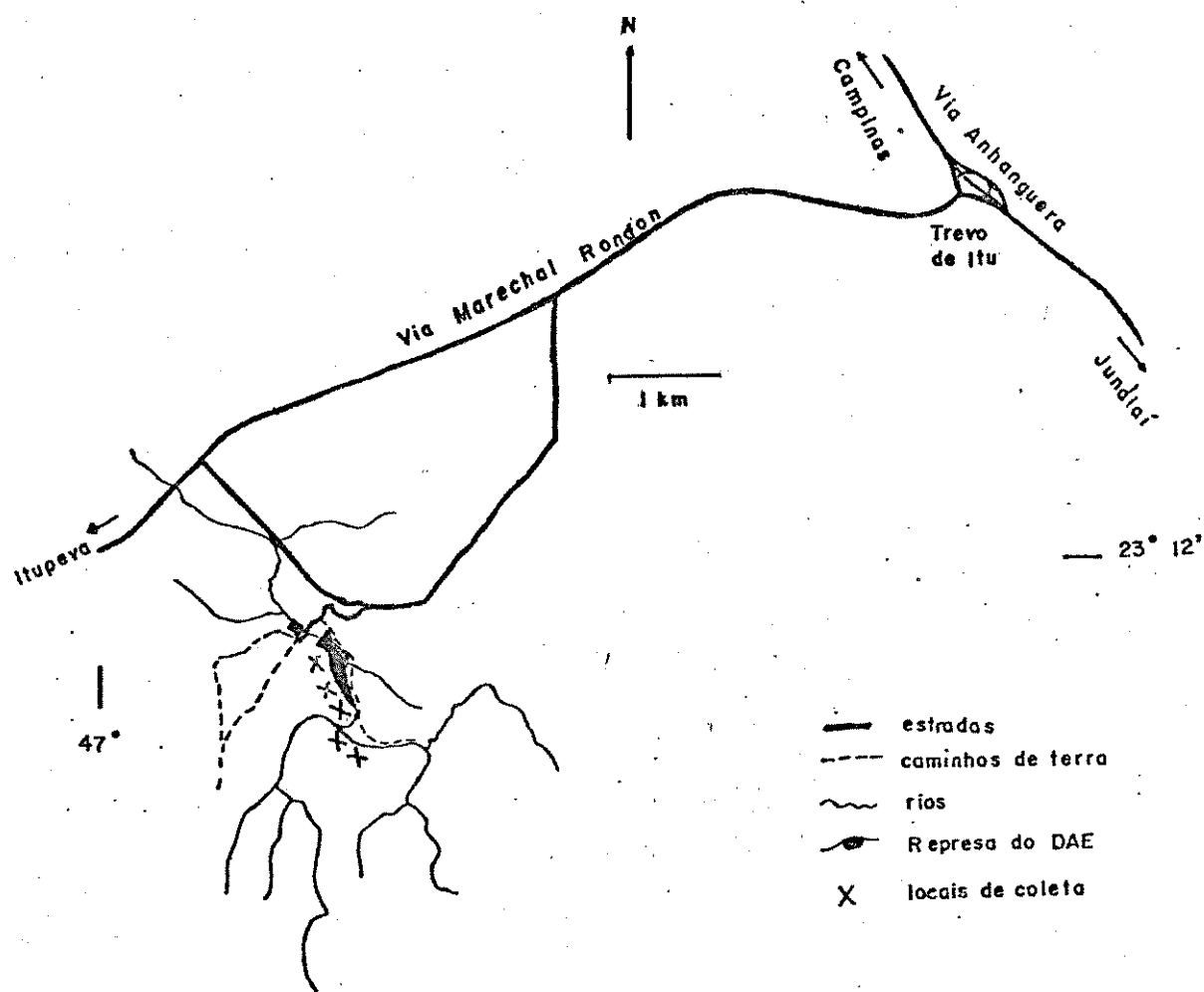


Figura 5. Localização da Serra do Japi, no município de Jundiaí, SP. As coletas foram realizadas próximas à represa do DAE.

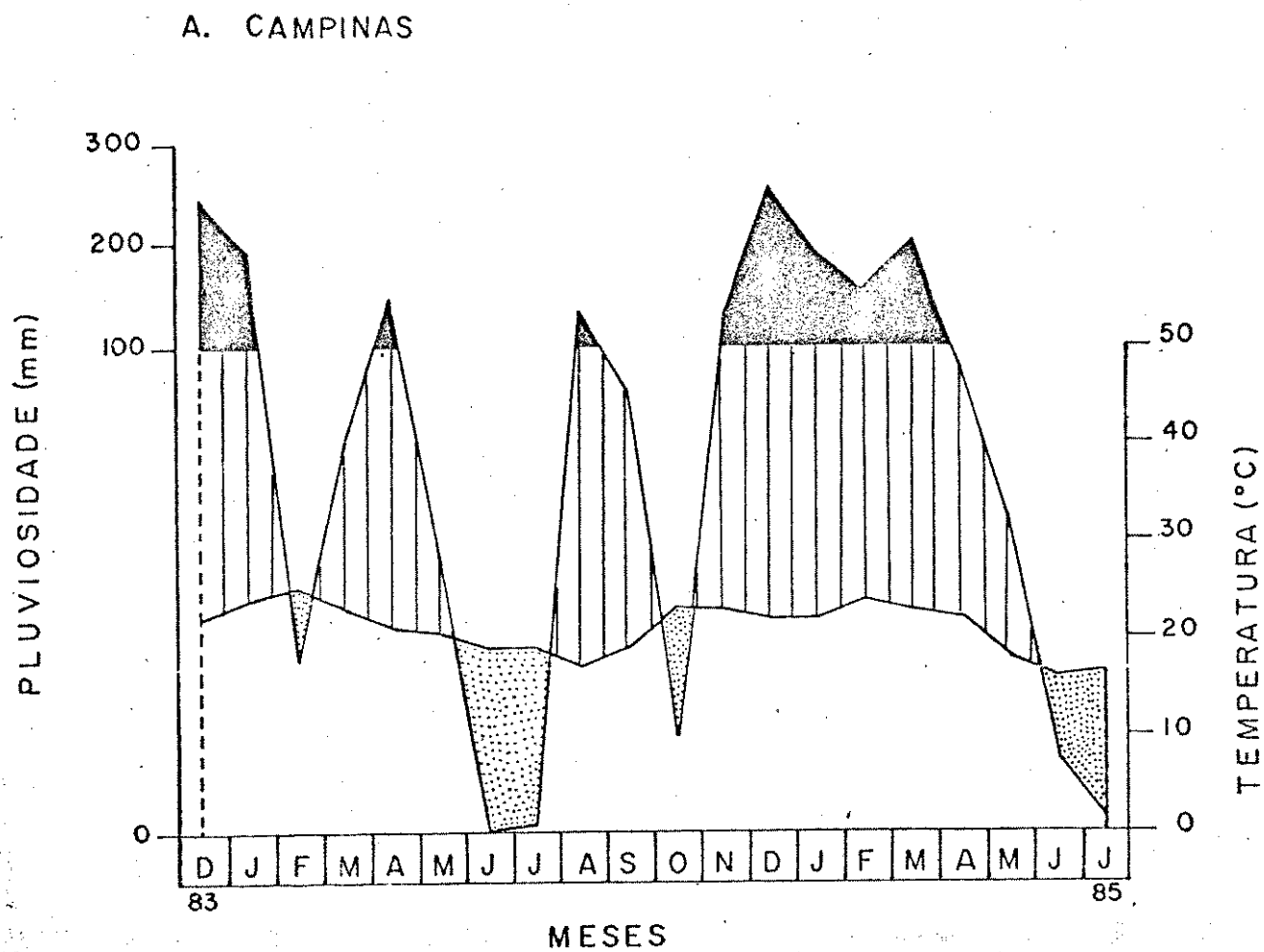


Figura 6. Diagrama climático das áreas de estudo. As regiões pontilhadas representam os períodos secos, e as em negrito os períodos super úmidos (segundo WALTER & LIETH; 1960).

A. Campinas - Mata de Costa e Silva

B. Serra do Japi.

C. Pádua Sales - Mata da Pedra.

B. SERRA DO JAPI

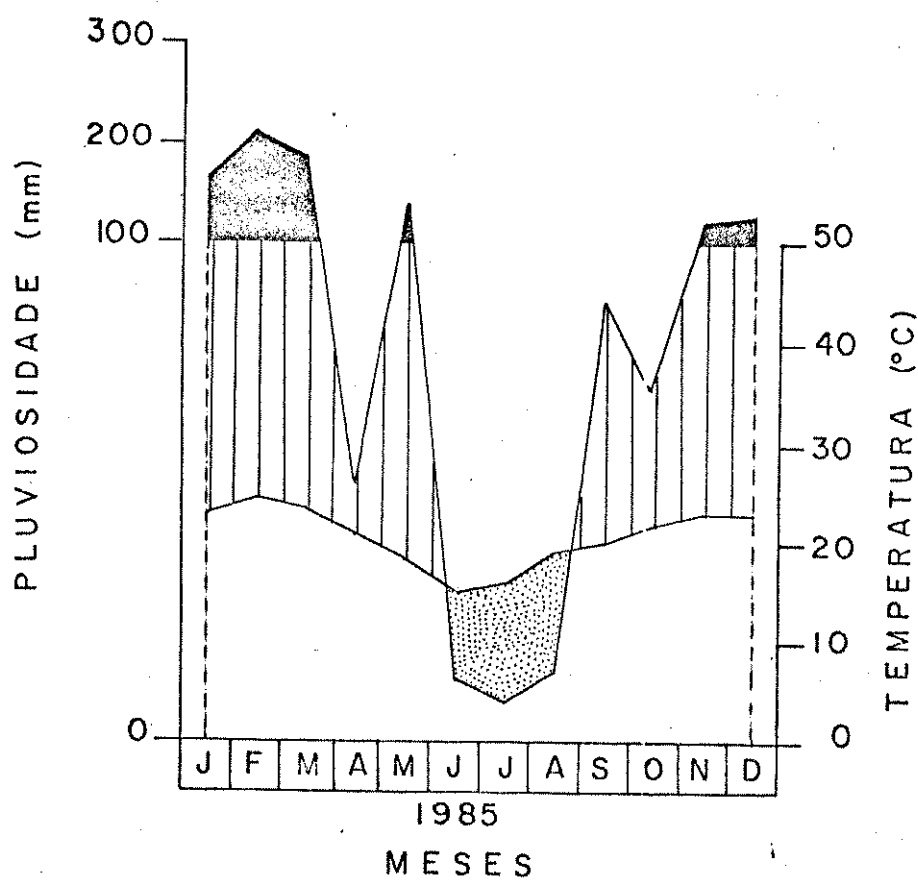


Figura 6. continuação.

C. PÁDUA SALES

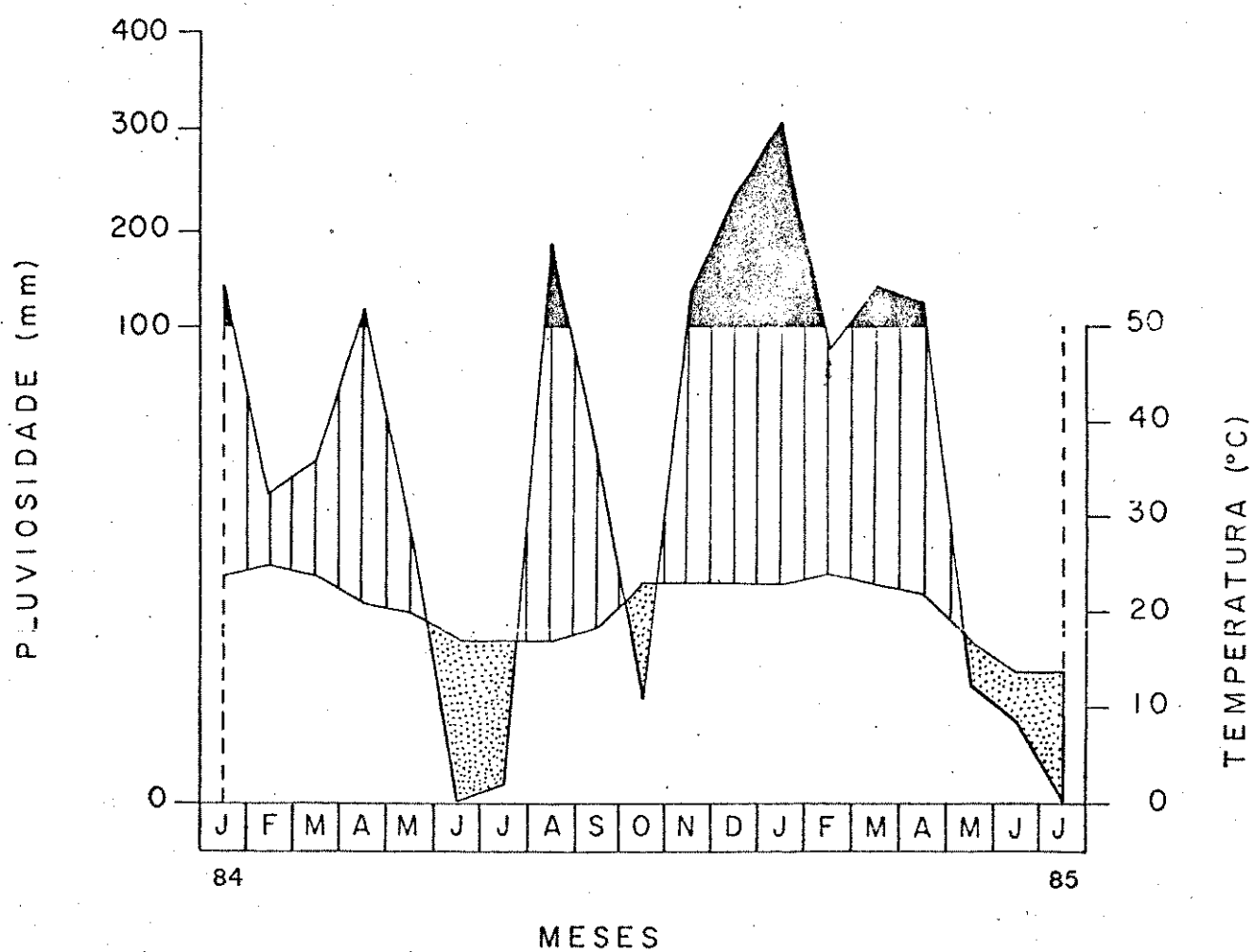


Figura 6. continuação.

clima da região de Campinas ver VASCONCELLOS-NETO (1980), BROWN et al. (1981), MORAIS (1986) e PINHEIRO (1987), e da região de Pádua Sales ver LOPES (1984).

2. ORGANISMOS ESTUDADOS.

2.1. Lepidópteros.

Estudou-se sistematicamente a dinâmica populacional e variação de FAs em duas espécies da subfamília Ithomiinae (Lepidoptera: Nymphalidae): *Tithorea harmonia pseudethra* Butler, 1873 e *Aeria olena olena* Weymer, 1875. Além disso, o ithomiíneo *Mechanitis polymnia casabranca* Haensch, 1905 foi utilizado para fins comparativos quando se estudou a variação de FAs, e *Mechanitis lysimnia lysimnia* (Fabr., 1793) quando se estudou a assimilação de FAs por adultos. Outras espécies de Ithomiinae e de outros lepidópteros foram observadas dentro de diversos aspectos, de maneira não muito frequente, e são citadas no decorrer do trabalho. A identificação dos lepidópteros foi feita pelo Prof. Dr. K. S. Brown Jr., do Departamento de Zoologia, do Instituto de Biologia da UNICAMP, e a nomenclatura está de acordo com MIELKE & BROWN (1979).

2.2. Plantas hospedeiras e plantas utilizadas como fonte de alimento por adultos.

As duas espécies de Ithomiinae estudadas utilizam-se de plantas da família Apocynaceae, subfamília Echitoideae, como plantas hospedeiras da larva. A família Apocynaceae apresenta de 200 a 300 gêneros e 1300 a 2000 espécies principalmente nos trópicos e subtropicais de ambos os hemisférios (NOWICKE, 1970). WOODSON (1930) dividiu a família em três subfamílias: Plumerioideae, Echitoideae e Apocynoideae. *Aeria olena* utiliza *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson e *Tithorea harmonia* usa *Prestonia acutifolia* Schum. (DRUMMOND & BROWN, 1987).

As outras espécies de Ithomiinae estudadas usavam espécies da família Solanaceae como plantas hospedeiras. Esta família possui 80 gêneros (D'ARCY, 1973) e 2300 espécies (CRONQUIST, 1968) e está distribuída principalmente na região neotropical, existindo alguns gêneros na África e Austrália. *Mechanitis polymnia* utiliza principalmente de *Solanum* (*Leptostemonum*) *paniculatum* L. e *Mechanitis lysimnia* usa *Solanum* (*Leptostemonum*) *atropurpureum* Schrank (DRUMMOND & BROWN, 1987).

A identificação das Apocynaceae foi feita pela Profa. Dra. Luiza Sumiko Kinoshita Gouveia e as identificações das plantas utilizadas como fontes de alimento pelos adultos foram feitas pelo Prof. Dr. Hermogenes Leitão Filho e Prof. Jorge Tamashiro (Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, UNICAMP). A identificação das Solanaceae foi feita pelo Prof. Dr. K. S. Brown Jr.

3. DINAMICA POPULACIONAL.

3.1. Estimativa populacional, proporção sexual e estrutura etária.

Os tamanhos populacionais de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva e de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra foram estimados usando o método de captura-marcação-liberação-recaptura. As amostragens foram feitas mensalmente utilizando-se de dois dias consecutivos de coleta, com um esforço de captura de 2 horas-homem/dia para a população de *Aeria olena* e 4 horas-homem/dia para *Tithorea harmonia*. As amostragens foram efetuadas dentro do período de 8:00 às 11:00 horas para *Aeria olena* e 9:00 às 16:00 horas para *Tithorea harmonia*. Esses intervalos de tempo representavam o período de maior atividade desses lepidópteros. As borboletas eram capturadas com o auxílio de uma rede entomológica e foram numeradas na superfície ventral das asas anteriores com caneta "Sharpie" (EUA) de ponta porosa com tinta não hidrossolúvel, sendo liberadas em seguida. As capturas eram feitas ao longo dos caminhos naturais. A população de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva foi amostrada durante o período de dezembro de 1983 à julho de 1985, e a de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra entre setembro de 1984 à julho de 1985.

O modelo matemático utilizado foi o índice de Lincoln-Petersen modificado por Bailey (SOUTHWOOD, 1978).

$$P = n_1 (n_2 + 1) / r + 1$$

onde P = população estimada para o dia;

n_1 = número de animais marcados e liberados na população no dia 1;

n_2 = número de animais capturados no dia 2 (inclusive as recapturas);

r = número de animais recapturados no dia 2.

Sendo a variância da estimativa dada por:

$$S^2(P) = n_1^2 (n_2 + 1) (n_2 - r) / (r + 1)^2 (r + 2)$$

A utilização de modelos matemáticos na estimativa de tamanhos populacionais através do método de captura-marcação-liberação-recaptura depende das seguintes premissas (SOUTHWOOD, 1978):

1. Os animais marcados não são afetados pelas marcas e estas não serão perdidas.
2. Os animais marcados misturam-se aleatoriamente na população.
3. A população é amostrada ao acaso. A idade, sexo e marcação do animal não devem afetar sua probabilidade de ser recapturado.
4. As amostragens devem ser feitas em intervalos distintos. O tempo decorrido entre as coletas das amostras deve ser suficiente para que os animais capturados-marcados-liberados se misturem na população.

Para a utilização do índice de Lincoln-Petersen assume-se adicionalmente que:

5. A população é restrita a uma determinada área.

6. Não ocorreram nascimentos ou imigrações (ganho) ou mortalidade ou emigrações (perdas) entre o dia 1 e o dia 2.

A proporção sexual e estrutura etária foram calculadas sobre o número total de indivíduos capturados durante os dois dias de amostragem. Para se avaliar a estrutura etária foi estimada a idade relativa dos lepidópteros através do grau subjetivo de descamação das asas (EHRlich & GILBERT, 1973; DRUMMOND, 1976; VASCONCELLOS-NETO, 1980; BROWN et al., 1981), estabelecendo-se 4 categorias de idade: indivíduos novos (N), mais ou menos novos ($\pm$ N), intermediários (I) e velhos (V).

3.2. Distância percorrida por lepidópteros.

As áreas da mata de Costa e Silva e mata da Pedra foram divididas ao longo de caminhos naturais em espaços de 50 metros (Figuras 3 e 4). Durante as amostragens, para cada indivíduo de *Aeria olena* e *Tithorea harmonia* capturado e marcado, anotava-se o espaço correspondente. No dia seguinte anotava-se o espaço correspondente aos indivíduos recapturados. Quando um indivíduo foi recapturado no mesmo espaço da captura e marcação, a distância percorrida foi considerada igual a zero. Quando a recaptura ocorreu em qualquer ponto do espaço vizinho, a distância percorrida foi considerada como 50 metros e assim subsequentemente. Computando-se as frequências de recaptura em relação ao espaço percorrido, obteve-se a média da distância percorrida entre capturas.

3.3. Fontes de alimentação de adultos.

Durante as amostragens registrou-se o número de visitas dos lepidópteros (marcados ou não) às fontes de alimento (folhas em decomposição, botões e flores), ao longo das rotas de captura-marcação. Estas rotas foram percorridas continuamente durante 2 horas-homem/dia para a população de *Aeria olena* da mata de Costa e Silva e 4 horas-homem/dia para *Tithorea harmonia*. Concomitantemente verificou-se as florações das plantas utilizadas como fontes de alimentação. Estas plantas foram coletadas, identificadas e depositadas no herbário do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, UNICAMP. Também foram observadas, não sistematicamente, visitas a fontes de alimento por Ithomiinae (incluindo *Aeria olena* e *Tithorea harmonia*) na Mata de Costa e Silva, Serra do Japi, Mata de Monjolinho, Mata de Amarais e Mata da Pedra.

4. PLANTAS HOSPEDEIRAS E ESTÁGIOS IMATUROS.

Durante as amostragens foi observada a fenologia das plantas hospedeiras da larva de *Aeria olena* e *Tithorea harmonia*, respectivamente *Prestonia coalita* e *P. acutifolia* (Apocynaceae: Echitoideae). Estágios imaturos destes lepidópteros foram coletados, e criados em laboratório dentro de potes plásticos, à temperatura ambiente, sobre folhas de suas respectivas plantas hospedeiras. Trocavam-se as folhas e limpavam-se as fezes diariamente. Ovos, larvas, pupas e adultos recém emergidos foram utilizados em vários experimentos deste trabalho.

5. ANÁLISE QUÍMICA.

5.1. Fracionamento de plantas e insetos.

No fracionamento químico (Fig. 7), insetos vivos (estágios imaturos e adultos) e partes de plantas (de fontes de alimento de adultos e plantas hospedeiras das larvas) retiradas da planta viva com um intervalo de tempo não superior a 24 horas, foram triturados, com o auxílio de uma tesoura ou um homogeneizador, diretamente em MeOH:H₂O 4:1 usando pelo menos 10 vezes o volume em ml do peso fresco do material a ser extraído (em g). Filtrou-se com sucção. O material insolúvel foi ressuspensionado em MeOH:H₂O 4:1 (volume igual ao anterior). Filtrou-se novamente com sucção, obtendo-se um extrato metanólico aquoso.

Os resíduos insolúveis foram extraídos com 2 porções de EtOAc em processo semelhante ao usado para a obtenção do extrato metanólico aquoso, obtendo-se uma fração apolar [AP] (gorduras, graxas, carotenos, alguns terpenos e flavonóides livres), seca em rotavapor de baixa pressão.

O extrato metanólico aquoso foi evaporado em rotavapor de baixa pressão a 40 °C até todo o MeOH ser removido. A suspensão aquosa resultante foi acidificada com H₂SO₄ até 2 N (6% do volume total da solução aquosa) e extraída três vezes com um volume igual de CHCl₃. A camada clorofórmica foi filtrada com Na₂SO₄ para retirar o excesso de água e evaporada em rotavapor de baixa pressão, originando uma fração neutra [NT] de

polaridade média, não alcaloidal, muitas vezes incluindo alguma clorofila, terpenos, esteróides (alguns glicosídeos cardíacos e saponinas), flavonóides e ácidos orgânicos.

A fase aquosa foi alcalinizada (pH 10) com adição de NH_4OH e extraída duas vezes com igual volume de $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 3:1; isto originou uma partição efetiva entre $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ 8:1 (camada superior) e $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 6:1 (camada inferior). A camada superior foi constituída de compostos orgânicos polares. A camada inferior foi evaporada como acima, originando uma fração moderadamente polar, constituída de alcalóides livres [AL].

A camada aquosa superior retinha alcalóides N-óxidos, glicosídeos muito polares e ácidos mais polares. Esta camada foi evaporada até seca, extraída duas vezes com MeOH e filtrada em papel para a eliminação de sais inorgânicos insolúveis (principalmente $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), originando uma fração polar [PL].

Se os alcalóides correspondentes aos N-óxidos eram desejados, metade da solução aquosa ácida (após a extração com CHCl_3) era reduzida pela agitação por duas horas com excesso de pó de Zn (1 g/10 ml de solução), filtrada em papel, alcalinizada com excesso de NH_4OH (até todo o sal de zinco dissolver como complexo de amônio), e extraída como acima com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 3:1 (duas vezes) e CHCl_3 (duas vezes), originando uma fração alcaloidal total [AT].

PARTES DE PLANTAS
FRESCAS OU INSETOS VIVOS

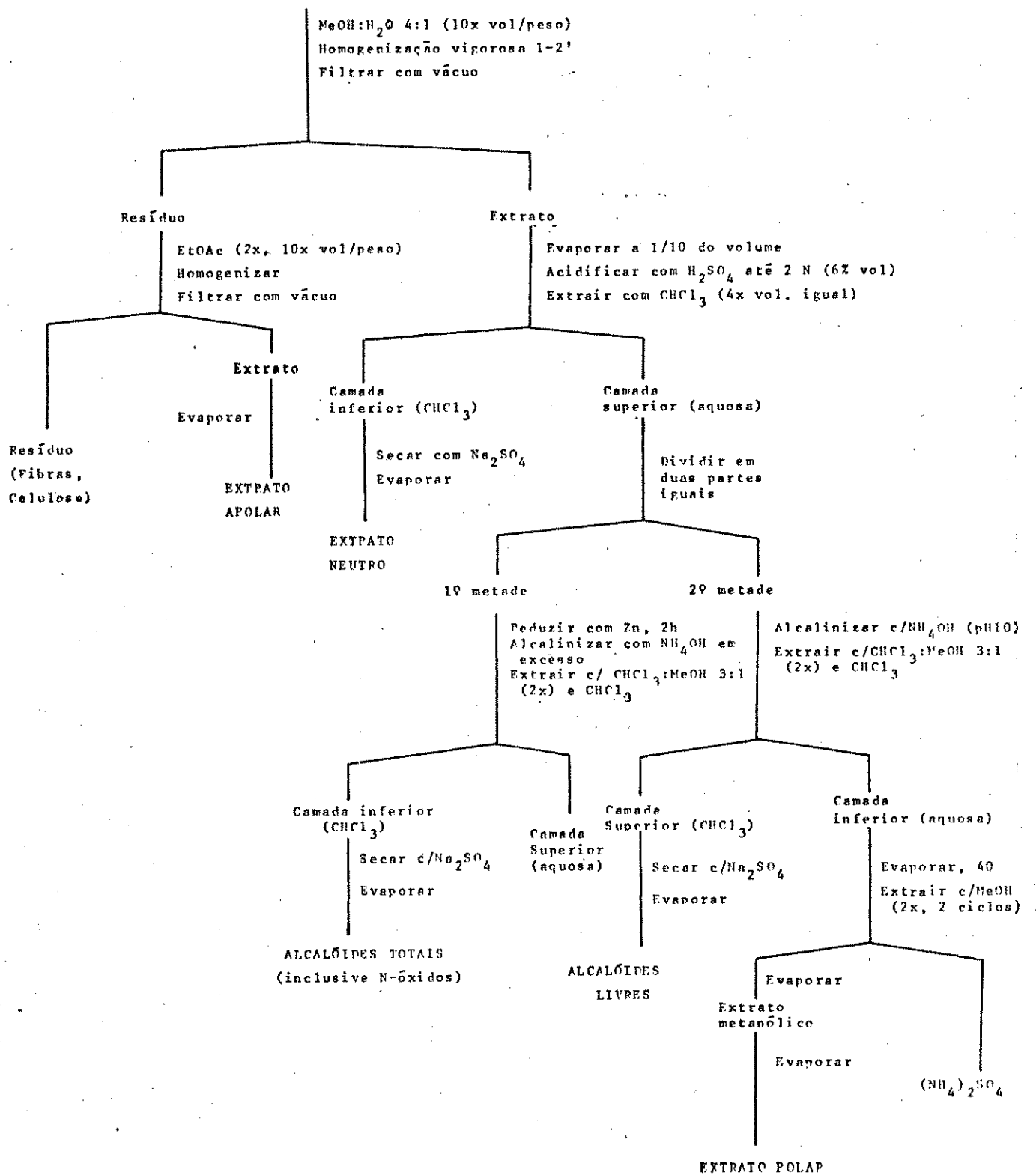


Figura 7. Esquema padrão para o fracionamento químico de plantas e insetos.

5.2. Isolamento e Identificação de Alcalóides Pirrolizidínicos.

5.2.1. Cromatografia em Camada Fina.

As frações foram primeiramente analisadas em cromatografia em camada fina (0,33 g de sílica gel H/1,00 ml H₂O/placa de 3,00 x 7,00 cm, ativada a 110 °C), usando-se como fase móvel CHCl₃:MeOH:NH₄OH 85:15:1. Para a revelação de PAs colocava-se a placa numa câmara de iodo, transformando assim os PAs em diidropirrolizinas, originando manchas marrons. Entretanto, a reação com iodo é comum à grande parte de compostos orgânicos, não sendo específica para PAs. Portanto, posteriormente a placa foi aquecida brandamente para se retirar o iodo, então revelou-se os PAs borifando a placa com Reagente de Ehrlich (HCl + 10% de p-DMABald), que origina manchas roxas, avermelhadas e marrons, quando reage com diidropirrolizinas (MATTOCKS, 1967a).

5.2.2. Cromatografia de Partição.

Após a análise em cromatografia em camada fina, as frações contendo PAs foram separadas em coluna cromatográfica de partição usando-se o sistema EtOH:CHCl₃:H₂O 1:9:1. A fase estacionária é a superior do sistema (75% [volume/peso] em Celite 545 com fenol vermelho como indicador) e a fase móvel a inferior. A detecção de PAs nas frações coletadas da coluna foi feita em cromatografia em camada fina conforme metodologia descrita acima.

5.2.3. Análise Espectral de Alcalóides Pirrolizidínicos em Ressonância Magnética Nuclear.

As frações coletadas da coluna foram agrupadas segundo Rf (distância da mancha/distância da frente) dos PAs em cromatografia em camada fina. Posteriormente foram analisadas em espectroscopia de RMN (SILVERSTEIN, 1979) em Varian T-60 pertencente ao Instituto de Química, UNICAMP, utilizando-se como solventes CDCl_3 + 1% TMS. Os deslocamentos químicos foram comparados com padrões encontrados em CULVENOR & SMITH (1966) (Tab. 1).

5.3. Colorimetria de Alcalóides Pirrolizidínicos.

O método colorimétrico de detecção de PAs foi inicialmente desenvolvido por MATTOCKS (1967b; 1968) e BINGLEY (1968), sendo parcialmente modificado por BROWN (1985).

Estágios imaturos, adultos de Ithomiinae, e partes de plantas foram coletados no campo ou criados em laboratório, colocados individualmente em frascos de 2 ml de MeOH absoluto, para a determinação de bases totais e N-óxidos de PAs, seguindo o esquema da Fig. 8. Amostras de 0,1 ml foram secas em banho à 70 °C ou em descanso por 24 horas à temperatura ambiente. Após a secagem, adicionou-se 0,5 ml de reagente de oxidação (30% peso/volume de H_2O_2 estabilizado com 5 mg/ml de $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$, e diluído 1:200 com MeOH absoluto), aquecendo-se em banho de 100 °C por 25 minutos e evitando-se contaminação por H_2O que interfere

no final da reação (esta etapa da reação não foi utilizada para determinação de N-óxidos). Esfriou-se as amostras à temperatura ambiente, acrescentando-se 1 ml de acetato de isoamila e 0,1 ml de As_2O_3 , e aqueceu-se em banho à 100 °C por 2 minutos (reação de Polonovski), evitando-se a contaminação por H_2O . Esfriou-se as amostras à temperatura ambiente e acrescentou-se 1 ml de Reagente de Ehrlich modificado (20% BF_3 etanólico:ETOH 8:72 ml + 1,4 g de pDMABald) preparado na hora. Os tubos contendo as amostras foram enrolados para evitar a contaminação por H_2O , aquecidos em banho à 60 °C por 5 minutos e esfriados à temperatura ambiente. A leitura foi feita em um espectrofotometro MICRONAL B-280 (Departamento de Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, UNICAMP), à 562 nm, em cuvetas de 1-cm. As amostras foram colocadas nas cuvetas, completando-se o volume até 3,8 ml com acetona redestilada. As leituras de absorbância foram transformadas em μg de FAs, a partir da curva padrão construída com 5 - 100 μg de equinatina pura (BROWN, 1984; 1985; 1987), pelas seguintes equações:

$$a. \mu\text{g de bases totais (bases livres + N-óxidos)} =$$

$$\text{absorbância} \times 400 \times 10/6;$$

$$b. \mu\text{g de N-óxidos} = \text{absorbância} \times 400.$$

O fator 10/6 foi aplicado no cálculo das bases totais devido à decomposição de aproximadamente 40% de N-óxido por ocasião da reação de oxidação à 100 °C.

Este método não diferencia a presença de diidropirrolizinas dos alcalóides pirrolizidínicos. Estas podem ser determinadas quantitativamente não se fazendo a oxidação e a reação de Polonovski. Alcalóides pirrolizidínicos saturados e

diidropirrolizinas cetônicas também não são determinados por esta metodologia (MATTOCKS, 1967b).

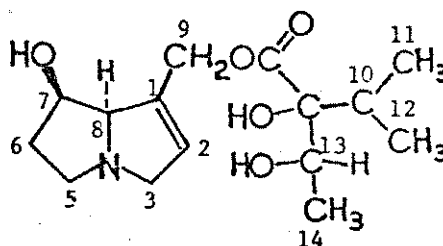
5.4. Redução com NaBH_4 .

Algumas diidropirrolizinas quando reagem com Reagente de Ehrlich não apresentam a coloração característica (CULVENOR et al., 1970). Portanto para se detectar essas substâncias pelo método de Ehrlich reduziu-se a fração desejada com 50% (peso/peso) de NaBH_4 metanólico (10 g/ml) durante 1 hora. Secou-se a solução em rotavapor de baixa pressão e extraiu-se com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 3:1, obtendo-se a subfração A. O insolúvel foi dissolvido em H_2O . A fração aquosa foi levemente acidificada com 2% HCl , depois alcalinizada a pH 10 com NH_4OH e extraída com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$, obtendo-se a subfração B. A fração aquosa foi seca em rotavapor de baixa pressão, extraída 2 vezes com MeOH e filtrada em papel para eliminação de sais inorgânicos insolúveis (principalmente NH_4Cl), originando uma subfração C (Fig. 9). As subfrações foram analisadas pelo método cromatográfico em camada fina. Este método foi empregado por CULVENOR et al. (1970) para reduzir diidropirrolizinas (Fig. 1.28) à seus respectivos aminoalcoóis (Fig. 1.30).

Tabela 1. Deslocamentos químicos (δ , ppm) de prótons de alcalóides 1,2-desidropirrolizidínicos monoésteres ($C_{15}H_{25}NO_5$) (segundo CULVENOR & SMITH, 1966).

Alcalóide	Fórmula ^a	H2	H9	H11	H12	H14
Intermedina	12	5,91	4,80	0,94	0,94	1,19
Licopsamina	10	5,90	4,80	0,90	0,94	1,26
Indicina	13	5,90	4,60;5,11	0,92	0,94	1,16
Equinatina	9	5,79	4,88;5,02	0,89	0,93	1,30
Rinderina	11	5,71	4,89	0,94	0,94	1,20

^a ver Figura 1.



Estrutura da licopsamina.

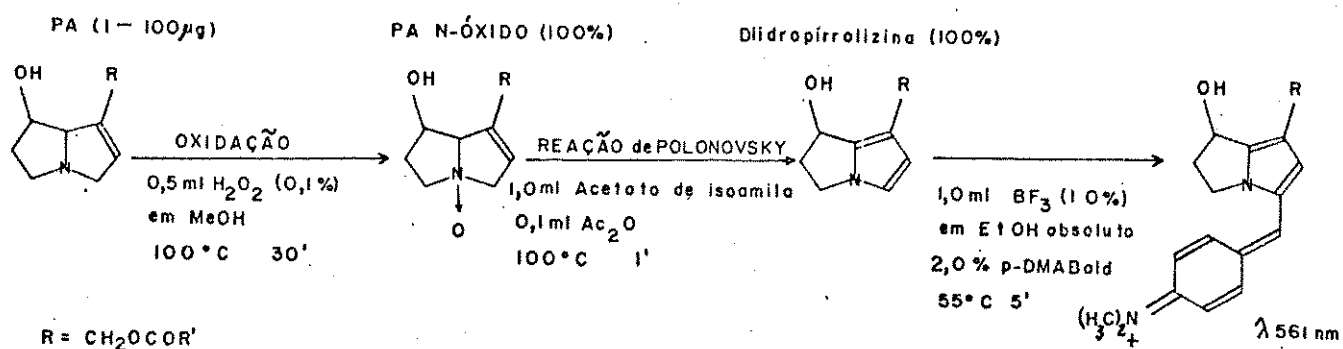


Figura 8. Esquema do método colorimétrico para detecção de alcalóides pirrolizidínicos (modificado de BROWN, 1985).

FRACÃO

reduzir por 1 h com 50% NaBH_4
em solução de MeOH (10mg/ml)
secar em rotavapor
extrair com CHCl_3 :MeOH 3:1 (3x)

SUBFRAÇÃO A

solúvel em CHCl_3 :MeOH

SUBFRAÇÃO INSOLÚVEL em CHCl_3

acidificar 2% HCl 1 N
alcalinizar pH 10 com NaOH
extrair CHCl_3 :MeOH 3:1 (3x)

SUBFRAÇÃO B

solúvel em
 CHCl_3 :MeOH

SUBFRAÇÃO C

solúvel em H_2O

Figura 9. Esquema padrão para redução com NaBH_4 .

6. QUANTIFICAÇÃO DE ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS EM BORBOLETAS E PLANTAS.

Todos os estágios imaturos dos ithomiíneos coletados nas áreas de estudo ou criados em laboratório, foram analisados pelo método colorimétrico para quantificação de PAs.

No caso de adultos, nas áreas da Mata de Costa e Silva e Mata da Pedra, um dia após o segundo dia mensal de amostragens, coletava-se um máximo de 30 indivíduos da população, entre machos e fêmeas, para análise quantitativa de PAs pelo método colorimétrico. Na área da Mata de Costa e Silva, também coletava-se 10 machos e 10 fêmeas de *Mechanitis polymnia* para obter dados comparativos de um ithomiíneo que tinham Solanaceae como planta hospedeira. Após as análises quantitativas as amostras foram fracionadas. Na área da Serra do Japi foram coletados mensalmente, para análise quantitativa de PAs, durante os meses de maior tamanho populacional (fevereiro a julho), 10 indivíduos de cada sexo de *Aeria olena*. Adultos recém emergidos da pupa, cujas larvas foram criadas em laboratório, também foram analisados para quantificação de PAs.

Comparou-se a quantidade de PAs entre os meses, entre sexos, entre populações alopátricas de *Aeria olena*, entre espécies e entre idades relativas (incluindo adultos recém emergidos) de cada espécie. Comparou-se a percentagem de PAs (em relação ao peso seco dos indivíduos) e a percentagem de N-óxidos (em relação ao total de PAs dos indivíduos) entre populações de *Aeria olena* e entre as espécies em estudo.

Para estudar a distribuição de PAs entre diferentes partes do corpo de borboletas adultas indivíduos foram separados em cabeça, tórax, asas anteriores e posteriores, e abdome (algumas vezes as estruturas sexuais também foram dissecadas) e a quantidade de PAs nestas estruturas foi determinada pelo método colorimétrico. Foram calculadas a percentagem de bases totais em cada estrutura (em relação ao total presente no indivíduo), e a concentração relativa de PAs em cada estrutura (a razão entre a percentagem de bases totais de cada estrutura e a percentagem do peso seco de cada estrutura - em relação ao peso seco total).

Os PAs detectados em plantas hospedeiras através de cromatografia em camada fina, foram quantificados pelo método colorimétrico e a quantidade de PAs foi relacionada com a idade da planta. Foram consideradas plântulas, indivíduos com até 40 cm de altura, com folhas com a face inferior vermelha e a superior com nervuras esbranquiçadas, e adultos, indivíduos em fase de floração.

7. BIOENSAIOS PARA ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS COM A ARANHA *Nephila clavipes*.

Os bioensaios com *Nephila clavipes* foram feitos nas áreas da mata de Costa e Silva, Monjolinho, Amarais e Serra do Japi, nos meses de março a maio, quando as aranhas eram abundantes. Todos os bioensaios foram realizados entre 9:00 e

16.00 horas. Foram utilizadas fêmeas de aranhas, verificando se as mesmas eram saudáveis, isto é, se a teia era nova e a fêmea respondia imediatamente quando uma presa qualquer era lançada na teia.

O comportamento típico de fêmeas desta espécie, quando uma presa é lançada ou cai em sua teia, é se deslocar da posição porção mediano superior da teia, na região de convergência dos raios, em direção ao local onde a presa caiu na teia. A presa então é tocada com as quiliceras, pedipalpos e o primeiro par de patas, sendo então paralisada por veneno inoculado pelas quiliceras. Depois de enrolar a presa com o auxílio das fiandeiras e dos pares de patas traseiros a aranha leva a presa à porção mediano superior da teia onde continua a picá-la com as quiliceras, regurgitando um suco digestivo na presa, passando então a sugá-la. Esta operação de embeber a presa em suco digestivo e sugá-la dura em média 15 a 20 minutos. Os restos alimentares (quitina das presas) são desprezados e dependurados na teia em separado (VIANNA, 1972).

Aranhas que já estavam se alimentando não foram utilizadas nos bioensaios. Não foi feito controle de saciação nas aranhas. Cada aranha era utilizada, na maioria das vezes, uma única vez em um mesmo dia. Caso contrário o próximo bioensaio com a mesma aranha era efetuado somente uma hora após o primeiro bioensaio.

Ithomiíneos adultos (capturados no campo e recém emergidos da pupa) eram lançados na teia da aranha, observando-se a resposta da mesma. A resposta descrita por VIANNA (1972) foi considerada como predação mesmo se a aranha após começar a sugar

a presa jogava-a fora posteriormente. Considerava-se rejeição quando a aranha ao tocar na borboleta com os pedipalpos não consumava o ataque, voltando para o centro da teia, deixando a borboleta ilesa porém presa à teia. Considerou-se liberação quando a aranha após tocar a borboleta com seus pedipalpos cortava a teia em volta do lepidóptero liberando-o ileso. O conceito de rejeição aqui utilizado é diferente do conceito de VASCONCELLOS-NETO & LEVINSOHN (1984), onde presas inicialmente sugadas e depois liberadas é que são consideradas rejeitadas.

Adultos de borboletas palatáveis *Biblis hyperia*, *Myscelia orsis* (Nymphalinae) e *Phoebis statira* (Pieridae), capturados no campo, foram pincelados com diversas concentrações de frações de plantas e lepidópteros (dissolvidas em 0,20 ml de CHCl_3 ou em 0,15 ml de H_2O + 0,05 ml de CHCl_3 + 1 gota de óleo vegetal). Os lepidópteros foram lançados na teia de *Nephila clavipes* verificando a resposta da aranha em relação a presa. Neste caso rejeição e liberação só eram considerados como tal se após a primeira rejeição ou liberação ocorresse semelhante resposta mais duas vezes consecutivas com aranhas diferentes. Caso contrário (após a primeira ou segunda rejeição ou liberação outra aranha predasse a borboleta) a resposta era considerada predação. No caso de predação no primeiro bioensaio não foram feitas novas replicações. Como controle utilizou-se das borboletas palatáveis pinceladas com os solventes acima descritos. Para cada fração, quando o número de indivíduos bioensaiados foi maior ou igual a 10, foi calculado um coeficiente de rejeição ($\text{CRj} = [\text{número de indivíduos rejeitados} + \text{liberados} / \text{número de indivíduos bioensaiados}] \times 100$).

B. ASSIMILAÇÃO DE ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS POR BORBOLETAS.

Adultos de *Mechanitis lysimnia* recém emergidos da pupa foram alimentados com aproximadamente 150 μ g de ascorbato de PAs (Ácido ascórbico + PA 8:15) em 5 μ l de H₂O:mel 3:1/indivíduo. Para conseguir com que a borboleta se alimentasse, desenrolava-se sua espirotromba, colocando-a em contato com a solução de ascorbato de PAs colocada em uma lâmina. Este contato era suficiente para estimular o lepidóptero a se alimentar. Após a ingestão, os lepidópteros foram lançados na teia de *Nephila clavipes* em diferentes intervalos de tempo, observando-se a resposta da aranha em relação a presa. Alguns destes indivíduos foram recuperados da teia após registrar a resposta da aranha e posteriormente analisados pelo método colorimétrico.

R E S U L T A D O S

1. DINAMICA POPULACIONAL.

1.1. Estimativa populacional, estrutura etária, proporção sexual e distância percorrida em *Ithomiinae*.

A Tabela 2 e a Figura 10 mostram a estimativa populacional de *Aeria olena* na Mata de Costa e Silva durante o período de dezembro de 1983 a junho de 1985. A população deste lepidóptero apresentou um número de indivíduos estimado, crescente de janeiro a maio de 1984, quando alcançou um pico populacional, decrescendo bruscamente no mês de julho. O número de indivíduos permaneceu baixo até janeiro de 1985 quando se iniciou um novo ciclo. O aumento populacional coincidiu com o período super úmido de janeiro a maio e a redução brusca na população ocorreu no período seco em julho (Fig. 6A).

A Tabela 3 e Figura 13 mostram a estimativa populacional de *Tithorea harmonia* na Mata da Pedra durante o período de setembro de 1984 a julho de 1985. A população deste lepidóptero apresentou um padrão semelhante ao de *Aeria olena*. No mês de março de 1985 a população aumentou consideravelmente e decresceu a níveis baixos em junho e julho. De setembro de 1984 a fevereiro de 1985, a população também apresentou níveis baixos, entretanto superiores aos dos meses junho e julho. Nos meses de

junho e julho o tamanho populacional foi menor e o clima foi seco e frio; em março quando ocorreu uma explosão populacional, o clima foi super úmido (Fig. 6C).

A estrutura etária de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva é diferente nos dois anos de estudo. Em 1984 houve um predomínio de indivíduos novos durante o período super úmido (janeiro a abril, Fig. 6A), com uma diminuição dessa classe etária e o aumento de indivíduos mais ou menos novos no período seco (maio a julho, Fig. 6A) (Tab. 2 e Fig. 11). No período de setembro de 1984 a janeiro de 1985 (agrupando-se os dados desses meses) predominaram indivíduos intermediários e velhos (Tab. 2). Em fevereiro de 1985 (período super úmido) havia uma alta proporção de indivíduos mais ou menos novos. Esta proporção decrescia, aumentando a proporção de novos, de março (super úmido) a julho de 1985 (seco) (Tab. 2 e Fig. 11). A proporção de indivíduos intermediários e velhos não variou muito neste período.

Em *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra observou-se uma pequena proporção de indivíduos novos em setembro de 1984 onde indivíduos intermediários eram predominantes. Em outubro de 1984 a proporção de indivíduos novos aumentou e se manteve até maio de 1985. Nesse período as proporções das outras classes de idade se mantiveram constantes. Em junho e julho de 1985 decresceu a proporção de indivíduos novos, aumentando a proporção das outras classes de idade (Tab. 3 e Fig. 14).

Na população de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva a proporção de machos foi significativamente maior que fêmeas ($P < 0,01$) de maio a julho de 1984 e abril a junho de 1985 (Tab. 2 e

Fig. 12). Na população de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra somente em julho de 1985 a proporção de machos foi significativamente maior do que a de fêmeas ($P < 0,01$, Tab. 3 e Fig. 15). Em ovos e larvas criados em laboratório obteve-se para *Aeria olena*, 29 machos e 12 fêmeas recém emergidas, sendo a proporção de machos significativamente maior do que a de fêmeas ($P < 0,02$). Para *Tithorea harmonia* obteve-se 10 machos e 9 fêmeas, sendo a proporção sexual estatisticamente igual a 1:1.

A Tabela 4 mostra que as distâncias percorridas entre capturas em dias consecutivos para as populações de *Aeria olena* e *Tithorea harmonia* não são significativamente diferentes dos valores para meses consecutivos, e que *Tithorea harmonia*, uma borboleta muito maior que *Aeria olena* não tende a dispersar mais.

1.2. Fenologia de plantas hospedeiras.

As fenologias de *Prestonia coalita* na Mata de Costa e Silva e *Prestonia acutifolia* na Mata da Pedra se encontram nas Figuras 17A e B respectivamente. *Prestonia coalita*, planta hospedeira de *Aeria olena*, apresenta folhas novas e plântulas com o início das chuvas em novembro e dezembro. Folhas adultas estão presentes de janeiro a julho, quando começam a predominar folhas velhas e duras até outubro. *Prestonia acutifolia*, planta hospedeira de *Tithorea harmonia*, apresenta plântulas durante todo o ano, exceto ou raramente no período seco e frio (junho a agosto - Fig. 6C). Folhas adultas são encontradas durante todo o ano e folhas velhas são frequentemente encontradas no período seco e frio. Folhas jovens não foram computadas porque esta planta é

Tabela 2. Tamanho populacional ($\pm$ erro padrão), estrutura etária e proporção sexual na população de Aeria olena da Mata de Costa e Silva, Campinas, SP, no período de dezembro de 1983 a julho de 1985.

MES	n1	n2	r	P $\pm$ S(P)	PROPORÇÃO SEXUAL(X)		P ^a	ESTRUTURA ETÁRIA (%)		V
					M	F		$\pm$ N	I	
D	5	5	0	11#	72	28	ns	dados não coletados		
J	19	20	3	100 $\pm$ 78	48	52	ns	62	7	7
F	15	25	4	78 $\pm$ 63	51	49	ns	51	29	3
M	18	25	2	156 $\pm$ 127	62	38	ns	44	22	5
A	25	25	3	162 $\pm$ 130	51	49	ns	64	8	12
M	20	29	2	200 $\pm$ 158	68	32	*	47	23	4
J	25	36	5	154 $\pm$ 129	69	31	**	48	29	2
J	9	7	2	24 $\pm$ 16	86	14	**	29	43	14
A					dados não coletados					
S	3	5	1	9 $\pm$ 6	##	##		##	##	##
O	4	3	2	5 $\pm$ 2	##	##		##	##	##
N	1	0	0	1#	##	##		##	##	##
D	1	0	0	1#	##	##		##	##	##
J	5	0	0	5#	##	##		##	##	##
F	8	11	1	48 $\pm$ 25	56	44	ns	22	55	0
M	22	21	6	69 $\pm$ 20	59	41	ns	38	38	8
A	29	34	6	145 $\pm$ 46	70	30	**	39	33	3
M	44	26	5	297 $\pm$ 123	69	31	++	43	30	4
J	29	36	9	107 $\pm$ 27	80	20	**	41	32	2
J	13	4	1	33 $\pm$ 18	68	32	ns	56	32	6

^a Teste de χ^2 para verificar se a razão sexual é significativamente diferente de 1:1 (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$).

os dados não apresentaram erro padrão devido a ausência de recapturas.

proporções reunidas devido ao baixo número de indivíduos na população: M = 60%, F = 40%, P = ns; N = 5%, $\pm$ N = 20%, I = 45%, V = 30%.

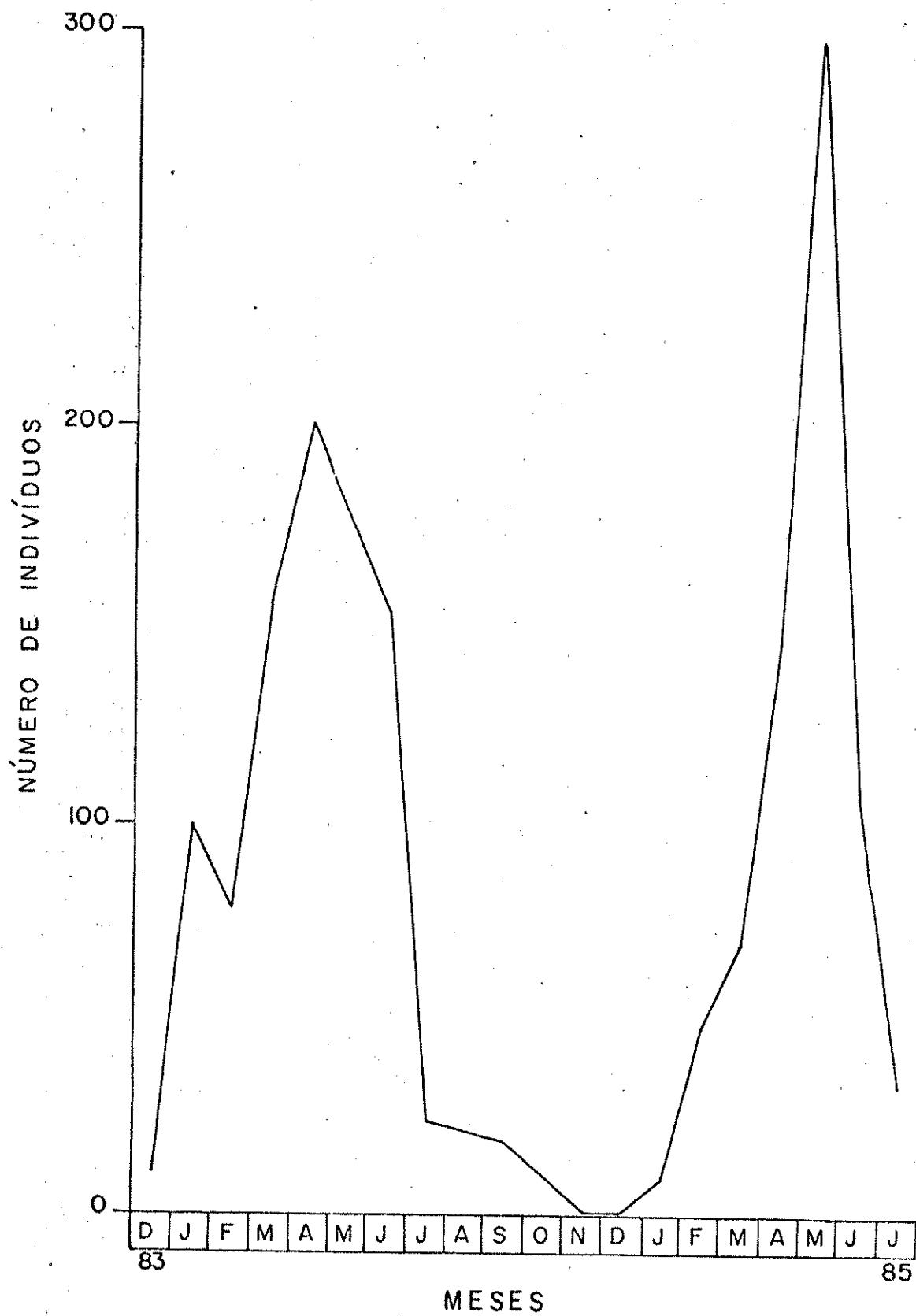


Figura 10. Tamanho populacional de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva, no período de dezembro de 1983 à julho de 1985.

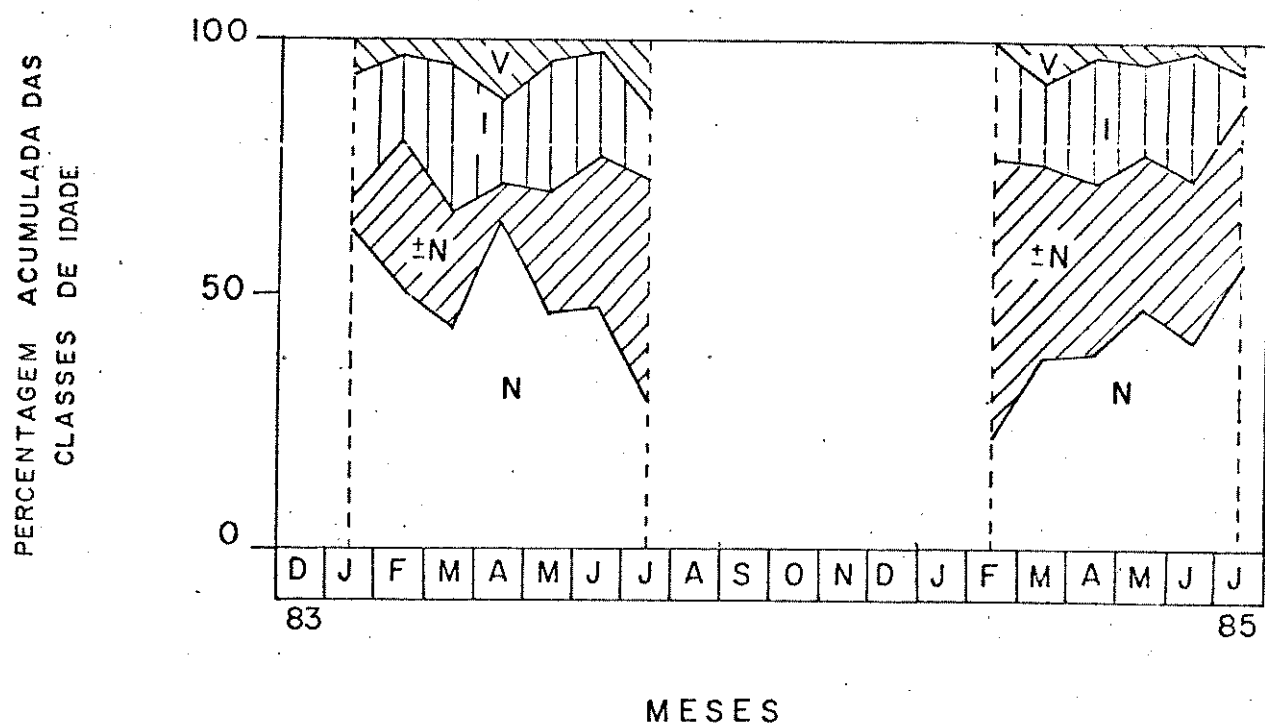


Figura 11. Estrutura etária da população de adultos de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva, nos períodos de janeiro de 1984 à julho de 1985. As idades relativas foram baseadas no estado de conservação das asas, estabelecendo-se 4 categorias: N = novos; $\pm$ N = mais ou menos novos; I = intermediários; V = velhos. De agosto de 1984 à janeiro de 1985 os dados não foram calculados devido ao baixo número de indivíduos amostrado.

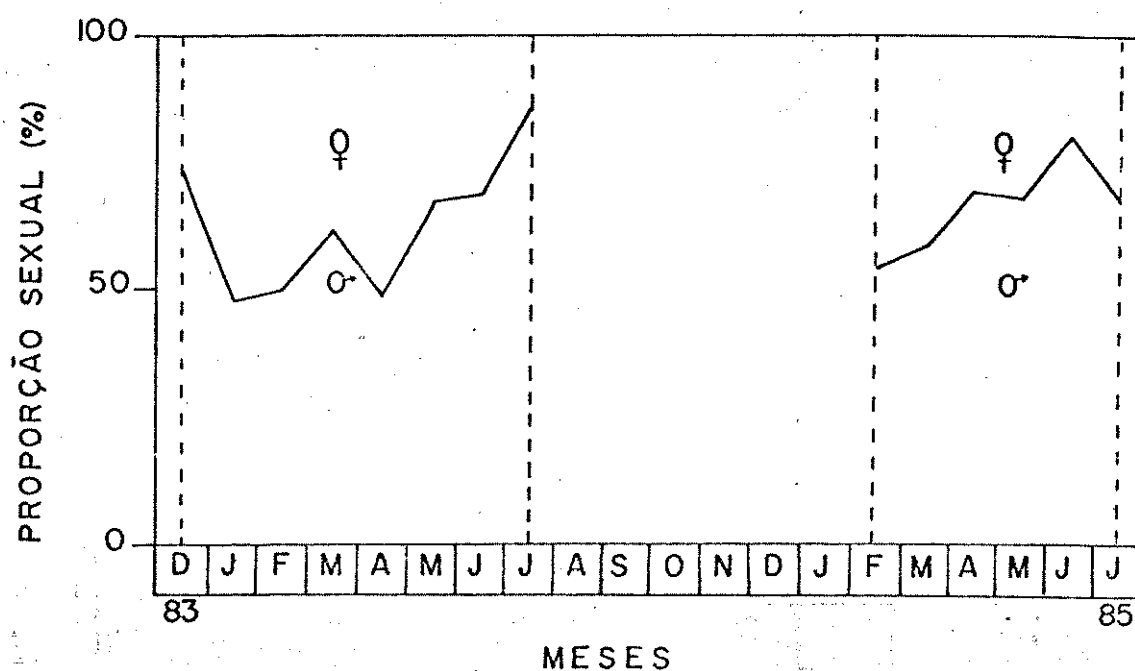


Figura 12. Proporção sexual da população de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva, no período de dezembro de 1983 à julho de 1985. De agosto de 1984 à janeiro de 1985 os dados não foram calculados devido ao baixo número de indivíduos amostrados.

Tabela 3. Tamanho populacional ($\pm$ erro padrão), estrutura etária e proporção sexual na população de *Tithorea hansonii* da Mata da Pedra, Pádua Sales, SP, no período de setembro de 1984 a julho de 1985.

M&S	n1	n2	f	P $\pm$ S(P)	PROPORÇÃO SEXUAL(X)		P*	ESTRUTURA ETÁRIA (Z)				U
					M	F		$\pm$ N		I		
S	38	34	4	266 $\pm$ 100	51	49	ns	3	29	56	12	
O	69	52	12	281 $\pm$ 77	59	41	ns	39	15	21	25	
N	58	29	4	366 $\pm$ 132	55	45	ns	39	35	22	4	
D	36	48	2	441 $\pm$ 189	48	52	ns	43	26	19	12	
J	43	49	5	338 $\pm$ 117	52	48	ns	dados não coletados				
F	121	84	2	3428 $\pm$ 1684	50	50	ns	39	27	20	14	
M	68	87	1	2992 $\pm$ 1708	50	50	ns	36	26	28	10	
A	68	78	3	1343 $\pm$ 595	50	50	ns	35	28	23	14	
M	13	29	1	195 $\pm$ 109	56	44	ns	35	27	18	20	
J	34	19	4	136 $\pm$ 48	67	33	*	27	20	32	21	
								14	45	28	13	

* Teste de χ^2 para verificar se a razão sexual é significativamente diferente de 1:1 (* P<0,05).

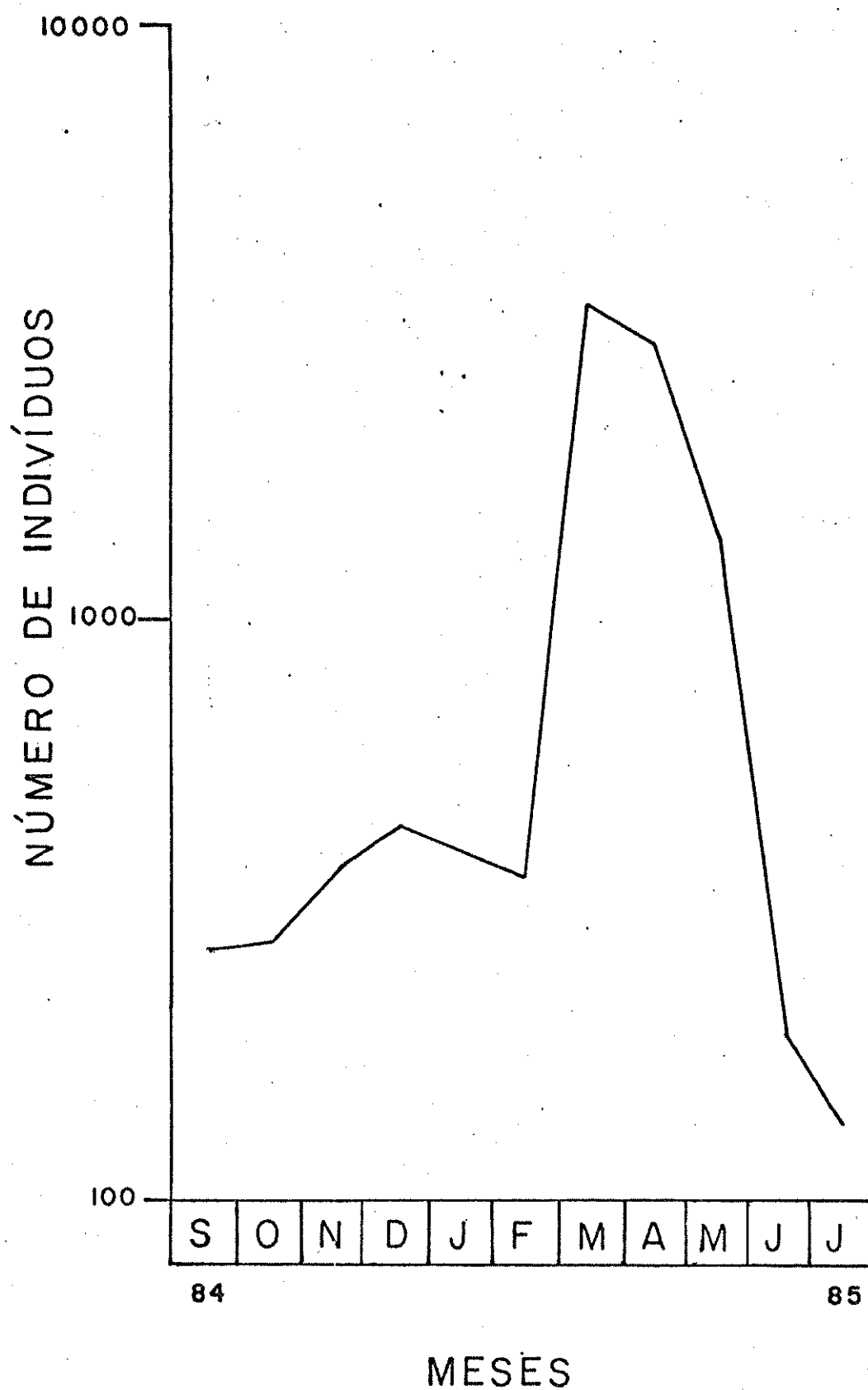


Figura 13. Tamanho populacional de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra, no período de setembro de 1984 à julho de 1985. O número de indivíduos está em escala log.

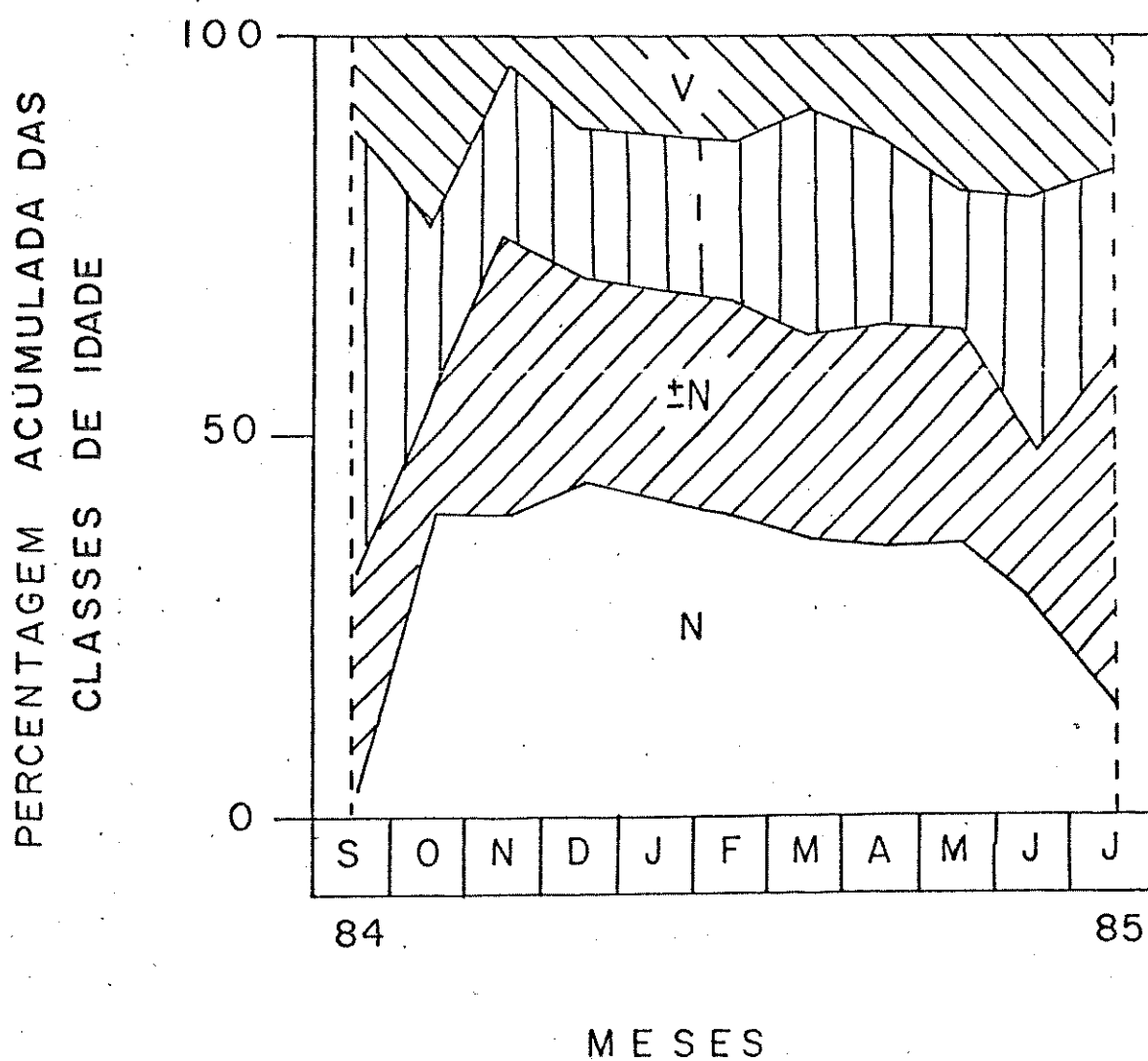


Figura 14. Estrutura etária de adultos da população de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra, no período de setembro de 1984 à julho de 1985. As idades relativas foram baseadas no estado de conservação das asas, estabelecendo-se 4 categorias: N = novos; $\pm$ mais ou menos novos; I = intermediários; V = velhos.

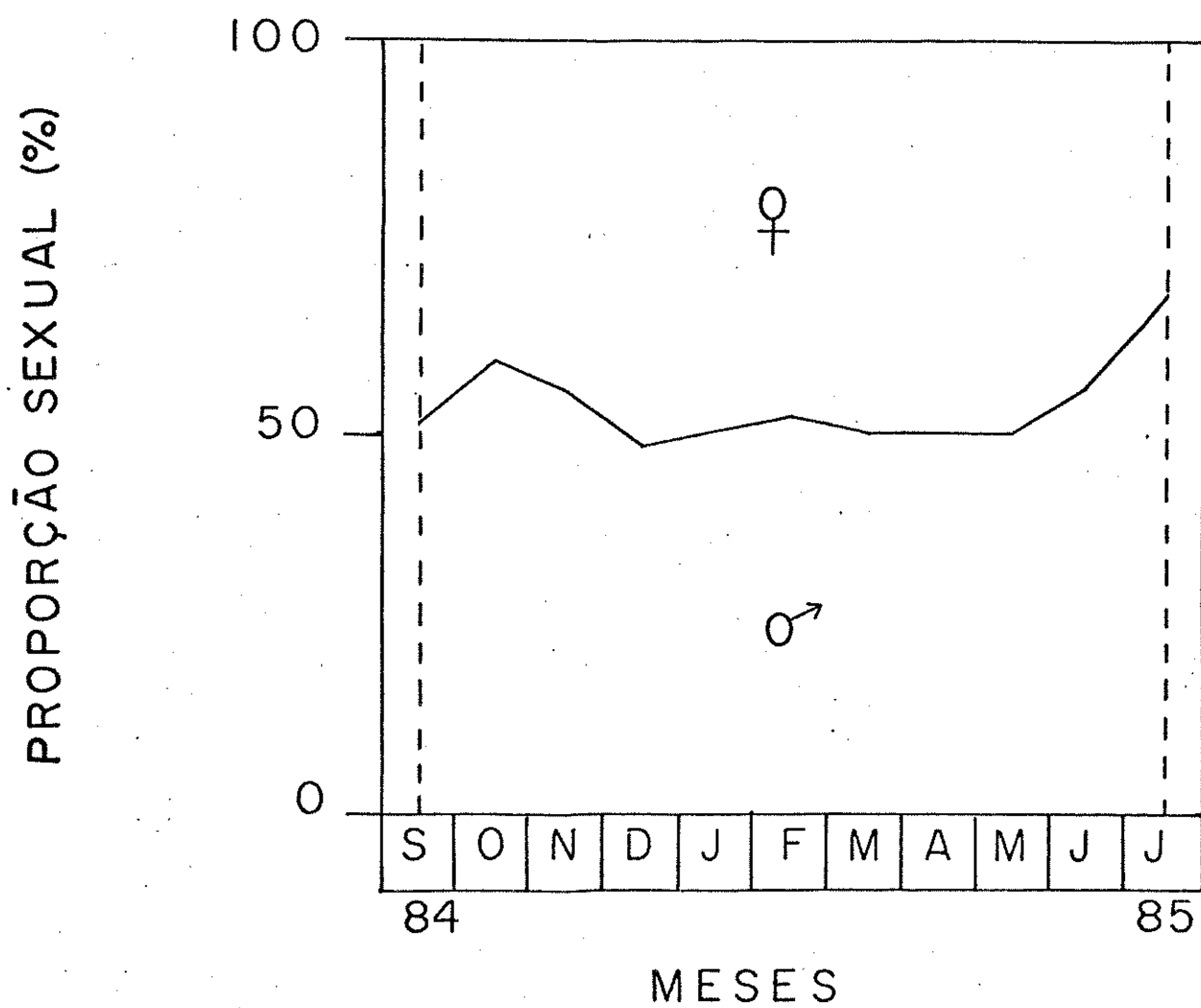


Figura 15. Proporção sexual da população de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra, no período de setembro de 1984 à julho de 1985.

Tabela 4. Distância percorrida (metros) por *Aeria olena* (Mata de Costa e Silva) e *Tithorea harmonia* (Mata da Pedra).

Capturas	Distância percorrida (metros)	
Espécies	$\bar{X} \pm S$	(n) ^a

Entre dias consecutivos		
Aeria olena	71 $\pm$ 81	(26)
Tithorea harmonia	83 $\pm$ 58	(6)
Entre meses consecutivos		
Aeria olena	118 $\pm$ 82	(8)
Tithorea harmonia	95 $\pm$ 57	(5)

Teste de Kruskal-Wallis	H = 5,14	GL = 3 ns

^a o número entre parênteses representa o número de capturas que foi utilizado para estimar a distância percorrida.

uma trepadeira, sendo que sua parte apical muitas vezes se encontra no estrato superior da mata e folhas novas são produzidas no meristema apical. No mês de março ocorre um aumento populacional destas plantas.

1.3. Visitas a fontes de alimentação.

A maioria das plantas visitadas por *Aeria olena* têm floração no período super úmido (janeiro a maio - Fig. 6A).

Algumas plantas continuam a florir no período seco de junho e julho, mas geralmente acabam a floração em setembro iniciando um novo ciclo somente no ano seguinte. Somente *Heliotropium transalpinum* foi encontrado florindo durante todo o ano, embora encontre-se poucas plantas no período de agosto a janeiro (Fig. 16).

Machos de *Aeria olena* visitam mais fontes de PAs do que outras fontes de néctar, e também são observados mais frequentemente em fontes de PAs do que fêmeas (Tabs. 5 e 6), verificando-se uma interação significativa ($P < 0,01$) entre sexo e fontes de alimento com ou sem PAs. A Tabela 7 mostra fontes de alimento visitadas por *Aeria olena* em outras localidades. Na Serra do Japi as fontes de alimentação mais frequentemente visitadas por ambos os sexos foram *Trichogonia gardneri* (Asteraceae: Eupatorieae) e *Borreria latifolia* (Rubiaceae), sendo que estas duas espécies floriram interruptamente de fevereiro a julho de 1985.

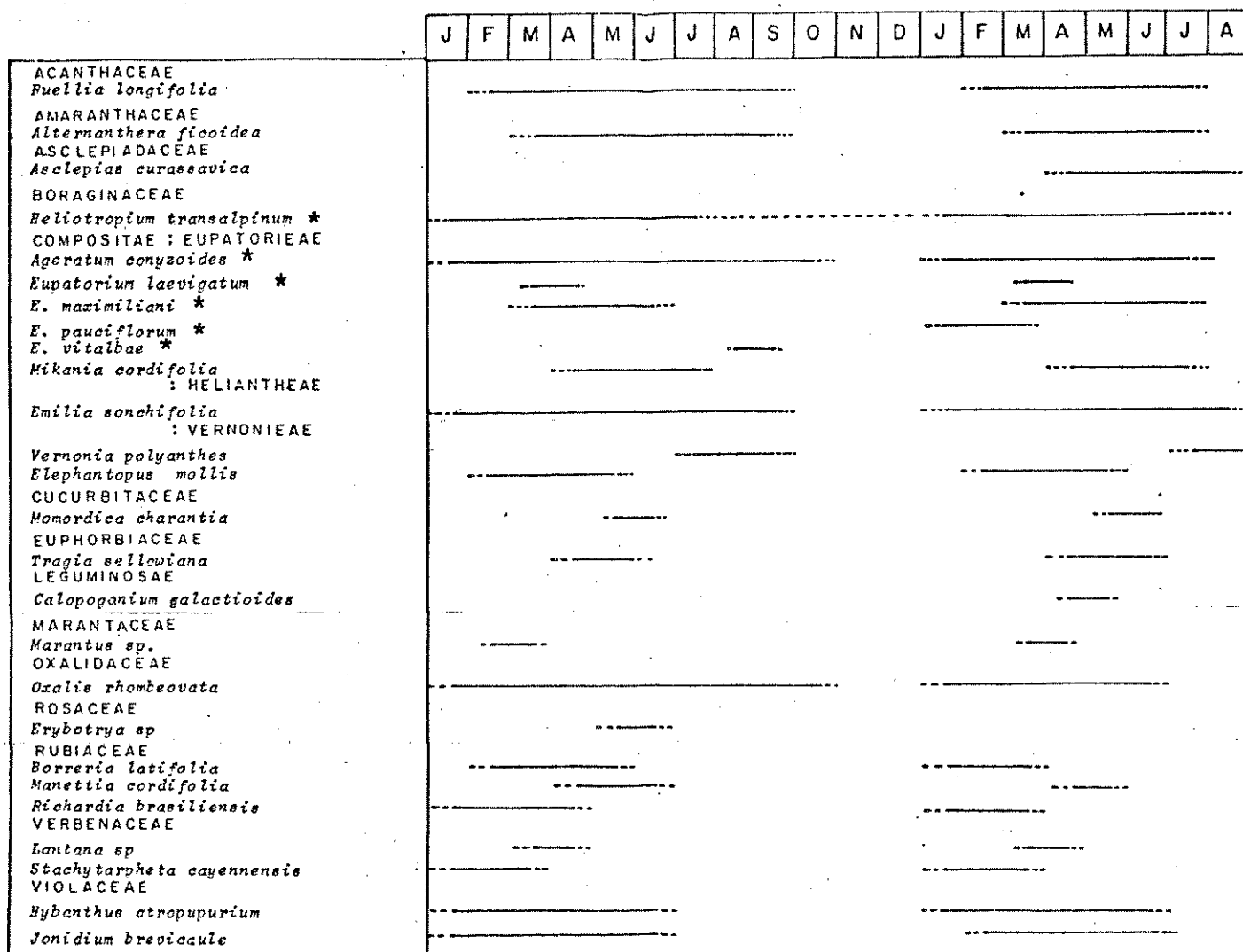
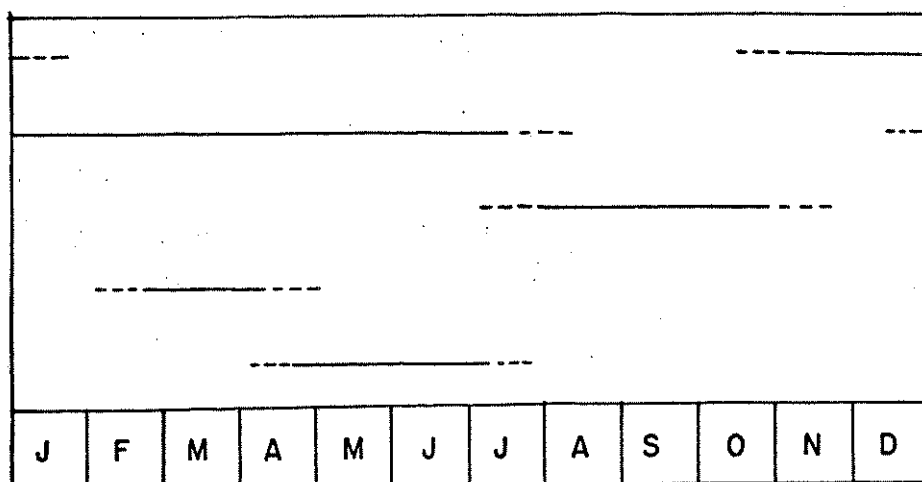


Figura 16. Períodos de floração de plantas visitadas por *Aeria olena* na Mata de Costa e Silva, no período de janeiro de 1984 à agosto de 1985. A linha sólida representa um alto número de indivíduos florindo, e a linha tracejada um baixo número de indivíduos florindo.

(*) plantas que possuem PAs.

A. *Prestonia coalita*

FOLHAS JOVENS
FOLHAS ADULTAS
FOLHAS VELHAS
FLORES
FRUTOS

B. *Prestonia acutifolia*

PLANTULA
PLANTA ADULTA
FOLHAS VELHAS
FLORES
FRUTOS

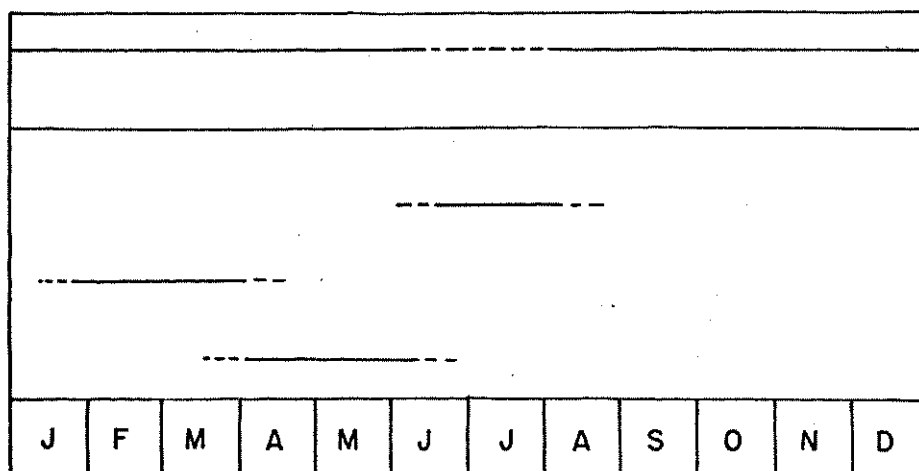


Figura 17. Padrão fenológico de *Prestonia coalita* da Mata de Costa e Silva (A), e *Prestonia acutifolia* da Mata da Pedra (B), no ano de 1984. A linha sólida representa um alto número de indivíduos com a característica, e a linha tracejada um baixo número de indivíduos.

Tabela 5. Número de visitas de Aeria olena em plantas da Mata de Costa e Silva, no período de dezembro de 1983 a julho de 1985.

Espécie de Plantas	Sexo ^a	
	Machos	Fêmeas
ACANTHACEAE		
Ruellia longifolia	6 (4,6)	1 (2,2)
AMARANTHACEAE		
Alternanthera ficoidea	12 (9,2)	9 (20,2)
ASCLEPIADACEAE		
Asclepias curassavica	0 (0,0)	1 (2,2)
BORAGINACEAE		
Heliotropium transalpinum ^b	24 (18,5)	5 (11,1)
ASTERACEAE		
Ageratum conyzoides ^b	28 (21,5)	3 (6,8)
Eupatorium maximiliani ^b	29 (22,3)	4 (8,8)
Mikania cordifolia	2 (1,4)	2 (2,4)
Emilia sonchifolia	5 (3,8)	1 (2,2)
Erechtites valerianaefolia	1 (0,8)	0 (0,0)
Elephantopus mollis	3 (2,2)	0 (0,0)
LEGUMINOSAE		
Calopogonium galactioides	1 (0,8)	0 (1,0)
MARANTACEAE		
Marantus sp	0 (0,0)	2 (4,4)
OXALIDACEAE		
Oxalis rhombeovata	5 (3,8)	5 (11,1)
ROSACEAE		
Erybotrya sp	2 (1,4)	3 (6,8)
RUBIACEAE		
Borreria latifolia	1 (0,8)	0 (0,0)
Manettia cordifolia	4 (3,0)	1 (2,2)
VERBENACEAE		
Lantana sp	1 (1,4)	0 (0,0)
Stachytarpheta cayennensis	3 (2,2)	4 (8,8)
VIOLACEAE		
Hybanthus atropurpureum	0 (0,0)	2 (4,4)
Jonidium brevicaulis	3 (2,2)	2 (4,4)

^a o número entre parenteses representa a percentagem em relação ao número total de visitas por sexo.

^b plantas que apresentam PAs.

Tabela 6. Relação entre sexo e visitas a fontes de alimento com ou sem PAs na população de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva.

Visitas à fontes de alimento	Sexo		Total
	Machos	Fêmeas	
Com PAs	82	12	94
Sem PAs	48	33	81
Total	130	45	175

Teste de independência

$G = 15,4$

$P < 0,01$

Tabela 7. Plantas visitadas por Aeria olena em outras localidades.

Espécie de Planta	Local	Data	Sexo
BORAGINACEAE			
<i>Heliotropium peruvianum</i> ^a	MJ	25.03.86	?
<i>Heliotropium transalpinum</i> ^a	JP	28.12.84	F
ASTERACEAE			
<i>Adenostemma swartzii</i> ^a	PD	03.85	M
<i>Ageratum conyzoides</i> ^a	JP	20.02.84	F
<i>Elephantopus mollis</i>	JP	20.01.84	M
<i>Trichogonia gardneri</i> ^a	JP	Dez a Ago	M e F
<i>Mullfia baccata</i>	JP	02.02.85	M
EUPHORBIACEAE			
<i>Croton lundianis</i>	AM	23.03.83	?
<i>Dactyloctenion estrellensis</i>	MJ	22.09.83	?
LEGUMINOSAE			
<i>Acacia plumosa</i>	JP	03.03.84	?
RUBIACEAE			
<i>Borreria latifolia</i>	JP	Dez a Ago	M e F
<i>Psychotria malaneoides</i>	JP	02.02.85	M e F
VERBENACEAE			
<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	AM/JP	18.03.83/ 12.01.84	?/M

^a plantas que possuem PAS.

AM: Mata de Amarais; JP: Serra do Japi; MJ: Mata de Monjolinho;
PD: Mata da Pedra.

A Figura 18 mostra a variação do número de visitas de machos de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva em diferentes fontes de alimento apresentando PAs, comparando com a floração das respectivas fontes. Machos de *Aeria olena* apresentaram preferências por diferentes fontes de PAs. *Ageratum conyzoides* somente era visitado quando *Heliotropium transalpinum* ou *Eupatorium maximiliani* não se encontravam em floração. Da mesma forma *Heliotropium transalpinum* era visitado raramente quando *Eupatorium maximiliani* se encontrava em floração. *Ageratum conyzoides*, uma planta herbácea que alcança em média 50 cm de altura, apresenta uma distribuição descontínua (nas áreas 1, 3, 4 e 13 - Fig. 3) com poucos indivíduos em cada área. *Heliotropium transalpinum*, uma erva que chega a alcançar um metro de altura, apresenta uma distribuição mais contínua nas margens da mata (áreas 5, 6, 8 e 14, 15, 16, 17, 18 - Fig. 3). *Eupatorium maximiliani*, uma planta arbustiva apresentando aproximadamente de um a dois metros de altura, se encontra agrupado em duas grandes manchas nas áreas 2 e 17 (Fig. 3).

Os períodos de floração das plantas visitadas por *Tithorea harmonia* durante os meses de setembro de 1984 a julho de 1985 se encontram na Figura 19. O número de visitas observado durante o período se encontra na Tabela 8. Nessa espécie ambos os sexos apresentam baixa atração por fontes de PAs, sendo que são frequentemente observados visitando flores de *Palicourea* sp (Tabelas 8 e 9), as quais não apresentam PAs (Tab. 11). Em todo o período de observação e coleta (um ano e meio), observou-se somente um macho visitando inflorescências de *Eupatorium maximiliani*, as quais apresentavam PAs. Observou-se em fevereiro

de 1984 um macho de *Tithorea harmonia* se alimentando sobre restos de um *Arctiidae* morto, que posteriormente foi analisado quimicamente, verificando a presença de PAs.

Na Tabela 10 têm-se observações de visitas de outras espécies de *Ithomiinae* a fontes de alimento na região de Campinas. Observam-se várias espécies visitando fontes de néctar e folhas em decomposição de *Heliotropium peruvianum* que continham PAs. Adultos de *Ithomiinae* foram observados coletando secreção entre o cálice e a corola de botões fechados de *Eupatorium laevigatum* na Mata de Costa e Silva. Estes lepidópteros fizeram visitas das 8:30 às 10:30 horas, sendo observadas após este horário, visitas frequentes de *Actinote* sp (*Nymphalidae*: *Acraeinae*). Outras borboletas como *Dryas iulia* (*Heliconiini*), *Parides* sp (*Papilioninae*) e *Urbanus proteus* (*Hesperidae*) também visitavam com frequência inflorescências de *Eupatorium laevigatum* e *E. maximiliani*. Um grande número de dípteros também foi observado visitando flores de *Heliotropium transalpinum*. Em algumas plantas que não possuíam PAs (*Vernonia rubriramea*, *Koelreuteria paniculata* e *Gochnatia polymorpha*) também foram observadas visitas de *Ithomiinae* em grande quantidade.

1.4. Predação e parasitismo em estágios imaturos.

Na mata de Costa e Silva foi observada uma fêmea de *Montina confusa* (Star) (*Hemiptera*: *Reduviidae*), predando larvas de 3º estágio de *Mechanitis lysimnia* que se alimentavam em folhas de *Solanum atropurpureum*. Em laboratório, *Montina confusa*

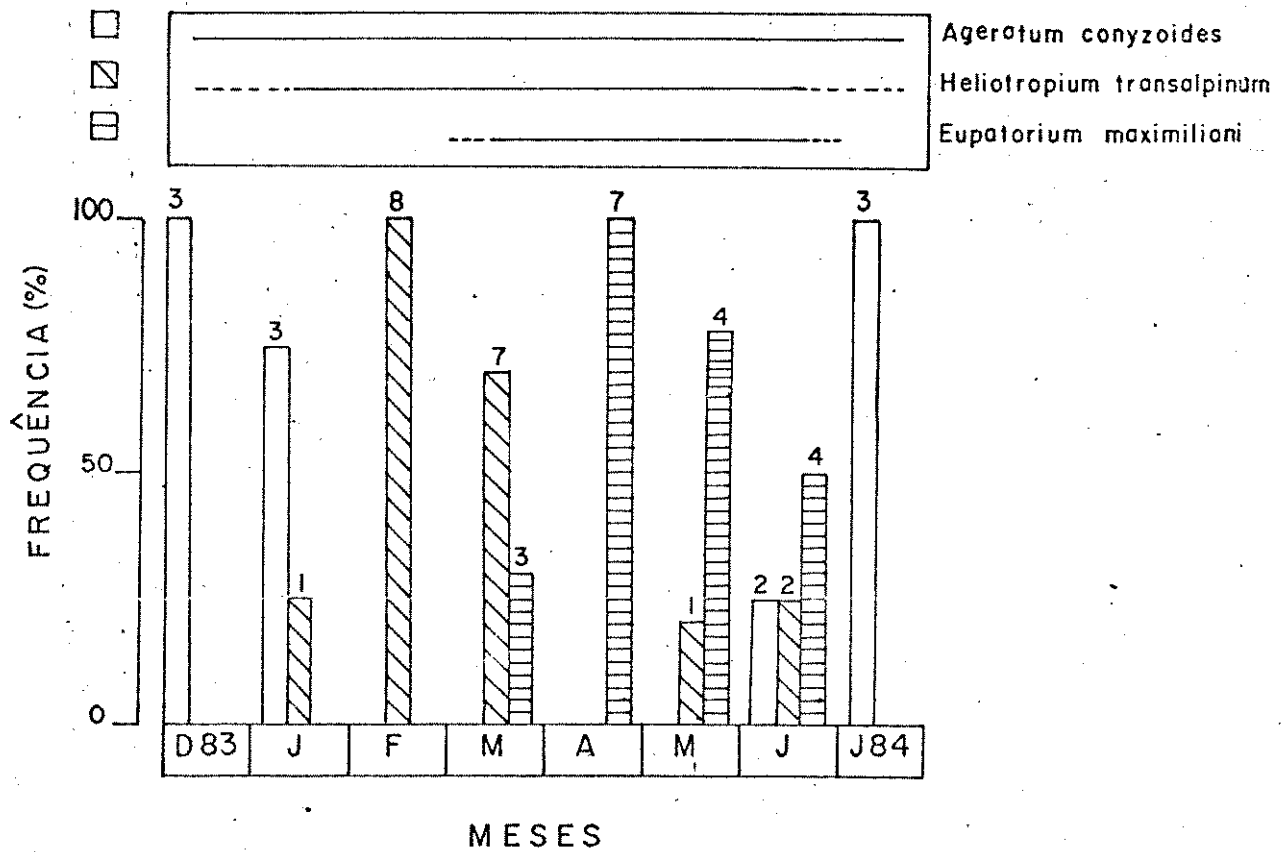


Figura 18. Frequência de visitas de machos de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva à fontes de PAs, no período de dezembro de 1983 à julho de 1984. Os números sobre as barras dos histogramas representam o número absoluto de visitas.

	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A
ACANTHACEAE <i>Dicliptera pohliana</i> (1)												---
APOCYNACEAE <i>Prestonia acutifolia</i>					---	---	---					
BORAGINACEAE <i>Heliotropium indicum</i> (2)	---	---	---	---								
COMPOSITAE <i>Eupatorium maximiliani</i> (2) <i>E. mexiae</i> (2)							---	---	---	---		
RUBIACEAE <i>Palicourea</i> sp.												
SOLANACEAE <i>Cestrum</i> sp. (1)												---

Figura 19 , Períodos de floração de plantas visitadas por *Tithorea harmonia* na Mata da Pedra, no período de setembro de 1984 a agosto de 1985. A linha sólida representa um alto número de indivíduos florindo, e a linha tracejada um baixo número.

(1) poderiam estar florindo em outras épocas.

(2) plantas que possuem PAs.

Tabela 8. Número de visitas de *Tithorea harmonia* em plantas da mata da Pedra, no período de janeiro de 1984 a julho de 1985.

Espécie	Sexo ^a	
	Machos	Fêmeas
ACANTHACEAE		
<i>Dicliptera pohlana</i>	3 (25,0)	3 (33,0)
APOCYNACEAE		
<i>Prestonia acutifolia</i> ^b	2 (17,0)	1 (11,0)
ASTERACEAE		
<i>Eupatorium maximiliani</i> ^c	1 (8,0)	0 (0,0)
RUBIACEAE		
<i>Palicourea</i> sp	6 (50,0)	4 (45,0)
SOLANACEAE		
<i>Cestrum</i> sp	0 (0,0)	1 (11,0)

^a o número entre parenteses representa a percentagem em relação ao número total de visitas por sexo.

^b flores não foram analisadas.

^c plantas que apresentavam PAs.

Tabela 9. Relação entre sexo e visitas à fontes de alimentação com ou sem PAs na população de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra.

Visitas à fontes de alimento	Sexo		Total
	Machos	Fêmeas	
Com PAs	1	0	1
Sem PAs	11	9	20
Total	12	9	21

Teste de independência

$G = 0,49$

ns

Tabela 10. Plantas visitadas por outros Ithomiinae.

Plantas	Local	Espécie
ASCLEPIADACEAE		
<i>Asclepias curassavica</i>	AM	Mp
BORAGINACEAE		
<i>Heliotropium peruvianum</i> ^a	MJ	Ia, Dd, Hn, Mp, Ms, Pe
<i>Heliotropium transalpinum</i> ^a	CS	Dd, Ph, Mp
ASTERACEAE		
<i>Adenostema swartzii</i> ^a	MP	Ia, Mp
<i>Eupatorium laevigatum</i> ^a	CS/AM	Ia, Dd, Mp, Ml, Hs, Ms
<i>Eupatorium maximiliani</i> ^a	CS/AM	Mp, Ml, Dd
<i>Mikania cordifolia</i>	CS	Ml, Mp, Hn
<i>Trichogonia gardneri</i> ^a	AM/JP	Hn, Mp, Ml, Ia, Pe
<i>Bidens brasiliensis</i>	CS	Vários
<i>Cosmos bipinnatus</i>	BG	Mt
<i>Elephantopus mollis</i>	CS	Ia
<i>Gochnatia polymorpha</i>	JP	Vários
<i>Vernonia polyanthes</i>	CS	Ml, Mp, Ee, Hn
<i>Vernonia rubriramea</i>	AM	Mp
EUPHORBIACEAE		
<i>Croton lundianis</i>	AM	Hn
<i>Dactyloctenion aegyptium</i>	MJ	Ml, Mp
LEGUMINOSAE		
<i>Acacia plumosa</i>	JP	Hn, Mp
MARANTACEAE		
<i>Marantus</i> sp	CS	Vários
RUBIACEAE		
<i>Borreria latifolia</i>	JP	Pe
<i>Coffea arabica</i>	CS	Ml, Mp, Ee, Hn, Pe
<i>Psychotria leiocarpa</i>	CS/AM	Hn, Pe, Mp
RUTACEAE		
<i>Esenbeckia leiocarpa</i>	MJ	Vários
SAPINDACEAE		
<i>Koeleruteria paniculata</i>	MJ	Vários

^a plantas que possuem PAS.

AM: Mata de Amarais; BG: região urbana de Barão Geraldo; CS: Mata de Costa e Silva; JP: Serra do Japi; MJ: Mata de Monjolinho; PD: Mata da Pedra.

Ia: *Ithomia agnosia*; Dd: *Dircenna dero*; Ee: *Epityches eupompe*; Hn: *Hypothyris ninonia daeta*; Ms: *Mcclungia salonina*; Ml: *Mechanitis lysimnia*; Mp: *Mechanitis polymnia*; Mt: *Methona themisto*; Ph: *Prittwitzia hymenaea*; Pe: *Pseudoscada erruca*.

predou larvas de 3º estágio de *Mechanitis lysimnia* e *Epytyches eupompe*, rejeitando larvas de 3º e 4º estágio de *Methona themisto*. Na mesma área uma pupa de *Aeria olena* estava parasitada por um Chalcididae não identificado.

Na mata da Pedra, ovos de *Tithorea harmonia* foram encontrados frequentemente parasitados por *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), enquanto que uma pupa foi parasitada por um himenóptero não identificado.

2. ANÁLISE QUÍMICA DE PLANTAS E INSETOS.

2.1. Fracionamento químico de plantas e insetos.

A tabela 11 apresenta a percentagem das frações em relação ao peso seco das plantas e insetos fracionados, e indica se os organismos analisados apresentam ou não PAs. Nas duas espécies de *Prestonia* analisadas (*P. acutifolia* e *P. coalita*), somente folhas da primeira apresentaram PAs. Todas espécies de *Heliotropium* e *Eupatorieae* (exceto *Mikania cordifolia*) apresentaram PAs. Flores de *Dicliptera pohliana*, *Alternanthera ficoidea*, *Cosmos bipinnatus*, *Croton lundianis*, *Dactyloctenion aegyptium*, *Acacia plumosa*, *Oxalis rhomboides*, *Calopogonium galactioides*, *Sida carpinifolia*, *Marantus* sp, *Erythrina* sp, *Borreria latifolia*, *Coffea arabica*, *Richardia brasiliensis*, *Koeleria paniculata* e *Stachytarpheta cayennensis* foram analisadas pelo método colorimétrico e não sendo detectada a presença de PAs. Flores de *Prestonia coalita*, *Prestonia acutifolia*, *Cordia mixa*, *Adenostemma swartzii*, *Wulffia*

Tabela 11. Fracionamento químico de plantas e insetos.

Plantas	Parte da planta	Local	Peso fresco (g)	ZH ₂ O	AP	NT	FRAÇÕES				PL	PAS 5
							AL	AT	PL	PAS 5		
ACANTHACEAE												
Ruellia longifolia	Flores	CS	10,64	82,33	0,53	2,50	0,74	0,53	29,74	-		
APOCYNACEAE												
Prestonia acutifolia	Folhas ju	PD	-	-	5,80	3,20	0,49	0,86	16,40	+		
	Folhas ad	PD	21,00	66,31	3,14	3,75	0,53	0,28	14,56	+		
	Folhas	PD	-	-	1,96	4,34	1,09	0,58	6,69	-		
Prestonia coalita	Folhas	CS	50,00	89,48	7,02	3,61	0,04	0,17	5,46	-		
ASCLEPIADACEAE												
Asclepias curassavica	Flores	AM	-	-	3,57	9,57	0,57	0,48	4,86	-		
BORAGINACEAE												
Heliotropium indicum	Flores/Folhas	PD	106,00	86,07	1,63	3,08	1,46	1,76	4,07	+		
Heliotropium peruvianum	Folhas	HJ	64,10	80,87	2,41	2,76	3,67	10,29	9,09	+		
Heliotropium transalpinum	Flores/Folhas	CS	120,00	84,92	3,32	2,83	0,21	0,27	10,63	+		
ASTERACEAE: EUPATORIACE												
Ageratum conyzoides	Flores	HJ	11,68	80,34	2,18	4,27	1,13	1,22	12,80	+		
Eupatorium inulaefolium	Flores	JP	117,00	71,05	5,60	4,13	0,85	1,66	5,10	+		
Eupatorium gaudichaudianum	Flores	JP	90,00	62,60	7,85	3,23	1,47	1,43	18,89	+		
Eupatorium laevigatum	Botões	CS	9,80	81,82	4,43	11,83	1,90	3,59	16,93	+		
	Frutos	CS	-	-	4,74	2,09	0,88	2,09	8,18	+		
	Folhas	CS	100,00	69,76	9,73	7,70	0,51	0,58	5,44	+		
	Caulis sup	CS	142,05	72,64	0,73	1,81	0,65	2,38	12,38	+		
	Caulis inf	CS	100,00	63,90	2,29	0,79	0,14	0,14	2,75	+		
	Raiz	CS	105,70	61,37	0,50	1,83	0,23	0,94	9,07	+		
Eupatorium pauciflorum	Flores	CS	118,00	76,75	4,42	2,31	0,63	0,63	9,07	+		
Eupatorium maximiliani	Flores	CS	-	-	2,10	1,60	0,73	0,39	10,00	+		
	Flores	PD	-	-	2,19	1,94	0,17	0,25	5,79	+		
Eupatorium mexiae	Flores	PD	126,00	85,41	4,14	8,47	1,24	1,00	12,24	+		
Eupatorium squallidum	Flores	PD	20,00	60,87	1,48	2,02	0,31	0,31	10,27	+		
	Folhas	PD	-	-	2,33	10,73	0,54	0,29	16,35	+		
Eupatorium vitalbae	Flores	CS	33,66	76,79	1,67	2,14	0,44	1,13	11,37	+		
Mikania cordifolia	Flores	CS	-	-	5,30	5,50	0,50	0,85	14,10	-		
Trichogonia gardneri	Flores	JP	-	-	7,30	5,00	1,40	2,90	15,20	+		
: HELIANTHAE												
Bidens brasiliensis	Flores	CS	8,08	76,86	1,28	4,17	0,96	2,03	35,18	-		
Emilia sonchifolia	Flores	CS	13,07	85,08	3,29	4,16	1,23	0,72	13,05	-		
: VERNONIEAE												
Elephantopus mollis	Flores	CS	34,30	61,63	2,43	1,93	0,26	0,18	6,49	-		
Vernonia polyanthes	Flores	CS	-	-	2,17	3,97	0,81	0,17	16,57	-		

baccata, *Erechtites valerianaefolia*, *Tragia sellowiana*, *Manettia cordifolia* e *Cestrum* sp não foram analisadas.

2.2. Ressonância Magnética Nuclear de Alcalóides Pirrolizidínicos.

A fração alcaloidal total de folhas de *Heliotropium peruvianum* apresentou um ^1H rmn: δ (CDCl_3) 5,77, m, (H2); 4,17, d, (H13); 1,95, d, (H10); 1,21, d, (H14), e 0,93, d, (H12 e H11), consistente com a estrutura de rinderina, conforme Tabela 1 (Fig. 20). A fração cristalizou-se facilmente à temperatura ambiente.

A fração de alcalóides totais e alcalóides livres (reunindo 35 mg) de botões de *Eupatorium laevigatum* foi passada em coluna de partição. Atrás da frente da coluna ($R_f = 0,50$) apareceu uma fração apresentando ^1H rmn: δ (CDCl_3) 5,75, m, (H2); 1,33, d, (H14); 0,95, d, (H12), e 0,90, d, (H11), consistente com a estrutura da equinatina, conforme Tabela 1 (Fig. 21).

As subfrações 2, 3, 4 e 5 da coluna de partição de alcalóides totais de inflorescências de *Ageratum conyzoides* (Fig. 22) apresentaram um ^1H rmn: δ (CDCl_3) 5,90, m, (H2); 1,26, d, (H14); 0,93, d, (H12), e 0,88, d, (H11), consistente com a estrutura da licopsamina, conforme Tabela 1 (Fig. 23).

2.3. Redução com NaBH_4 .

A fração polar de *Aeria olena* recém emergida reduzida com NaBH_4 apresentou manchas roxas com R_f 0,14 e 0,21 (em cromatografia em camada fina após reação com Reagente de Ehrlich)

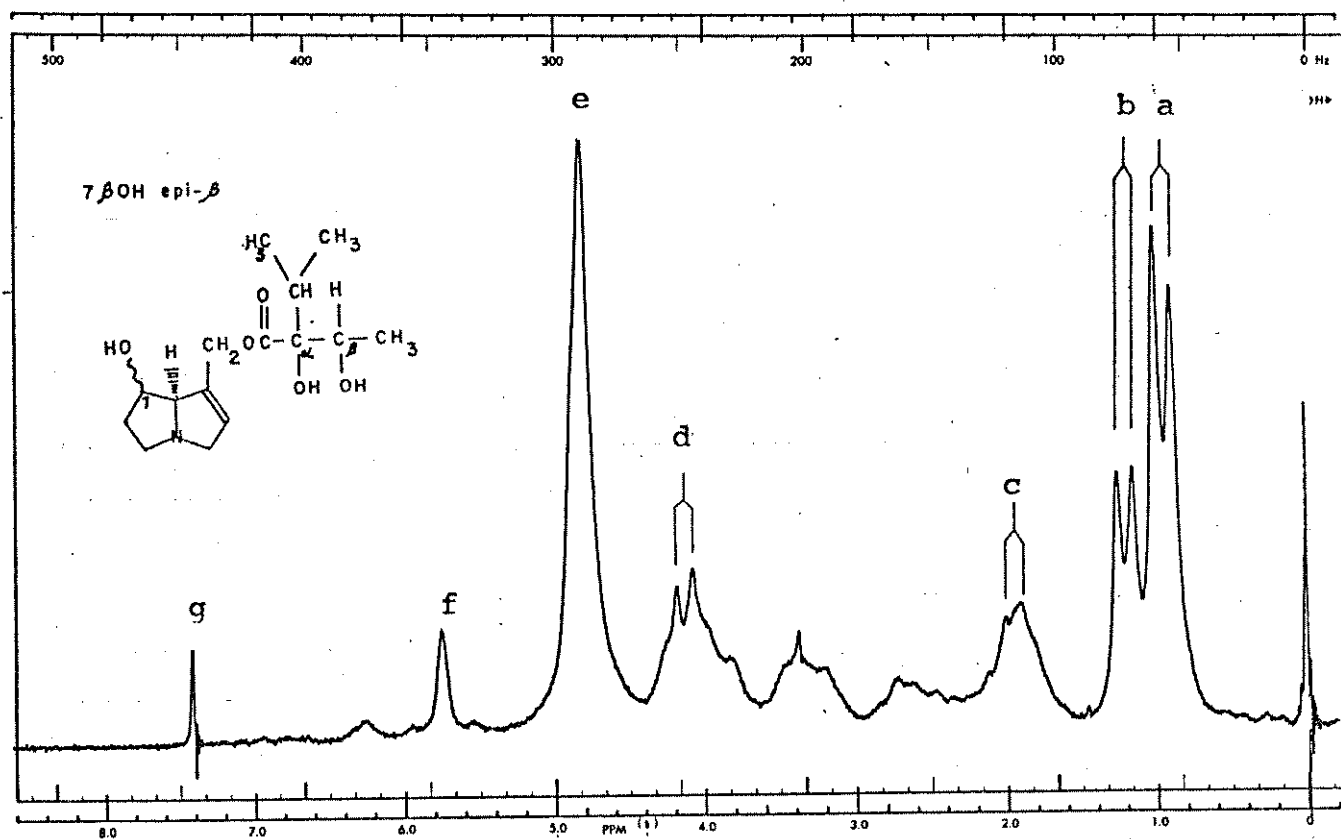


Figura 20. Ressonância Magnética Nuclear da fração alcaloidal total de folhas de *Heliotropium peruvianum*, característica de rinderina. a: H12 e H11; b: H14; c: H10; d: H13; e: H₂O; f: H2; g: CHCl₃.

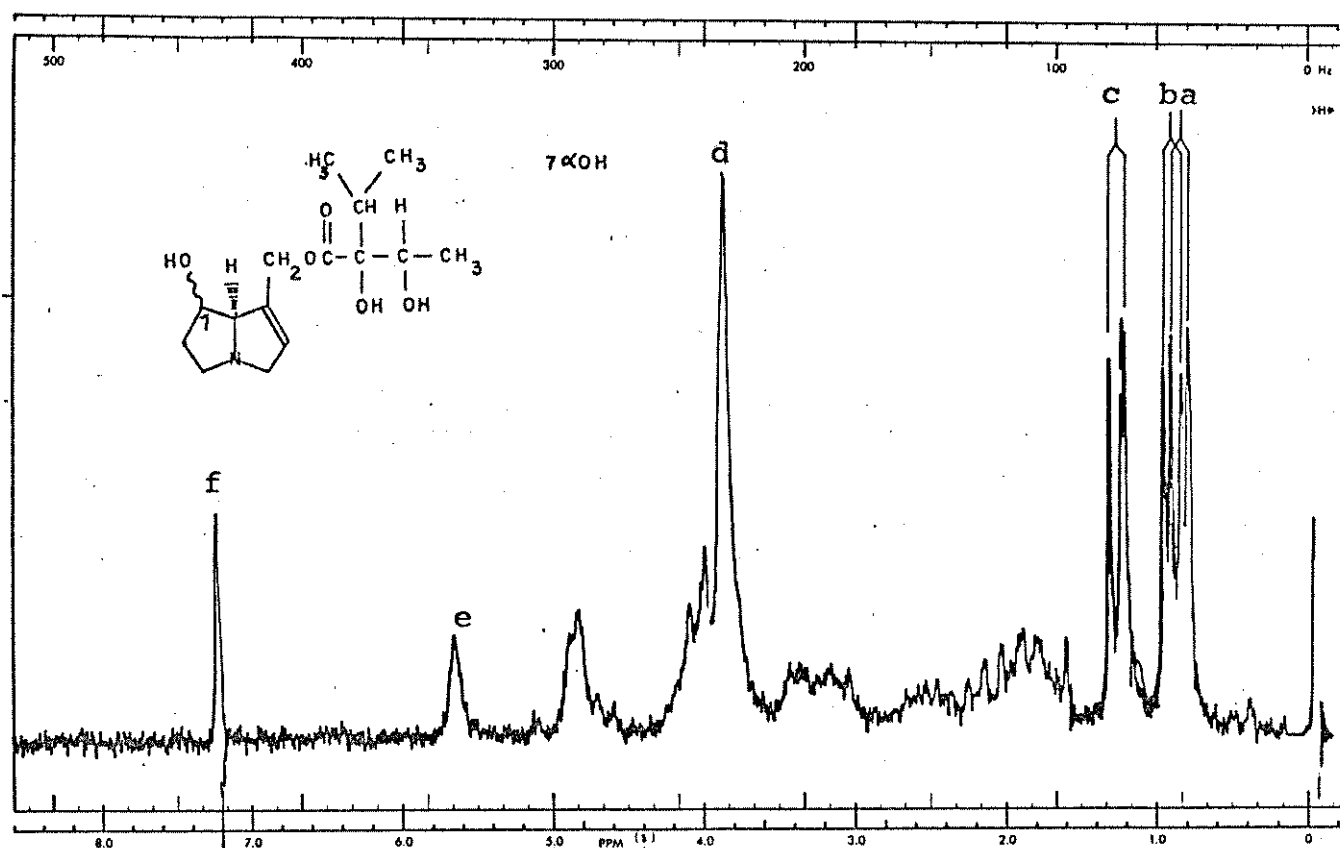


Figura 21. Ressonância Magnética Nuclear da fração alcaloidal de botões de *Eupatorium laevigatum*, característica de equinata. a: H11; b: H12; c: H14; d: H2O; e: H2; f: CHCl₃.

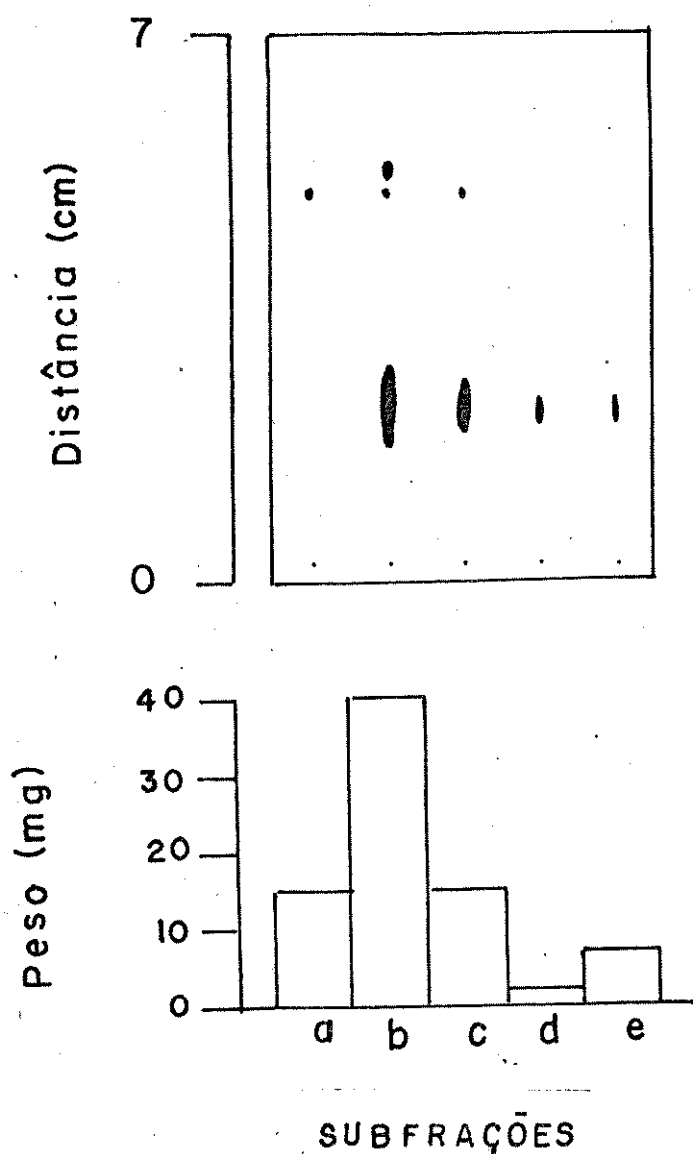


Figura 22. Cromatografia em coluna de partição, com o respectivo acompanhamento em cromatografia em camada fina, da fração alcaloidal total de inflorescências de *Ageratum conyzoides*.

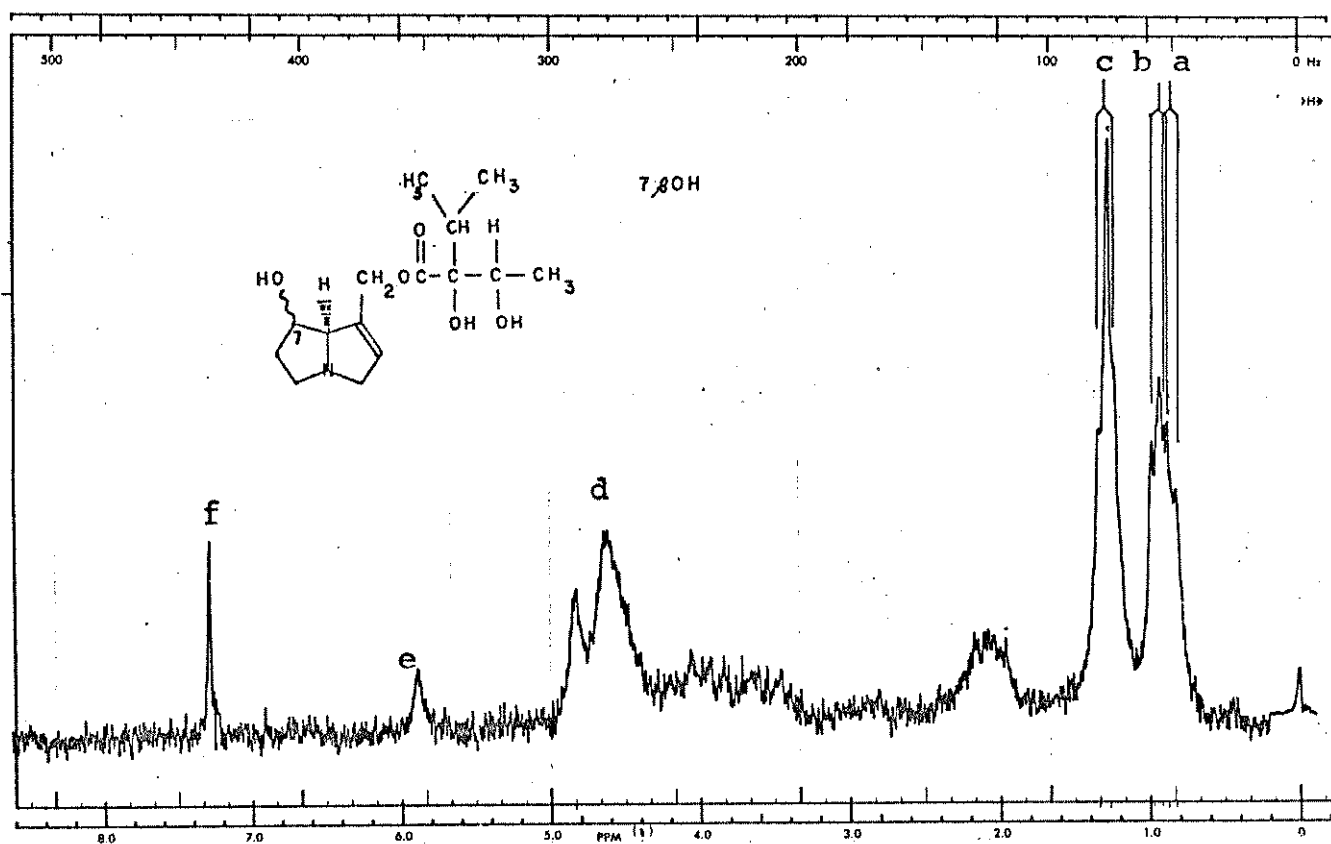


Figura 23. Ressonância Magnética Nuclear da fração alcaloidal total de inflorescências de *Ageratum conyzoides*, característica de licopsamina. a: H11; b: H12; c: H14; d: H20; e: H2; f: CHCl₃.

na subfração A. A fração polar de *Prestonia coalita* não apresentou qualquer mancha com o mesmo procedimento, em nenhuma das subfrações.

2.4. Variação de Alcalóides Pirrolizidínicos em Insetos e Plantas.

2.4.1. Em lepidópteros adultos.

2.4.1.1. Entre amostragens mensais.

Devido à distribuição desconhecida da quantidade mensal média de bases totais, utilizou-se a análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis (SIEGEL, 1976) para a comparação estatística entre as amostragens mensais, e o Teste de Comparações Múltiplas (CAMPOS, 1979) quando o teste de Kruskal-Wallis foi significativo.

A Tabela 12 mostra a quantidade média mensal de bases totais em machos e fêmeas de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva, durante o período de fevereiro de 1984 a julho de 1985. De setembro de 1984 a fevereiro de 1985 a baixa densidade populacional impediu a coleta de amostras. No ano de 1984, a quantidade média de bases totais em machos do mês de junho foi significativamente menor do que a do mês de abril ($0,05 < P < 0,10$). No ano de 1985, o mês de julho foi significativamente menor do que o mês de março ($P < 0,02$). Em fêmeas não ocorreram diferenças significativas entre meses nos dois anos de estudo.

Tabela 12. Quantidade média de bases totais ($\mu\text{g}/\text{indivíduo}$) em Aeria olens da Mata de Costa e Silva, no período de fevereiro de 1984 a julho de 1985.

Sexo		Machos					Fêmeas				
Meses		N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max	N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max
1984											
F		4	91 $\pm$ 84a,b	86,6	3	201	3	144 $\pm$ 52	36,1	103	203
M		8	156 $\pm$ 119a,b	60,1	17	361	6	90 $\pm$ 54	60,0	5	159
A		7	170 $\pm$ 102a	60,0	21	289	6	99 $\pm$ 36	36,4	42	159
M		10	119 $\pm$ 134a,b	112,6	7	355	8	133 $\pm$ 84	63,2	15	215
J		10	42 $\pm$ 51b	121,4	0	141	7	57 $\pm$ 35	61,4	10	103
Teste de Kruskal-Wallis											
		H = 9,33		GL = 4	0,05(P<0,10)		H = 6,88		GL = 4	ns	
1985											
M		9	179 $\pm$ 118a	65,9	8	373	8	102 $\pm$ 91	89,2	1	283
A		6	93 $\pm$ 110a,b	118,3	0	309	7	77 $\pm$ 76	93,7	0	190
M		10	90 $\pm$ 104a,b	115,6	3	366	10	72 $\pm$ 59	76,6	0	170
J		7	58 $\pm$ 39a,b	67,2	16	118	7	49 $\pm$ 31	64,6	17	83
J		4	9 $\pm$ 5b	55,6	5	15	1	78 ^c	-	-	-

Teste de Kruskal-Wallis H = 12,26 GL = 4 P < 0,02^a H = 1,41 GL = 3 ns

^a médias com letras diferentes são significativamente diferentes (P=0,09, Teste de Comparações Múltiplas, CAMPUS, 1979).

^b médias com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05, Teste de Comparações Múltiplas, CAMPUS, 1979)

^c excluído dos cálculos.

A Tabela 13 apresenta a quantidade média mensal de bases totais de machos e fêmeas de *Aeria olena* da Serra do Japi, durante o período de fevereiro a julho de 1985, não ocorrendo diferenças significativas entre os meses.

Os dados referentes à população de *Mechanitis polymnia* da Mata de Costa e Silva no mesmo período estão na Tabela 14, sendo que em machos, a quantidade média de bases totais do mês de julho foi significativamente menor do que o mês de março ($0,05 < P < 0,10$).

A Tabela 15 apresenta os dados referentes à população de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra, no período de janeiro de 1984 a julho de 1985. No ano de 1984, em machos, a quantidade média de bases totais do mês de outubro foi significativamente maior do que os meses de janeiro e fevereiro, e o mês de julho significativamente menor do que o mês de fevereiro ($P < 0,05$). No mesmo ano, em fêmeas, os meses de janeiro e fevereiro são significativamente menores do que os meses de março, outubro e novembro ($P < 0,05$). No ano de 1985, em machos, não ocorreram diferenças significativas entre meses, e em fêmeas o mês de janeiro foi significativamente maior ($P < 0,05$) do que o restante dos meses.

2.4.1.2. Entre sexos.

A variação da quantidade média de bases totais entre os sexos das três espécies em estudo agrupando-se as amostragens mensais está na Tabela 16. O teste Wilcoxon (SIEGEL, 1976) foi utilizado para a comparação entre os sexos. *Aeria olena* e

Tabela 13. Quantidade média de bases totais (µg/indivíduo) em Aeria olena da Serra do Japi no período de fevereiro a julho de 1985.

Sexo		Machos					Fêmeas				
		N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max	N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max
Meses											
F		10	194 ± 97	50.00	65	393	4	126 ± 35	27.80	100	177
M		12	156 ± 192	123.10	7	590	11	119 ± 122	102.50	9	363
A		11	139 ± 152	109.30	0	463	11	162 ± 86	53.10	53	315
M		10	250 ± 161	64.40	18	561	10	71 ± 39	54.90	7	134
J		10	216 ± 264	122.20	3	733	6	121 ± 60	49.60	57	218
J		10	92 ± 72	78.30	15	238	2	82 ± 64	78.00	56	127
Teste de Kruskal-Wallis		H = 8,17 GL = 5 NS					H = 7,67 GL = 5 NS				

Tabela 14. Quantidade média de bases totais ($\mu\text{g}/\text{indivíduo}$) em *Mechanitis polymnia* da Mata de Costa e Silva, no período de fevereiro a julho de 1984.

Sexo	Fêmeas											
	Meses	N	$\bar{X} \pm S$	Machos	CV	min	max	N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max
F		10	358 $\pm$ 140a,b		39,11	99	534	6	1114 $\pm$ 476	42,73	362	1734
M		10	1483 $\pm$ 665a		44,84	21	2220	5	497 $\pm$ 558	112,27	15	1163
A		4	1034 $\pm$ 1343a,b		122,88	80	2978	10	817 $\pm$ 798	97,67	11	1934
M		10	651 $\pm$ 817a,b		125,50	14	1931	10	878 $\pm$ 835	95,10	2	1833
J		11	669 $\pm$ 802a,b		119,88	21	1792	10	530 $\pm$ 330	35,50	97	1231
J		11	307 $\pm$ 223b		72,40	44	672	11				

Teste de Kruskal-Wallis
 $H = 10,58$ $GL = 5$ $0,05 < P < 0,10$ $H = 5,30$ $GL = 4$ NS

^a médias com letras diferentes são significativamente diferentes ($P=0,05$, Teste de Comparações Múltiplas, CAMPOS, 1979).

Tabela 15. Quantidade média de bases totais ($\mu\text{g}/\text{indivíduo}$) em *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra, no período de janeiro de 1984 a julho de 1985.

Sexo		Machos					Fêmeas				
		M	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max	N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max
Meses	J	14	107 $\pm$ 74a,c	69,16	4	230	13	81 $\pm$ 89a	109,88	32	353
	F	15	75 $\pm$ 70a	93,33	14	248	14	77 $\pm$ 58a	75,32	15	209
	M	10	125 $\pm$ 77a,b	61,60	21	601	10	229 $\pm$ 158a,b	69,00	77	588
	A				dados não coletados						
	M	16	205 $\pm$ 155a,b	75,61	39	495	15	277 $\pm$ 222b	80,14	17	565
	J	9	231 $\pm$ 125b,c	47,89	103	508	4	307 $\pm$ 48a,b	15,64	279	377
	J				dados não coletados						
	A	11	164 $\pm$ 166a,b	101,22	12	493	10	264 $\pm$ 135a,b	51,14	73	440
	S	10	361 $\pm$ 199b	55,12	34	715	10	278 $\pm$ 151b	54,32	77	524
	O	10	234 $\pm$ 221a,b	94,44	34	706	10	357 $\pm$ 121b	33,89	143	536
D	N	10	191 $\pm$ 173a,b	90,58	17	525	10	381 $\pm$ 332a,b	87,14	26	790

Teste de Kruskal-Wallis H = 26,12 GL = 8 P(0,01) ^a H = 38,79 GL = 8 P(0,01) ^a

J	10	219 $\pm$ 200	91,32	15	618	10	232 $\pm$ 156a	67,24	61	607
F	11	95 $\pm$ 104	109,47	15	345	10	41 $\pm$ 33b	80,49	15	104
M				dados não coletados						
A				dados não coletados						
M	10	64 $\pm$ 72	112,50	19	240	11	63 $\pm$ 54b	85,71	21	197
J	10	55 $\pm$ 50	54,55	5	111	12	49 $\pm$ 41b	83,67	8	120
J	8	91 $\pm$ 92	101,10	9	220	8	102 $\pm$ 92a,b	90,20	30	301

Teste de Kruskal-Wallis H = 40,84 GL = 4 ns H = 79,38 GL = 4 P(0,01) ^a

^a médias com letras diferentes são significativamente diferentes (P(0,05), Teste de Comparações Múltiplas, CAMPOS, 1979).

Tabela 16. Variação da quantidade de bases totais entre sexos, em Ithomiinae.

Sexo	Machos						Fêmeas					
	N	$\bar{X} \pm S$	CV	MIN	MAX	N	$\bar{X} \pm S$	CV	MIN	MAX	P ^a	P ^b
<i>Aeria olena</i> /CS	75	111 $\pm$ 107	96,21	0	373	63	88 $\pm$ 65	74,00	0	283	ns	<0,01
<i>Aeria olena</i> /JP	63	173 $\pm$ 170	98,00	0	733	44	118 $\pm$ 84	71,52	7	363	ns	<0,01
<i>Mechanitis polyantha</i>	56	711 $\pm$ 763	107,31	14	2978	42	806 $\pm$ 596	73,95	2	1934	ns	<0,01
<i>Tithorea harmonia</i>	146	230 $\pm$ 180	78,40	12	715	139	289 $\pm$ 191	76,14	17	965	<0,01	ns

a Teste de Wilcoxon para comparação da quantidade de bases totais entre os sexos.

b Teste F para comparação entre a variância de bases totais entre os sexos.

Mechanitis polymnia não apresentaram diferenças significativas na quantidade média de bases totais entre sexos, entretanto a variância dos machos é significativamente maior do que a das fêmeas nestas espécies ($P < 0,01$ e $P < 0,05$ respectivamente). Fêmeas de *Tithorea harmonia* têm uma quantidade média de bases totais significativamente maior do que machos ($P < 0,01$), entretanto a variância não é significativamente diferente entre os sexos.

2.4.1.3. Entre populações e espécies.

Agrupando-se as amostragens mensais, verificou-se que a quantidade de bases totais entre populações de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva e da Serra do Japi, segundo o Teste de Wilcoxon, não apresentavam diferenças significativas.

Agrupando-se as amostragens mensais, verificou-se a percentagem média de bases totais (em relação ao peso seco) comparando as três espécies em estudo (Tab. 17), utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis. Ambos os sexos de *Tithorea harmonia* apresentaram uma percentagem média de bases totais significativamente menor ($P < 0,01$) do que os sexos do restante das espécies.

O mesmo procedimento acima foi utilizado para comparar a percentagem média de N-óxidos (em relação as bases totais) entre as três espécies. Ambos os sexos de *Tithorea harmonia* apresentavam uma percentagem média de N-óxidos significativamente menor do que o restante das espécies ($P < 0,01$). (Tab. 18).

Tabela 17. Percentagem média de bases totais (em relação ao peso seco) em populações e espécies de Ithomiinae.

Espécie	Sexo	Local	N	Percentagem de bases totais				
				$\bar{X} \pm S$	CV	MIN	MAX	
Aeria olena	M	CS	75	1,31 $\pm$ 1,47a	112,20	0,00	7,70	
	F	CS	63	1,15 $\pm$ 0,96a	83,50	0,00	4,72	
	M	JP	63	2,23 $\pm$ 2,25a	100,00	0,00	9,25	
	F	JP	44	1,42 $\pm$ 1,08a	76,10	0,08	6,04	
Mechanitis polymnia	M	CS	56	2,33 $\pm$ 2,54a	109,00	0,04	9,55	
	F	CS	42	2,37 $\pm$ 1,77a	74,70	0,03	7,79	
Tithorea harmonia	M	MP	146	0,33 $\pm$ 0,35b	106,10	0,01	1,30	
	F	MP	139	0,38 $\pm$ 0,39b	102,60	0,02	1,89	
Teste de Kruskal-Wallis				H = 182,80	GL = 7	P<0,01 ^a		

^a médias com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,01; Teste de Comparações Múltiplas; CAMPOS, 1979).

Tabela 18. Porcentagem de N-óxidos em Ithomiinae.

Sexo		Machos				Fêmeas			
Espécie	N	$\bar{X} \pm S$	CV	MIN	MAX	N	$\bar{X} \pm S$	CV	P.X
Aeria olena/CS	71	57 $\pm$ 16a	28	15	96	60	59 $\pm$ 15a	25	98
Aeria olena/JP	62	62 $\pm$ 12a	19	39	98	44	60 $\pm$ 13a	22	95
Mechanitis polyantha	56	60 $\pm$ 10a	16	37	89	42	62 $\pm$ 13a	21	97
Tithorea harmonia	145	51 $\pm$ 13b	25	22	99	139	53 $\pm$ 15b	28	99
Teste de Kruskal-Wallis		H = 45,37	GL = 3	P<0,01 ^a	H = 32,28	GL = 3	P<0,01 ^a		

^a médias com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,01; Teste de Comparações Múltiplas: CANPOS, 1979).

2.4.1.4. Entre classes etárias.

A variação na quantidade média de bases totais entre classes etárias nas três espécies em estudo foi analisada agrupando-se todas as amostragens mensais entre sexos, utilizando o teste de Kruskal-Wallis. Em *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva e Serra do Japi, machos e fêmeas recém emergidos apresentaram uma quantidade média de bases totais significativamente menor do que as outras classes etárias ($P < 0,01$, Tabs. 19 e 20), além disso fêmeas velhas da Mata de Costa e Silva tinham uma quantidade média de bases totais significativamente maior do que o restante das classes etárias ($P < 0,01$, Tab. 19). Não ocorreram diferenças significativas entre classes etárias em *Mechanitis polymnia* (Tab. 21). Indivíduos recém emergidos desta espécie, os quais não apresentam PAs, não foram incluídos para análise estatística. Em *Tithorea harmonia* somente fêmeas recém emergidas apresentavam quantidades médias de bases totais significativamente menores do que fêmeas novas ($P < 0,05$, Tab. 22).

2.4.1.5. Entre partes do corpo.

As percentagens médias de bases totais em diferentes partes do corpo (em relação a quantidade total do corpo) (Tab. 23) foram normalizadas pelo método arcoseno (SOKAL & ROHLF, 1979) (Tab. 24) e analisadas pelo processo GLM (SAS, 1985). Agrupando-se os sexos e espécies (os quais não apresentam diferenças significativas), o Teste de Comparações Múltiplas de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch (SAS, 1985) mostrou que cabeça, estruturas sexuais e asas têm uma percentagem de bases totais

Tabela 19. Quantidade média de bases totais (µg) em classes etárias de Aeria olens da Mata de Costa e Silva.

Idade relativa	Sexo		Machos				Fêmeas			
	N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max	N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max
recém emergido ^a	25	3 ± 6a	200	0	34	12	8 ± 16a	200	0	51
novo	29	119 ± 115b	97	0	36	29	80 ± 64b	80	0	283
mais ou menos novo	33	98 ± 101b	103	3	373	20	80 ± 64b	80	1	203
intermediário	13	99 ± 107b	108	0	309	12	157 ± 242b	154	5	158
velhos	-	-	-	-	-	2	212 ± 5c	2	208	215
Teste de Kruskal-Wallis			H = 39,51	GL = 3	P<0,01 ^b	H = 27,93			GL = 4	P<0,01 ^b

^a valor incluindo-se os indivíduos que não apresentam PAS - os valores excluindo-se estes indivíduos são: Machos = 18 ± 10 e Fêmeas = 27 ± 17.

^b médias com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,01; Teste de Comparações Múltiplas: CAMPOS, 1979).

Tabela 20. Quantidade média de bases totais (µg) em classes etárias de Aeria olona de Serra do Japi.

Idade relativa	Sexo		Machos					Fêmeas				
	N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max	N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max		
recém emergido ^a	25	3 ± 6a	200	0	34	12	8 ± 16a	200	0	51		
novo	14	141 ± 155b	110	0	463	12	127 ± 117b	92	7	315		
mais ou menos novo	17	204 ± 204b	100	19	733	16	134 ± 84b	63	31	363		
intermediário	23	196 ± 170b	87	3	561	10	93 ± 60b	64	33	218		
velhos	3	161 ± 190b	118	39	379	4	97 ± 34b	35	54	135		
Teste de Kruskal-Wallis												
		H = 49,69	GL = 4	P(0,01) ^b			H = 26,68	GL = 4	P(0,01) ^b			

^a valor incluindo-se os indivíduos que não apresentam PAs - os valores excluindo-se estes indivíduos são: Machos = 18 ± 10 e Fêmeas = 27 ± 17.

^b médias com letras diferentes são significativamente diferentes (P(0,01): Teste de Comparações Múltiplas: CAMPOS, 1979).

Tabela 21. Quantidade média de bases totais (µg) em classes etárias de Mechanitis polymnia da Mata de Costa e Silva.

Idade relativa	Sexo		Machos					Fêmeas				
	N	$\bar{X} \pm s$	CV	min	max	N	$\bar{X} \pm s$	CV	min	max		
recém emergido	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0		
novo	30	752 ± 872	116	0	2978	29	887 ± 564	64	11	1833		
mais ou menos novo	21	765 ± 650	85	32	1848	12	649 ± 672	104	2	1934		
intermediário	5	232 ± 249	107	43	661	-	-	-	-	-		
velhos	1	17	-	-	-	1	255	-	-	-		

Testes Estatísticos H = 3,98 GL = 2 ns^a Z = 1,51 ns^b

^a Teste de Kruskall-Wallis, agrupando-se intermediários com velhos, e não considerando indivíduos recém emergidos.
^b Teste de Wilcoxon, agrupando-se mais ou menos novos com velhos, e não considerando indivíduos recém emergidos.

Tabela 22. Quantidade média de bases totais (µg) em classes etárias de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra.

Sexo	Idade relativa	Machos					Fêmeas				
		N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max	N	$\bar{X} \pm S$	CV	min	max
	recém emergido	10	75 $\pm$ 127	170	6	413	9	73 $\pm$ 117a	160	19	379
	novo	54	185 $\pm$ 189	102	4	706	41	224 $\pm$ 200b	89	15	965
	mais ou menos novo	31	170 $\pm$ 140	82	15	493	40	152 $\pm$ 161a,b	106	13	668
	intermediário	37	135 $\pm$ 127	94	17	618	36	213 $\pm$ 196a,b	92	19	793
	velhos	23	142 $\pm$ 174	122	5	715	19	149 $\pm$ 160a,b	107	8	532
Teste de Kruskal-Wallis		H = 6,77		GL = 4		ns		H = 12,98		GL = 4	
										P<0,05 ^a	

^a médias com letras diferentes são significativamente diferentes (P<0,05; Teste de Comparações Múltiplas; CAMPOS, 1979).

significativamente menor que o abdome (sem estruturas sexuais) e este por sua vez tem uma percentagem significativamente menor que o tórax ($P < 0,05$, Tab. 24). A interação entre sexo e partes do corpo observada na análise de variância ($P < 0,01$, Tab. 24) foi devido aos espermatóforos dos machos apresentarem uma maior percentagem de bases totais do que as bursas das fêmeas.

As partes do corpo apresentam diferentes pesos e uma alta quantidade de PAs poderia significar tão somente que esta estrutura apresentava um peso maior, portanto calculou-se a concentração relativa em diferentes partes do corpo (Tab. 25). A análise estatística (conforme descrita acima) destes dados, mostrou que as estruturas sexuais têm maior concentração relativa do que o resto das estruturas ($P < 0,05$, Tab. 25). Entretanto, fêmeas de *Tithorea harmonia* apresentam uma concentração relativa de PAs em suas bursas menor que cabeça e tórax. Fêmeas de *Aeria olena* apresentam uma concentração relativa da bursa quinze vezes maior do que as outras estruturas; exceto este caso, espermatóforos de machos apresentam uma concentração relativa maior que fêmeas. Entretanto, devido ao alto valor da concentração relativa na bursa de *Aeria olena*, a interação entre sexo e partes do corpo não foi significativa.

Utilizando-se o mesmo procedimento estatístico acima, verificou-se que adultos recém emergidos e adultos capturados no campo (em dois períodos diferentes: abril e junho) de *Tithorea harmonia* não apresentaram interações significativas na distribuição de PAs em partes do corpo (Tab. 27) e na concentração relativa (Tab. 28). As três amostragens apresentaram uma percentagem de bases totais no abdome e tórax

Tabela 23. Percentagem média de bases totais (ug) em partes do corpo de Ithomiinae, capturados no mês de junho. ^a

Espécie Partes do corpo	A. olena		M. polyantha		M. polyantha		T. harmonia		T. harmonia	
	macho(10)	fêmea(2)	macho(9)	fêmea(9)	macho(10)	fêmea(10)	macho(8)	fêmea(8)	macho(8)	fêmea(8)
cabeça	13,51± 6,20	8,36± 0,66	14,03± 6,59	7,07± 2,98	10,40± 4,71	7,30± 3,01				
tórax	28,14± 7,78	29,68± 8,69	35,77± 10,42	36,00± 5,98	34,35± 11,81	45,64± 15,49				
asa anterior	10,47± 2,87	14,60± 1,19	11,27± 6,40	10,42± 2,98	9,54± 3,96	8,63± 4,54				
asa posterior	7,21± 3,54	10,56± 6,91	7,20± 4,20	7,37± 1,94	8,12± 5,76	8,21± 3,85				
abdome	25,64± 11,66	25,00± 2,08	18,16± 9,91	31,70± 5,67	20,88± 10,41	20,62± 8,07				
estr. sexuais	15,75± 10,18	11,33± 2,68	12,71± 10,76	6,33± 3,03	15,66± 10,54	3,95± 3,74				

^a Os números entre parênteses representam o número de indivíduos analisados.

Tabela 24. Percentagem média de bases totais (µg), normalizada pela transformação arcosseno, em partes do corpo de Ithomiinae capturados no mês de junho.

Especie ^a	A. olena		M. polyantha		T. harmonia	
	macho(10)	fêmea(2)	macho(9)	fêmea(10)	macho(8)	fêmea(8)
Partes do corpo						
cabeça	21,17± 4,93	16,80± 0,69	21,46± 5,55	15,00± 3,92	18,38± 4,65	15,42± 3,25
tórax	31,86± 4,93	32,89± 5,48	36,59± 6,19	36,80± 3,66	34,76± 8,51	42,35± 9,18
asa anterior	19,72± 2,76	22,46± 0,97	18,94± 5,88	18,64± 3,02	17,63± 4,13	16,12± 4,67
asa posterior	14,62± 5,79	18,46± 6,63	14,87± 5,08	15,64± 2,13	16,57± 7,48	16,30± 3,90
abdome	30,17± 7,28	29,99± 1,38	24,31± 8,13	34,19± 3,50	25,29± 11,06	26,68± 5,56
estr. sexuais	21,32± 10,66	19,62± 2,43	16,52± 5,06	14,15± 3,79	21,24± 11,02	10,12± 5,89

^a os números entre parênteses representam o número de indivíduos analisados.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO LINEAR GERAL (GLM)

FONTE	GL		SQ TIPO I		F		P
Especie	2		69,95		0,94		NS
Sexo	1		4,02		0,11		NS
Partes	5		15,655,31		84,21		<0,01
Especie x Sexo	2		32,28		0,43		NS
Especie x Partes	10		845,36		2,27		<0,05
Sexo x Partes	5		951,28		5,12		<0,01
Especie x Sexo x Partes	10		568,24		1,53		NS

Tabela 24. continuação.

Teste de Comparações Múltiplas de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch para verificar diferenças significativas entre partes do corpo.

CB	TR	AA	AP	AB	SX	
	0,05	NS	NS	0,05	NS	CB
		0,05	0,05	0,05	0,05	TR
			NS	0,05	NS	AA
				0,05	NS	AP
					0,05	AB
						SX

Tabela 25. Concentração relativa de PAS em partes do corpo de Ithomiinae, capturados no mês de junho.

Especie Partes do corpo	T. harmonia ^a					
	A. olena macho(10)	A. olena fêmea(2)	M. polymnia macho(9)	M. polymnia fêmea(10)	T. harmonia ^b macho(8)	T. harmonia ^b fêmea(8)
cabeca	1,38± 1,34	1,22± 0,08	1,73± 0,75	1,13± 0,26	1,66± 0,76	1,43± 0,59
tórax	0,87± 0,38	0,87± 1,34	1,05± 0,36	1,09± 0,27	0,97± 0,33	1,50± 0,51
asa anterior	0,86± 0,40	1,06± 0,07	0,93± 0,57	0,72± 0,18	0,79± 0,33	0,63± 0,35
asa posterior	0,65± 0,31	0,96± 0,07	0,70± 0,36	0,84± 0,31	0,71± 0,50	0,77± 0,36
abdome	1,69± 0,75	0,74± 0,04	0,64± 0,42	1,00± 0,28	0,76± 0,38	0,60± 0,23
estr.sexuais	2,41± 1,83	16,33± 1,54 ^b	1,73± 1,63 ^b	1,16± 0,61 ^b	2,12± 1,42	0,61± 0,57

^a os números entre parênteses representam o número de indivíduos analisados.

^b a percentagem de peso seco foi estimada.

ANALISE DE VARIANCIA DO MODELO LINEAR GERAL (GLM)

FONTE	GL		SQ TIPO I		F	
Especie					10,26	<0,01
Sexo	2		10,34		0,00	NS
Partes	1		0,00		24,22	<0,01
Especie x Sexo	5		56,52		18,92	<0,01
Especie x Partes	2		16,04		7,94	<0,01
Sexo x Partes	10		40,00		1,21	NS
Especie x Sexo x Partes	5		3,05		18,97	<0,01
	10		95,57			

Tabela 25. continuação.

Teste de Comparações Múltiplas de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch para verificar diferenças significativas entre partes do corpo.

CB	TR	AA	AP	AB	SX	
	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	CB
		NS	NS	NS	0,05	TR
			NS	NS	0,05	AA
				NS	0,05	AP
					0,05	AB
						SX

Tabela 26. Percentagem média de bases totais (μg) em partes do corpo de *Iithorea harmonia*.^a

	Capturadas no campo					
	Recém emergida da pupa		abril		junho	
	macho(3)	fêmea(3)	macho(9)	fêmea(9)	macho(8)	fêmea(8)
cabeça	10,16 $\pm$ 4,31	8,65 $\pm$ 5,88	8,11 $\pm$ 3,69	7,72 $\pm$ 4,32	10,40 $\pm$ 4,71	7,30 $\pm$ 3,01
tórax	39,19 $\pm$ 18,38	28,73 $\pm$ 7,18	42,79 $\pm$ 17,23	37,39 $\pm$ 15,74	34,35 $\pm$ 11,81	45,64 $\pm$ 15,49
asa anterior	15,29 $\pm$ 6,34	10,46 $\pm$ 2,16	6,14 $\pm$ 2,88	6,05 $\pm$ 4,21	9,54 $\pm$ 3,96	8,63 $\pm$ 4,54
asa posterior	13,80 $\pm$ 6,89	6,40 $\pm$ 3,40	5,16 $\pm$ 3,55	5,17 $\pm$ 4,21	8,12 $\pm$ 5,76	8,21 $\pm$ 3,85
abdome	21,53 $\pm$ 6,88	45,82 $\pm$ 7,61	37,19 $\pm$ 16,02	43,34 $\pm$ 24,56	36,54 $\pm$ 16,95	24,57 $\pm$ 8,32

^a Os números entre parênteses representam o número de indivíduos analisados.

Tabela 27. Percentagem média de bases totais (µg), normalizada, em partes do corpo de *Tithorea harmonia*.^a

	Recém emergida da pupa		Capturadas no campo			
			abril		junho	
	macho(3)	fêmea(3)	macho(9)	fêmea(9)	macho(8)	fêmea(8)
cabeça	18,34± 4,11	19,10± 3,54	15,54± 6,22	15,47± 5,10	18,38± 4,65	15,42± 3,25
tórax	38,44± 11,04	36,19± 5,59	40,41± 10,41	37,38± 9,58	34,76± 8,51	42,35± 9,18
asa anterior	22,76± 4,92	18,51± 2,29	14,00± 3,43	13,27± 5,69	17,63± 4,13	16,12± 4,67
asa posterior	21,45± 5,54	19,96± 3,21	11,10± 4,86	11,70± 6,46	16,57± 7,48	16,30± 3,90
abdome	27,47± 4,71	37,72± 5,74	37,78± 11,88	39,90± 16,86	35,16± 15,02	29,46± 5,45

^a Os números entre parênteses representam o número de indivíduos analisados.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO LINEAR GERAL (GLM)

FONTE	GL		SQ TIPO I		F		P
Mes	2		66,52		0,46		NS
Sexo	1		11,28		0,16		NS
Partes	4		20,940,92		72,44		<0,01
Mes x Sexo	2		0,64		0,00		NS
Mes x Partes	8		713,30		1,23		NS
Sexo x Partes	4		71,68		0,25		NS
Mes x Sexo x Partes	8		820,35		1,42		NS

Tabela 27. continuação.

Teste de Comparacoes Múltiplas de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch para
verificar diferenças significativas entre partes do corpo.

CB	TR	AA	AP	AB	
	0,05	NS	NS	0,05	CB
		0,05	0,05	NS	TR
			NS	0,05	AA
				0,05	AP
					AB

Tabela 28. Concentração relativa de PAs em partes do corpo de *Lithorea harmonia*. 3,6

	Capturados no campo					
	abril			junho		
	Recém emergido da pupa	macho(9)		fêmea(9)	macho(8)	fêmea(8)
	macho(3)	fêmea(3)				
cabeça	1,89± 0,89	1,81± 0,29	1,36± 0,78	1,82± 0,75	1,66± 0,76	1,43± 0,59
tórax	1,20± 0,50	1,42± 0,23	1,20± 0,48	1,19± 0,36	0,97± 0,33	1,50± 0,51
asa anterior	1,01± 0,31	0,82± 0,28	0,51± 0,21	0,39± 0,27	0,79± 0,33	0,63± 0,35
asa posterior	1,12± 0,67	0,72± 0,53	0,39± 0,23	0,49± 0,38	0,71± 0,50	0,77± 0,36
abdome	0,57± 0,10	0,79± 0,19	1,22± 0,73	0,98± 0,59	1,05± 0,49	0,60± 0,20

a os números entre parênteses representam o número de indivíduos analisados.

b em adultos recém emergidos da pupa, um espermatóforo analisado apresentou CR = 1,23; em dois indivíduos capturados no campo em abril, os espermatóforos apresentaram CR = 2,89 e 2,09.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO LINEAR GERAL (GLM)

FONTE	GL		SQ TIPO I		F	P
Mês	2		1,06	2,16	NS	NS
Sexo	1		0,15	0,60	NS	NS
Partes	4		24,11	24,61	0,01	NS
Mês x Sexo	2		0,01	0,03	NS	NS
Sexo x Partes	4		1,61	1,64	NS	NS
Mês x Partes	8		3,49	1,78	NS	NS
Mês x Sexo x Partes	8		1,65	0,84	NS	NS

Tabela 28. continuação.

Teste de Comparações Múltiplas de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch para verificar diferenças significativas entre partes do corpo.

CB	TR	AA	AP	AB	
	0,05	0,05	0,05	0,05	CB
		0,05	0,05	NS	TR
			NS	0,05	AA
				0,05	AP
					AB

significativamente maior do que cabeça e asas ($P < 0,01$).

2.4.2. Em estágios imaturos e adultos recém emergidos.

A tabela 29 mostra a presença ou não de PAs em diferentes estágios do ciclo de vida das espécies em estudo. Nas três espécies ovos apresentavam PAs. Entretanto somente larvas e pupas de *Tithorea harmonia* tinham o alcalóide. Indivíduos recém emergidos de *Mechanitis polymnia* não apresentavam PAs; o mesmo estágio em *Aeria olena* apresentava PAs ocasionalmente, enquanto que em *Tithorea harmonia* indivíduos recém emergidos sempre tinham o alcalóide.

A distribuição de PAs em adultos recém emergidos de *Tithorea harmonia* e *Aeria olena* se encontram na Figura 24. Em *Tithorea harmonia* a maioria dos indivíduos (79,0%) tinham até 50 μg de PAs, 10,5% tinham entre 50 e 100 μg e 10,5% entre 350 e 500 μg . Em *Aeria olena* a maioria dos indivíduos recém emergidos (68,3%) não apresentavam PAs, 28,3% tinham até 50 μg e o restante (2,4%) tinham de 50 a 100 μg . Duas larvas de quinto estágio de *Tithorea harmonia* coletadas no Peru se alimentando de uma espécie não identificada de *Echitoideae* apresentavam PAs.

As Figuras 25 e 26 mostram a quantidade de bases totais em larvas de quinto estágio, pupas e adultos recém emergidos de *Tithorea harmonia* e em adultos recém emergidos de *Aeria olena* em relação a época em que foram coletados ou emergiram da pupa. Em *Tithorea harmonia* verificou-se no mês de setembro que todos os estágios analisados apresentavam uma quantidade de PAs maior do que os estágios dos meses de dezembro a abril. Em *Aeria olena*

Tabela 29. Presença de alcalóides 1,2-desidropirrolizidínicos em diferentes fases do ciclo de vida de três espécies de Ithomiinae^a.

Estágio	Espécie		
	Aeria olena	Tithorea harmonia	Mechanitis polymnia
ovo	+ (5)	+ (5)	+ (20)
larva	- (7)	+ (12)	- (5)
pupa	- (6)	+ (5)	- (4)
adulto recém emergido	-/+ (41)	+ (19)	- (10)
adulto capturado no campo	+ (>100)	+ (>100)	+ (>100)
planta hospedeira	-	+	-

(+) estágios com alcalóide; (-) estágios sem alcalóide.

^a o número entre parênteses representa o número de indivíduos.

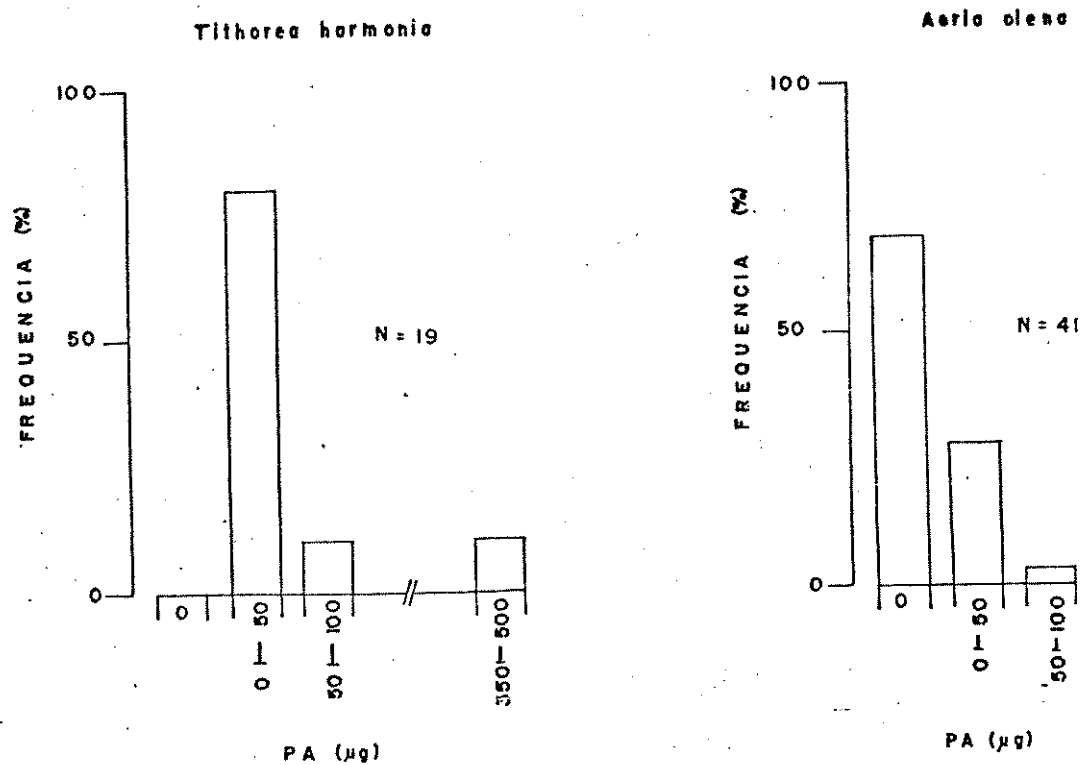


Figura 24. Distribuição de PAs em adultos recém emergidos de *Tithorea harmonia* e *Aeria olena*.

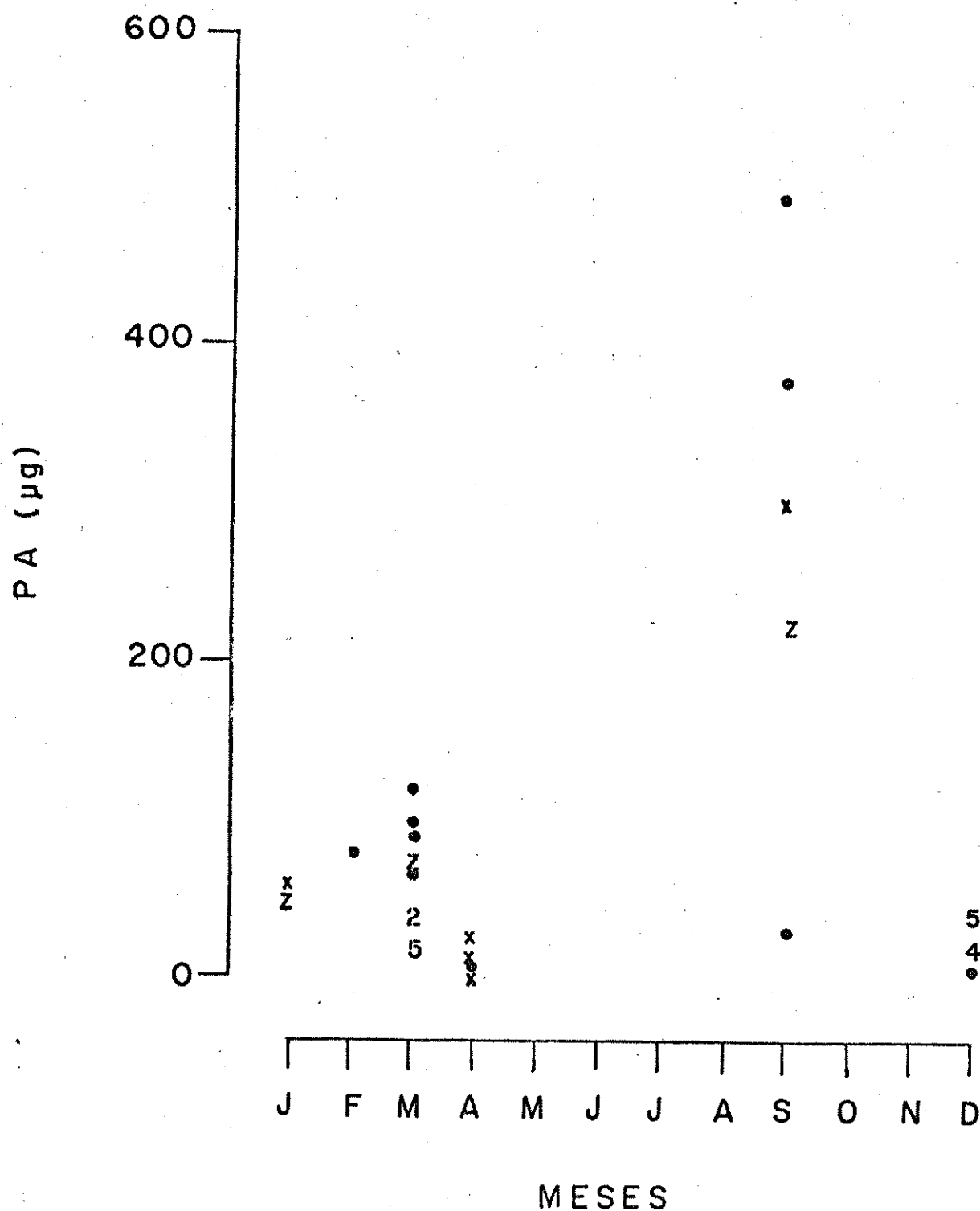
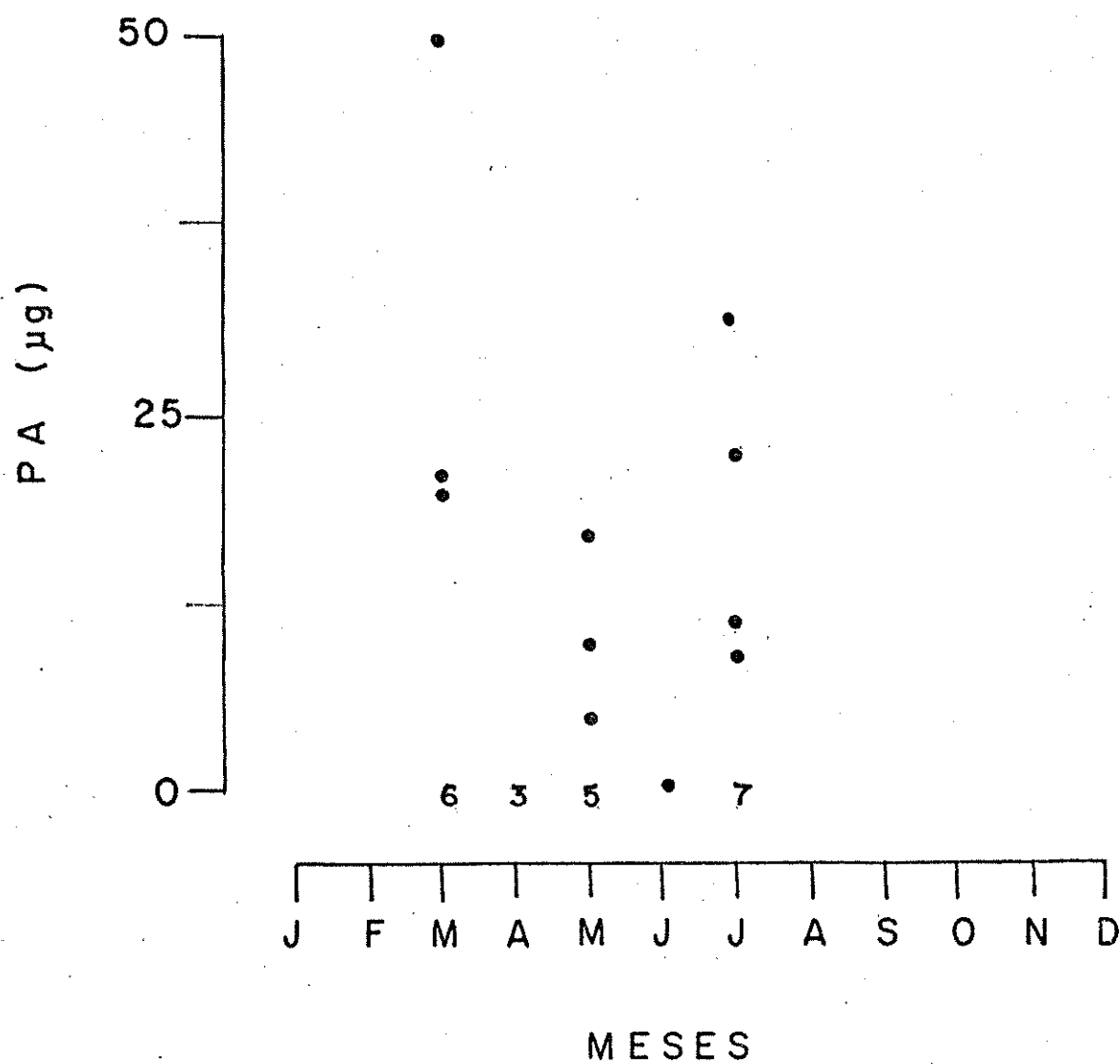


Figura 25. Quantidade de bases totais de PAs em estágios de vida de *Tithorea harmonia*, em relação à época em que foram coletados. ● : adultos recém emergidos (o número representa o número de indivíduos analisados); x : larvas de 5º estágio; z : pupas.



nenhum padrão foi observado.

2.4.3. Em plantas hospedeiras.

Folhas de plântulas de *Prestonia acutifolia* apresentam PAs, enquanto que em folhas de adultos o alcalóide não é detectado pelo método colorimétrico (Tab. 30). Na análise por cromatografia em camada fina tanto em folhas de plântulas como em folhas de adultos o alcalóide é detectado (Tab. 11).

3. BIOENSAIOS PARA ALCALÓIDES PIIRROLIZIDINICOS COM A ARANHA *Nephila clavipes*.

A tabela 31 mostra a resposta de *Nephila clavipes* em relação a adultos recém emergidos das três espécies em estudo. O único indivíduo de *Aeria olena* predado (uma fêmea) foi sugado durante aproximadamente dez minutos e após esse período foi jogado fora da teia. Todos os indivíduos de *Tithorea harmonia* e *Mechanitis polymnia* foram predados. Indivíduos capturados no campo foram na sua totalidade liberados pela aranha (n=10). Entretanto, um macho de *Tithorea harmonia* foi seriamente lesado pela aranha antes de sua liberação.

A tabela 32 mostra a resposta de *Nephila clavipes* em relação a borboletas palatáveis tratadas topicamente com frações extraídas de plantas e insetos.

Tabela 30. Alcalóides 1,2-desidropirrolizidínicos em folhas de *Prestonia acutifolia*.

Estágio da planta	PAs/folha (ug)		%PAs/folha		%N-óxido/folha	
	N	$\bar{X} \pm S$	$\bar{X} \pm S$		$\bar{X} \pm S$	
Plântula	6	27 ± 33	$0,13 \pm 0,15$		-	
	3	40 ± 44^a	$0,26 \pm 0,07^a$		$54,57 \pm 3,02^a$	
Adulto	10	0 ± 0	0 ± 0		-	

^a excluindo três indivíduos sem PAs.

Tabela 31. Bioensaios com *Nephila clavipes* em adultos recém emergidos de *Aeria olena*, *Tithorea harmonia* e *Mechanitis polymnia*.

Aeria olena

	Machos	Fêmeas	Total
PREDADOS	0	1	1
LIBERADOS	5	8	13
Total	5	9	14

Tithorea harmonia

	Machos	Fêmeas	Total
PREDADOS	3	3	6
LIBERADOS	0	0	0
Total	3	3	6

Mechanitis polymnia

	Machos	Fêmeas	Total
PREDADOS	5	5	10
LIBERADOS	0	0	0
Total	5	5	10

Tabela. 32. Reação de *Nephila clavipes* em relação a borboletas palatáveis tratadas topicamente com frações extraídas de plantas e insetos.

ESPÉCIE DE PLANTA OU INSETO FRACIONADO	FR ^a	BORBOLETA PALATÁVEL b	Mg DE FRACAO/ INDIVÍDUO c	RESPOSTA DA ARANHA	
				PREDÁ	LIBERA
PLANTAS					
Prestonia acutifolia	AT	Bh*	200	2	4
	PL	Bh*	1000	4	3
Prestonia coalita	NT	Bh*	5000	10	0
	AL	Bh*	5000	2	0
	PL	Bh*	5000	9	1
Heliotropium indicum	AL	Bh*	3500	0	3
	AT	Bh*	4000	0	3
	PL	Bh*	10000	2	0
Heliotropium transalpinum	AL	Bh***	5000	1	0
	AL	Bh/Mo***	1000	2	0
Ageratum conyzoides	lic.	Ps***	350	0	10
Eupatorium laevigatum	eqn	Bh*	140	4	6
	AT	Bh***	20(13)	5	0
	AT	Bh***	200(127)	5	0
	AT	Bh***	1000(682)	4	1
	AT	Bh***	5000(3410)	5	4
	AT	Bh***	10000(6820)	0	5
	AT	Bh***	1000(248)	1	0
Eupatorium mexiae	AL	Bh*	3000	1	3
	AT	Bh*	2000	3	2
	PL	Bh*	17000	3	2
Eupatorium pauciflorum	AL	Bh*	3000	1	1
INSETOS					
Aeria olena macho e fêmea	AL	Ps***	1000	0	4
	AL	Mo*	500	1	1
	AT	Mo*	900	1	0
	PL	Mo*	1000	3	9
Aeria olena recém emergido	FT	Mo***	3000	3	0
	NT	Mo***	1000	3	0
	AT	Mo***	500	1	0
	AL	Mo***	500	1	0
	PL	Mo***	800	3	0
Tithorea harmonia macho	AL	Ps***	1000	0	4
	AL	Mo*	500	1	0
	AT	Mo*	200	3	1
	PL	Mo*	2000	1	0
CONTROLE					
Biblis hyperia (Bh)		**		5	0

Tabela 32. continuacão.

Miscelia orsis (Mo)	**	5	0
Phoebe statira (Ps)	**	5	0

a. FR: Fracções testadas; AL:alcalóides livres; AT:alcalóides totais; FT:extrato total; NT:neutro; FL:polar; eqn:equinatina; lic: licopsamina.

b. *:solvente utilizado H₂O:CHCl₃ 2:1 + 1 gota de óleo vegetal.
 **: solvente utilizado CHCl₃.

c. o valor entre parênteses representa a quantidade de PAs na fração segundo o método colorimétrico.

Adultos recém emergidos em laboratório da espécie *Mechanitis lysimnia*, portanto sem PAs (BROWN, 1987), e alimentados com aproximadamente 150 μ g de ascorbato de PAs em solução açucarada, foram predados nas primeiras duas horas após a ingestão. Após este intervalo de tempo eles foram liberados (Fig. 27). Um macho liberado no intervalo de 0 a 1 hora apresentava 16 μ g de PAs, dois machos liberados no intervalo acima de 4 horas apresentavam 61 e 12 μ g. Duas fêmeas liberadas nos intervalos de 2 a 3 horas e após 4 horas tinham 22 μ g de PAs e duas fêmeas predadas no intervalo de 1 a 2 horas apresentavam 31 μ g.

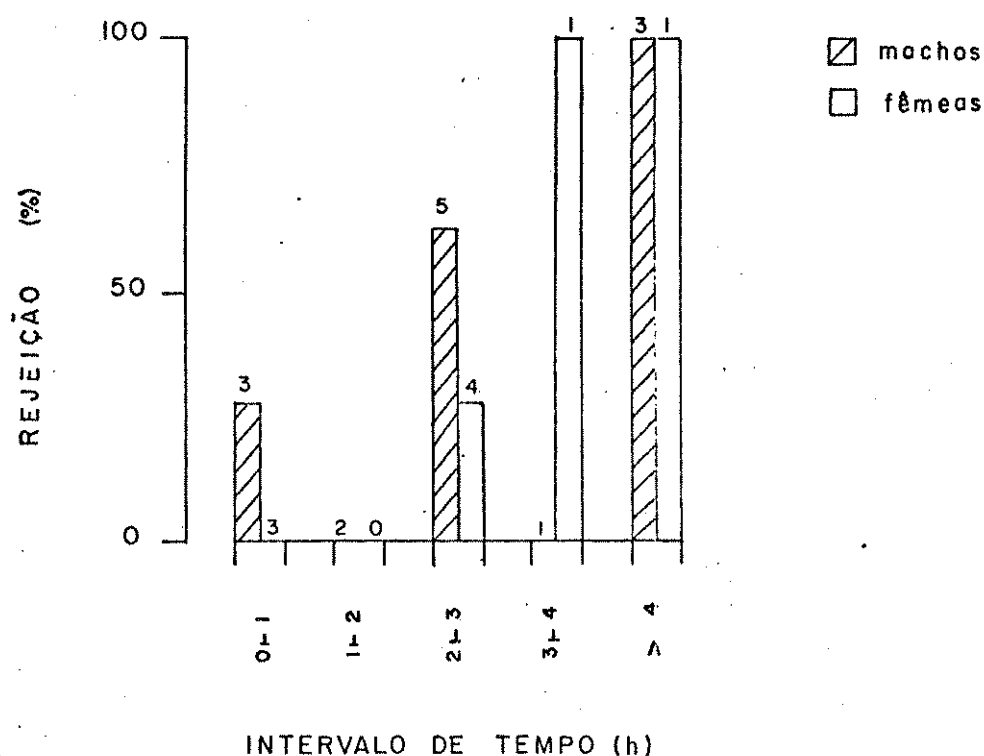


Figura 27. Percentagem de liberação por *Nephila clavipes*, de indivíduos recém emergidos de *Mechanitis lysimnia* alimentados com ascorbatos de PAs, em relação ao tempo de ingestão. Os número sobre as barras do histograma representam o número de indivíduos testados.

DISCUSSÃO.

1. DINÂMICA POPULACIONAL E FONTES DE ALCALOIDES PIRROLIZIDÍNICOS.

1.1. Dinâmica populacional de *Aeria olena* e *Tithorea harmonia*.

As populações de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva e de *Tithorea harmonia* da Mata da Pedra apresentam crescimento populacional nos períodos super úmidos e tamanho populacional reduzido nos períodos secos (Figuras 10 e 13).

ANDREWARTHA & BIRCH (1954) indicam fatores abióticos (p. e. clima) como principais reguladores de populações de insetos que vivem em regime de clima sazonal. WOLDA (1978) verificou que a flutuação cíclica de Homoptera no Panamá estava associada a sazonalidade climática. OWEN (1971) descobriu que espécies de Satyridae, Hesperidae, Pieridae e Acraeinae de Serra Leoa, África, variavam sazonalmente, aumentando em número nos períodos úmidos e diminuindo nos períodos secos. Espécies da família Lycaenidae apresentavam sazonalidade inversa, aumentando nos períodos secos e diminuindo nos períodos úmidos. Não foram observadas flutuações populacionais com a mudança de estação seca para chuvosa em populações dos lepidóteros *Charaxes buoeti* na África (OWEN, 1971), e *Heliconius ethilla* em Trinidad (EHRlich & GILBERT, 1973).

Flutuações populacionais em Ithomiinae em geral estão associadas com os ciclos climáticos. BROWN & BENSON (1974) apresentaram dados mostrando que algumas espécies de Ithomiinae da Costa Rica aumentam em número no período úmido, decrescendo no período seco. DRUMMOND (1976) correlacionou o decréscimo de populações de Ithomiinae do Equador com a época de redução de precipitações. HABER (1978) verificou que muitas espécies de Ithomiinae abundantes nos períodos úmidos desapareciam nos períodos secos; ele suspeita que o desaparecimento de certas espécies de Ithomiinae nos períodos secos se deva a migração destas para regiões de climas mais favoráveis. VASCONCELLOS-NETO (1980) estudando populações de cinco espécies de Ithomiinae na região de Sumaré, SP, *Mechanitis polymnia casabranca*, *M. l. lysimnia*, *Hypothyris ninonia daeta*, *Dircenna dero* e *Mcclungia salonina*, verificou que estas apresentavam os ciclos de abundância associados ao clima e ao crescimento de suas plantas hospedeiras.

Um fenômeno em que o clima deve ter relação de causa e efeito em populações de Ithomiinae é a formação de bolsões (concentrações de diversas espécies de Ithomiinae em locais úmidos por ocasião do período seco). BROWN (1977a;1979), BROWN & BENSON (1974), e BROWN & VASCONCELLOS-NETO (1976) relacionaram as contrações e expansões de espaço ocupado por populações de Ithomiinae com os períodos secos e chuvosos, respectivamente. Entretanto, segundo VASCONCELLOS-NETO (1980), as contrações e expansões de bolsões não devem ser tratadas globalmente já que cada espécie ou grupo de espécies de Ithomiinae pode ter uma dinâmica populacional específica.

Na população de *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva não se observou concentrações em bolsões durante o período seco; concentrações de *Mechanitis polymnia* foram observadas nesse período, no mesmo local. Na Serra do Japi encontrava-se raramente indivíduos de *Aeria olena* no bolsão formado perto da represa do DAE (ver Fig. 5) durante o período seco. Nesse bolsão a espécie mais abundante era *Epityches eupompe*. VASCONCELLOS-NETO (com. pes.) não observou concentrações de *Aeria olena* no Horto Florestal de Sumaré, SP, e em uma mata próxima a UNICAMP. Concentrações de *Tithorea harmonia* também não foram observadas na Mata da Pedra.

O clima, entretanto, não deve agir como regulador populacional "per se", mas sim influenciar os padrões fenológicos das plantas hospedeiras (Fig. 17), as quais devem influenciar na variação populacional de *Aeria olena* e *Tithorea harmonia*.

Em geral, folhas velhas de plantas apresentam altas quantidades de fibras, ligninas e taninas, e uma baixa concentração de água e nitrogênio, reduzindo assim o seu valor nutritivo para insetos fitófagos (SLANSKY & SCRIBER, 1981; SCRIBER, 1984). Portanto, a ausência de folhas novas de *Prestonia coalita*, deve ser responsável pela queda abrupta da população de *Aeria olena* período de julho. Como o clima também é seco e frio em junho e *Prestonia coalita* para de crescer nesse período, a redução populacional em julho é esperada, visto que o desenvolvimento de ovo a adulto em *Ithomiinae* é de aproximadamente 30 dias (YOUNG, 1972; 1973; 1974a; b; c; 1978; DRUMMOND, 1976). A possível baixa qualidade nutricional de *Prestonia coalita* até meados de novembro provavelmente faz com

que não seja disponível alimento para larvas, e sem haver recrutamento a população de *Aeria olena* diminui. De novembro a janeiro, a população deste lepidóptero entra em um novo ciclo, começando com poucos indivíduos, portanto uma baixa quantidade de oviposição, mas com plântulas e plantas com folhas jovens de *Prestonia coalita*, as quais proporcionam alimento para larvas, implicando em um aumento populacional a partir de fevereiro.

O significativo aumento populacional de *Tithorea harmonia* no mês de março de 1985 deve estar relacionado com um alto recrutamento de plântulas de *Prestonia acutifolia* nesse período, resultante da alta precipitação dos três meses anteriores (Fig. 6C). A cheia do rio Mogi-Guaçu (o qual margeia a Mata da Pedra - Fig. 4) deve ter produzido um aumento da fertilidade do solo da mata e conseqüentemente um alto número de sementes de *Prestonia acutifolia* germinaram.

Fêmeas de *Tithorea harmonia* procuram mais frequentemente folhas de plântulas no estrato inferior da mata para oviporem, embora folhas adultas e folhas jovens no estrato superior da mata também sejam usadas. Portanto a disponibilidade quantitativa e nutricional de alimento para a larva no mês de fevereiro deve ser responsável pelo aumento populacional em março de 1985. A redução da população de *Tithorea harmonia* no mês de junho pode estar associada ao aumento de plantas com folhas velhas, não disponíveis nutricionalmente para larvas, ou a um esgotamento das plantas hospedeira devido a super exploração nos meses anteriores, levando a regulação populacional através da competição intraespecífica. Entretanto, nenhum estudo amplo foi efetuado sobre competição intra específica em estágios

imatuross afetando a variaçãopopulacional, embora saiba-se que uma única larva de *Tithorea tarracina* consuma totalmente, em laboratório, uma plântula de *Prestonia acutifolia* com 20 cm de altura, 10 folhas, e uma área foliar de aproximadamente 1500 cm².

O número médio de indivíduos observado de setembro a fevereiro deve ser mantido pelo clima favorável e uma disponibilidade razoável e rebrotamento constante de plantas hospedeiras. Parasitismo e predação de estágios imatuross também podem ter influenciado neste período. Entretanto, segundo MONTEIRO (1981), as taxas de parasitismo seriam um fator regulador dependente da densidade, atingindo seus valores máximos quando as populações dos lepidópteros alcançassem seu pico (no caso de *Tithorea harmonia*, no mês de março).

O aumento nas proporções de indivíduos mais velhos no período seco, em *Aeria olena* no ano de 1984 e em *Tithorea harmonia* no ano de 1985, deve estar associado a uma redução em recrutamento, devido a diminuição de plantas hospedeiras (Figuras 11 e 14, e Tabelas 2 e 3). Entretanto, outros fatores também prejudicam o potencial reprodutivo dos lepidópteros. VASCONCELLOS-NETO (1980) observou que em ithomiíneos onde a planta hospedeira era abundante durante todo o ano, outros fatores como clima e inimigos naturais seriam responsáveis pela diminuição da taxa de reprodução e controle populacional nos períodos frios e secos. Fêmeas de *Tithorea harmonia* e *Mechanitis polymnia* capturadas em julho de 1984 e 1985, respectivamente, não tinham ovos em seus abdômes.

No ano de 1985 a estrutura etária de *Aeria olena* mostra um aumento na proporção de indivíduos novos no período seco. Junho e julho de 1985 foram menos secos que o mesmo período do ano anterior, isto poderia ter influenciado uma manutenção da atividade reprodutiva de fêmeas, além da presença de plantas hospedeiras em condições de serem utilizadas. Uma fêmea de *Aeria olena*, capturada no mês de julho de 1985, tinha ovos em seu abdome, e plantas de *Prestonia coalita* foram encontradas com ovos nesse mesmo período.

A maior proporção de machos encontrada em grande parte dos meses na população de *Aeria olena* (Tab. 2 e Fig. 12) deve estar associada ao comportamento diferencial entre os sexos. Fêmeas são menos conspicuas à capturas devido ao comportamento da espécie em voar no interior da mata nos estratos inferiores. Machos são capturados em maior número por serem mais ativos na procura de fontes de alimento, (principalmente fontes de PAs, alcalóides que são utilizados como precursores de feromônios) que se encontram mais frequentemente nas margens da mata onde foram feitas as amostragens. O comportamento de oviposição também poderia implicar nesse desvio na razão sexual observada. Fêmeas de *Aeria olena* poderiam estar se utilizando de plantas hospedeiras no interior da mata, e as pequenas plantas de *Prestonia coalita* observadas, geralmente se encontravam nas margens da mata. Em qualquer caso é interessante notar que ovos coletados no campo e criados em laboratório até adultos, tinham uma proporção sexual de machos maior que fêmeas.

EHRLICH et al. (1984) encontraram uma maior proporção de machos em uma geração de uma unidade demográfica de *Euphydryas editha* (Lep.:Nymphalidae), e sugeriram que isto se devia a uma alta mortalidade em pupas de fêmeas, uma alta taxa de migrações em fêmeas e possivelmente a uma alta taxa de mortalidade de fêmeas. VASCONCELLOS-NETO (1980) também encontrou excesso de machos na população do ithomiíneo *Maclungia salonina*, atribuindo isso a um comportamento diferencial de fêmeas, as quais se concentravam mais no interior da mata onde se localizavam suas plantas hospedeiras, enquanto machos voavam mais frequentemente nos lugares abertos dos bolsões onde foram feitas as coletas.

Na população de *Tithorea harmonia* a proporção sexual foi próxima a 1:1 (Tab. 3 e Fig. 14). O fato desta espécie apresentar uma distribuição espacial mais uniforme dentro da mata e a mata ripária permitir uma coleta de maneira mais uniforme, independente de trilhas, faz com que a captura de ambos os sexos ocorra de maneira semelhante. A proporção sexual de indivíduos nascidos em laboratório também foi 1:1.

A distância reduzida percorrida por indivíduos de *Aeria olena* e *Tithorea harmonia* (Tab. 4) deve ter diferentes razões. *Aeria olena* é uma espécie restrita ao estrato inferior da mata. Geralmente um indivíduo é recapturado várias vezes numa mesma área (perto de fontes de alimentação e de plantas hospedeiras) devido a pequena mobilidade desta espécie. *Tithorea harmonia* voa nos estratos inferiores da mata à procura de plantas para oviposição, mas normalmente voa no estrato médio superior. Os índices de recapturas foram baixíssimos para esta espécie. Como a amostragem foi feita ao longo de uma trilha no meio da mata e

este lepidóptero voa por entre a mata, os indivíduos devem ter deixado de frequentar a área de coleta depois de serem marcados pela primeira vez. Isto deve ter levado a uma estimativa incorreta da distância percorrida para *Tithorea harmonia*.

A diferença na frequência de visitas a fontes de PAs entre os sexos em *Aeria olena* (Tabelas 5 e 6), com o um número significativamente maior de machos visitando estas fontes, é característico da maioria dos Ithomiinae. PLISKE (1975a) já tinha observado que machos de Ithomiinae eram capturados com mais frequência sobre iscas de PAs do que fêmeas, inclusive as espécies *Aeria eurimedia* e *A. elara elodina*.

Tithorea harmonia da Mata da Pedra não apresenta esta síndrome (Tabelas 8 e 9). O fato desta espécie, nesta localidade, sequestrar PAs de sua planta hospedeira da larva pode implicar numa redução nas visitas, quando adulto, à fontes de PAs. Entretanto, isto pode se constituir de um fenômeno populacional, não inerente à espécie. BROWN (com. pes.) encontrou *Tithorea harmonia* visitando fontes de PAs em outras localidades. Populações que não tivessem como planta hospedeira, espécies de equitóiideas que apresentassem PAs, possivelmente seriam atraídas por fontes de PAs em seu estágio adulto. PLISKE (1975a) verificou que em *Tithorea harmonia megara*, tanto machos quanto fêmeas eram atraídos por iscas de PAs, enquanto que em *Tithorea harmonia furia*, machos eram mais frequentes que fêmeas, e em *Tithorea tarracina pinthias* fêmeas eram mais frequentes que machos.

As preferências por diferentes fontes de PAs por machos de *Aeria olena* (Fig. 18) devem estar ligadas a abundância destes recursos. Em termos de quantidade de néctar por planta e consequentemente quantidade de PAs, *Eupatorium maximiliani* é o mais rico, devido ao grande número de inflorescências por planta; *Heliotropium transalpinum* vêm em segundo lugar com maior número de indivíduos na área, mas número reduzido de flores por planta; *Ageratum conyzoides* mostrou poucos indivíduos com distribuição bastante descontínua. Entretanto, é possível que diferentes produtos voláteis (talvez derivados de PAs), das diferentes plantas, possam estar determinando essa ordem de utilização de recursos. PLISKE et al. (1976) mostraram que machos de *Ithomiinae* (não incluindo *Aeria* em suas amostras) são atraídos para plantas por produtos derivados de ácidos esterificantes de PAs. Os alcalóides atuam, posteriormente à atração, como fagoestimulantes. O produto derivado do ácido esterificante da indicina (ácido (-) traquelântico) é o mais atraente de todos, principalmente para *Pteronymia veia*. Como machos de diferentes espécies são atraídos diferentemente tanto por iscas como por derivados de PAs (PLISKE et al., 1976) é possível que produtos derivados do ácido (+) traquelântico (ácido esterificante da rinderina), encontrado em *Eupatorium maximiliani* (BROWN, 1985), seja um atraente mais potente do que produtos derivados da mistura de ácido (+) e (-) traquelântico (ácidos esterificantes da rinderina e indicina, respectivamente), encontrados em *Heliotropium transalpinum* (BROWN, 1985) e do que produtos derivados do ácido esterificante da licopsamina ((-) viridiflórico) encontrado em *Ageratum conyzoides* (Fig. 23). A

variação de atraentes na natureza pode explicar a não atração de Ithomiinae (entre eles *Aeria olena*) por uma série de plantas que apresentam PAs (p.e. *Eupatorium vitalbae*, *Eupatorium mexiae*). Para comprovar esta hipótese, deveriam ser feitos experimentos verificando a atração de espécies de Ithomiinae pelos ácidos esterificantes destas e outras plantas.

Eu nunca observei *Mechanitis* da Mata de Costa e Silva visitando *Ageratum conyzoides*, e raramente indivíduos desse gênero visitam *Heliotropium transalpinum*. Da mesma forma nunca observei *Aeria olena* visitando *Eupatorium laevigatum* na Mata de Costa e Silva, nem *Ageratum conyzoides* na Serra do Japi, onde esta planta ocorria em algumas manchas esparsas. Esta escolha de recursos deve estar mais associada ao microhabitat característico destas duas espécies do que com componentes químicos das fontes. *Mechanitis* usava, na Mata de Costa e Silva, fontes de PAs nas margens exteriores da mata (*Eupatorium laevigatum* na área 11 e *Eupatorium maximiliani* nas áreas 2 e 17), enquanto que *Aeria olena* se alimentava principalmente de fontes que ocorriam no interior da mata (*Ageratum conyzoides* e *Heliotropium transalpinum*). O microhabitat parece estar refletindo entre outros fatores, a vagilidade e resiliência diferencial das duas espécies. *Aeria olena* deve procurar alimento onde se exponha o menos possível a predadores, locais como o estrato inferior da mata que, devido a sua arquitetura apresenta maiores opções de fuga e esconderijo. *Mechanitis*, mais resiliente e mais vágil, deve procurar fontes de alimento em locais mais abertos sem tanto risco.

2. Fontes de Alcalóides Pirrolizidínicos.

Em *Aeria olena* da Mata de Costa e Silva o aumento populacional (Fig. 10) ocorre na mesma época da floração de fontes de alimento (Fig. 16) para o adulto (inclusive fontes de PAs). A associação entre *Aeria olena* e fontes de néctar com PAs, juntamente com o clima e a fenologia de plantas hospedeiras, poderia ser um dos fatores na regulação de populações de Ithomiinae. O aumento de recursos alimentares em geral (inclusive fontes de néctar com PAs) devem ter grande influência na produção de ovos em lepidópteros (MARSHALL, 1982). Entretanto não se tem uma relação de causa (aumento de fontes de PAs) e efeito (aumento populacional). PLISKE (1975a) sugeriu que fontes de PAs poderiam estar estruturando populações de Ithomiinae influenciando fortemente a distribuição, abundância e comportamento reprodutivo destes lepidópteros.

Fontes de néctar contendo PAs, entretanto, podem ter coevoluido junto com o sistema Ithomiinae/plantas hospedeiras. No sistema Ithomiinae/fontes de PAs ocorre uma interação mutualística. Plantas com PAs são polinizadas por lepidópteros, e machos de Ithomiinae são seus polinizadores mais frequentes (PLISKE, 1975b). PAs são utilizados por machos de Ithomiinae como precursores de feromônio repelente intra e interespecífico de outros machos, evitando assim a corte e tentativa de cópula entre indivíduos do mesmo sexo (PLISKE, 1975c; PLISKE et al., 1976). Este composto é liberado pelos pinceis de pelo (escamas modificadas) das asas posteriores dos machos. EDGAR et al. (1976) identificaram uma lactona (Fig. 1.31) derivada do ácido esterificante dos PAs, em machos de sete espécies de Ithomiinae.

Este composto também funciona como afrodisíaco que facilita a cópula durante a última fase do vôo de corte (PLISKE, 1975c).

Plantas com PAs assim como plantas hospedeiras das larvas de Ithomiinae são características de ambientes ruderais e perturbados ao longo de caminhos que cortam matas primárias. Como já foi discutido acima, plantas hospedeiras devem estar regulando as populações de Ithomiinae. Portanto, um sincronismo da floração de fontes de PAs com a disponibilidade de plantas hospedeiras de Ithomiinae iria ser selecionado favoravelmente, devido a ação dos lepidópteros atuando como polinizadores.

2. VARIAÇÃO DE ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS EM POPULAÇÕES NATURAIS.

2.1. Em lepidópteros.

A dinâmica da variação de cardenolídeos em Danainae (Lepidoptera) foi amplamente estudada (BROWER, 1969; BROWER et al., 1968; 1972; 1975; 1978; 1982; BROWER & MOFFITT, 1974; BROWER & GLAZIER, 1975; ROESKE et al., 1976; COHEN, 1985; SEIBER et al., 1986; LYNCH & MARTIN, 1987). Em seu trabalho clássico de Ecologia Química, BROWER et al. (1967) demonstraram que cardenolídeos eram armazenados pelas larvas de *Danaus plexippus*, que se alimentavam de plantas da família Asclepiadaceae, e transferidos para o adulto através da pupa. A dinâmica de incorporação de PAS pela maioria dos Ithomiinae é diferente. BROWN (1984; 1985; 1987) demonstrou que adultos de Ithomiinae incorporam PAS de suas fontes de néctar. Suas plantas hospedeiras da larva pertencentes a família Solanaceae não apresentam esses alcalóides. As únicas exceções conhecidas são: *Tithorea* que incorpora PAS de suas plantas hospedeiras (Apocynaceae), e *Tellervo* que incorpora PAS de *Parsonsia*, também uma Apocynaceae (EDGAR, 1982).

As espécies em estudo serão analisadas dentro de dois padrões: 1. espécies que incorporam PAS de fontes de néctar e cujos machos são fortemente atraídos por estas fontes (PLISKE, 1975a). Neste caso se enquadram *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia*; 2. espécies que incorporam PAS principalmente de suas

plantas hospedeiras e ambos os sexos não visitam frequentemente fontes de néctar com PAs. Neste caso se enquadra *Tithorea harmonia*.

A quantidade média mensal de PAs/indivíduo nas populações de *Aeria olena* (Tab. 12) e *Mechanitis polymnia* (Tab. 14) da Mata de Costa e Silva deve refletir a disponibilidade de fontes de néctar com PAs ao longo dos meses. Nos meses de abundância de fontes de néctar contendo PAs (Fig. 16), a quantidade média de PAs/indivíduo foi alta. No mês de julho quando estas fontes rareavam, reduzia-se significativamente a quantidade de PAs/indivíduo nos lepidópteros.

A população de *Aeria olena* da Serra do Japi também apresentava uma redução na quantidade de PAs/indivíduo no mês de julho (Tab. 13), embora a ausência de diferença estatística significativa entre os meses possa ser explicada pelo fato de *Trichogonia gardneri*, a principal fonte de PAs para *Aeria olena* neste local, ser abundante de fevereiro a julho quando começava a rarear.

A baixa quantidade média de PAs/indivíduo em machos de *Mechanitis polymnia* coletados em fevereiro deve estar associada ao fato que as únicas duas fontes de PAs disponíveis nesta época, na área da Mata de Costa e Silva eram *Heliotropium transalpinum* e *Ageratum conyzoides*, que crescem em lugares sombreados e são pouco visitadas por *Mechanitis polymnia* (ver Item 1 da discussão). No mês de março, quando começa a floração de *Eupatorium laevigatum* e *E. maximiliani*, é que aumenta a quantidade de PAs em indivíduos de *Mechanitis polymnia*.

BROWN (1985) observou que populações de *Ithomiinae* em ambientes pouco perturbados, os quais têm poucas fontes de PAs, têm uma quantidade média de PAs menor, sendo que indivíduos capturados voando perto ou se alimentando de *Heliotropium* ou *Eupatorium* também tinham maior quantidade de PAs do que indivíduos capturados voando dentro da floresta.

A relação entre o aumento na quantidade de PAs/indivíduo e o aumento de fontes de PAs foi observado somente em machos de *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia*. Fêmeas não apresentavam essa variação de PAs dependente das fontes de néctar com o alcalóide. Machos é que visitam frequentemente fontes de néctar com PAs, e utilizam esses alcalóides para síntese de feromônios (EDGAR, et al., 1976; FLISKE et al., 1976), além de transferirem PAs para fêmeas por ocasião da cópula (BROWN, 1985; 1987). Portanto, num balanço entre acúmulo/utilização de PAs, machos devem acumular os alcalóides no período de aumento de fontes de PAs e perder parte do alcalóide por ocasião da redução destas fontes. Um aumento ou redução de fontes de PAs não iria ser refletida em fêmeas, que devem utilizar o alcalóide somente quando o transfere para os ovos.

A quantidade de PAs em adultos de *Tithorea harmonia* deve refletir a quantidade de PAs sequestrada pela larva de sua planta hospedeira. Em primeiro lugar, indivíduos de ambos os sexos de *Tithorea harmonia* visitam com frequência fontes de néctar contendo PAs (Tabelas 8 e 9). Em segundo lugar, a Figura 25 mostra que no mês de setembro, larvas, pupas e adultos recém emergidos apresentavam maior quantidade de PAs, do que nos meses de dezembro, janeiro, fevereiro, março e abril; e no mês de outubro,

machos capturados no campo apresentam a maior quantidade média de PAs (Tab. 14), refletindo o alto teor de PAs dos estágios imaturos do mês anterior.

Agosto e setembro é a época de reinício das chuvas (Fig. 6C), portanto de um modo geral plantas devem estar mais expostas a pressão de fitófagos, que voltam a aumentar nesse período. *Prestonia acutifolia* nesse período sofre rebrota e recrutamento de novos indivíduos. Um incremento na produção de PAs por partes jovens de plantas ou plântulas deve proporcionar uma barreira química eficiente contra a pressão de fitófagos de maneira geral. SCRIBER (1984) verificou que a concentração de glicosídeos cianogênicos em plantas jovens de *Prunus serotina* e *Lotus corniculatus* era bem maior do que em plantas adultas. Um aumento na concentração de PAs em plântulas e folhas jovens, iria se refletir nos estágios de *Tithorea harmonia*, um especialista que ultrapassou a barreira química dos PAs. Uma análise mais ampla, comparando as quantidades de PAs em plantas hospedeiras, estágios imaturos e adultos recém emergidos coletados ao longo do ano confirmaria essa hipótese.

A inexistência de diferenças significativas na quantidade média de PAs entre sexos (Tab. 16) em *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia* pode ser explicada pela dinâmica de aquisição de PAs por estas duas espécies. Machos são mais frequentemente atraídos para fontes de PAs (Tabelas 5 e 6). Entretanto, machos utilizam parte do alcalóide na síntese de ferômonios (EDGAR et al., 1976; PLISKE et al., 1976), e transferem parte desse alcalóide para fêmeas durante a cópula (BROWN, 1985; 1987). Esta dinâmica de aquisição/utilização/transferência resultaria

numa tendência de igualdade na quantidade de PAs entre os sexos. Ao mesmo tempo a variância significativamente maior de PAs em machos (Tab. 16) também é reflexo dessa dinâmica. Indivíduos novos que ainda não tiveram acesso a fontes de PAs ou indivíduos que acabaram de copular, teriam pouco alcalóide em seus tecidos, enquanto que indivíduos que acabaram de visitar fontes de PAs teriam uma quantidade maior do alcalóide. Fêmeas devem incorporar PAs, mais frequentemente, através da cópula, visitando raramente fontes de PAs, produzindo uma menor variação de alcalóides entre os indivíduos deste sexo. Fêmeas nem apresentam as altas quantidades encontradas em machos, nem quantidades mínimas (exceto fêmeas virgens). BROWN (1985) também não encontrou diferenças na quantidade de PAs entre sexos em 36 espécies de Ithomiinae e 4 de Danainae.

No caso de *Tithorea harmonia*, a diferença significativa na quantidade média de PAs entre os sexos (Tab. 16) deve estar relacionada com a aquisição de PAs, por ambos os sexos, da planta hospedeira da larva. Não foram encontradas diferenças significativas entre sexos quanto a quantidade de PAs em indivíduos recém emergidos. Entretanto, os adultos são pouco atraídos por fontes de PAs (Tabelas 8 e 9), e machos perdem uma parcela de seus alcalóides para fêmeas por ocasião da cópula (BROWN, 1985), e através da produção de feromônios, enquanto que fêmeas devem perder PAs somente por ocasião da oviposição. Essa dinâmica de utilização/transferência deve implicar numa menor quantidade de PAs em machos.

BROWER et al. (1967; 1968) encontraram uma grande amplitude de concentrações de cardenolídeos em *Danainae*, deduzindo a existência de um "espectro de palatabilidade" neste inseto, para predadores repelidos pelo sabor desagradável dos cardenolídeos. Também foi reconhecida a possibilidade de automimetismo: indivíduos com pouca ou nenhuma proteção química mimetizando indivíduos da mesma espécie que tivessem alta concentração da substância química protetora.

No caso de *Ithomiinae*, devido a dinâmica de aquisição de PAs por adultos, de suas fontes de néctar ou através de suas plantas hospedeiras, observa-se uma grande variação na quantidade de PAs em indivíduos. Indivíduos com pouca quantidade de PAs podem ser "automímicos" de outros membros da mesma população que tenham acumulado mais alcalóides (BROWN, 1985). Entretanto, como neste caso o papel dos PAs, per se, como defesa química é questionável (ver item 3 da discussão), a questão do automimetismo fica em aberto. Em verdade nas espécies que assimilam PAs de fontes de néctar, os automímicos seriam temporários, devido a dinâmica de aquisição do alcalóide.

Ambos os sexos de *Tithorea harmonia* apresentaram uma percentagem média de PAs significativamente menor que *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia* (Tab. 17). BROWN (1985) encontrou *Tithorea harmonia pseudethra* e *Tithorea harmonia pseudonyma* com baixíssimas concentrações máximas de PAs (0,5 a 1,7%). Somente o gênero *Methona*, que se usa *Brunfelsia* (Solanaceae) como planta hospedeira da larva, apresentava concentrações máximas menores (0,02 a 0,44%). Isso deve ser resultado do padrão de incorporação de PAs de *Tithorea harmonia* (sequestra PAs de sua

planta hospedeira), o qual difere do padrão das outras duas espécies (utilizam PAs de suas fontes de néctar). Como uma espécie mais primitiva, *Tithorea harmonia* talvez retenha os mecanismos fisiológicos dos ancestrais próximos ao tronco do complexo Ithomiinae/Danainae.

Borboletas ancestrais do complexo Ithomiinae/Danainae, segundo EDGAR (1975), ao se utilizarem de plantas hospedeiras contendo PAs, tinham o seu ciclo de vida mediado quimicamente pelo alcalóide. Derivados voláteis de PAs provavelmente atraíam borboletas ancestrais de ambos os sexos para uma região ao redor da planta, sendo que fêmeas se tornariam receptivas a corte e acasalamento. Esta receptividade se devia a análogos de ferômonios liberados pelas plantas. Derivados menos voláteis de PAs, estimulariam posteriormente a oviposição por parte da fêmea quando esta entrasse em contato físico com a planta.

Espécies mais primitivas de Ithomiinae, no caso *Tithorea harmonia*, poderiam ser influenciadas pela "região química" ao redor da planta hospedeira onde corte e acasalamento seriam favorecidos. Portanto machos não necessitariam incorporar PAs de fontes de néctar para síntese de feromônios. Outras espécies (no caso *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia*), que não se utilizam de plantas hospedeiras contendo PAs, necessitariam adquirir estes alcalóides em fontes de néctar. Como fêmeas raramente se alimentam de fontes de PAs e nem se utilizam de derivados do alcalóide como estímulo para oviposição, machos devem adquirir quantidades maiores de PAs para utilizá-los como precursores de ferômonios, e para transferi-los às fêmeas por ocasião da cópula, garantindo talvez a defesa química de sua progênie, pela

proteção conferida às fêmeas e aos ovos. Portanto, a evolução da capacidade de incorporar maiores concentrações de PAs por parte de espécies de Ithomiinae pode ter se dado por ocasião da utilização de plantas hospedeiras sem PAs (algumas Echioideae e Solanaceae).

A quantificação de feromônios sexuais em espécies que se alimentam de plantas hospedeiras com PAs e sem PAs, e a verificação se corte e acasalamento em *Tithorea harmonia* ocorre mais frequentemente em localidades com alta densidade de plantas de alimentação, poderia relacionar a teoria proposta por EDGAR (1975) e a baixa concentração de PAs em *Tithorea*.

A percentagem de N-óxidos em Ithomiinae pode estar ligada diretamente à percentagem de N-óxidos em suas fontes de aquisição. O fato da percentagem de N-óxidos em *Tithorea harmonia* ser significativamente menor que em *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia* (Tab. 18) pode ter relação com a percentagem de N-óxidos em folhas jovens de *Prestonia acutifolia* (Tab. 30), que é semelhante à de *Tithorea harmonia*. Entretanto, o número de folhas amostrado em *Prestonia acutifolia* é muito baixo para se efetuar comparações, e não foram coletados dados de percentagem de N-óxidos em néctar ingerido por *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia*.

A quantidade média de PAs em *Aeria olena* recém emergido é significativamente menor em comparação com as outras classes etárias (Tabelas 19 e 20), indicando a necessidade de adultos obterem PAs de outras fontes.

Em *Tithorea harmonia* esperava-se que a quantidade média de PAs fossem decrescendo com o aumento das idades relativas, já que esta espécie, na Mata da Pedra, raramente visita fontes de PAs, e provavelmente não repõe os PAs utilizados na síntese de feromônios (machos) e oviposição (fêmeas). Entretanto, somente fêmeas recém emergidas têm uma quantidade média de PAs significativamente menor do que fêmeas novas (Tab. 22). Essa diferença e a ausência do padrão esperado deve ser reflexo do agrupamento das coletas mensais para análise entre idades relativas, pois indivíduos de qualquer classe etária coletados em fevereiro de 1984 ($75 \pm 70 \mu\text{g}$ de PAs/indivíduos) teriam uma quantidade de PAs/indivíduo provavelmente menor do que indivíduos de classes etárias mais avançadas (intermediários e velhos) coletados em outubro de 1984 ($361 \pm 199 \mu\text{g}$ de PAs/indivíduo).

O ideal para uma análise de variação na quantidade de PAs entre classes de idades seria poder isolar o máximo possível todas as variáveis envolvidas, fazendo-se comparações entre indivíduos de diferentes sexos, espécies e idades, capturados no mesmo mês.

A distribuição de PAs em partes do corpo das três espécies estudadas (Tabelas 24 e 25) comparadas com as quantidades de cardenolídeos em diferentes partes do corpo de *Danaus plexippus* (BROWER & GLAZIER, 1975) mostram que o danaídeo apresenta a maior percentagem de cardenolídeos em suas asas, seguido do abdome e tórax. Os ithomiíneos apresentam a maior percentagem de PAs no tórax e abdome, seguido das asas, cabeça e estruturas sexuais. Entretanto, o potencial emético dos cardenolídeos (baseado na digitoxina) era maior no abdome,

seguido das asas e do tórax (BROWER, 1969).

BROWER & GLAZIER (1975) sugerem que o baixo potencial emético de cardenolídeos nas asas de Danainae seria suficiente para que pássaros que já tivessem sofrido aprendizado percebessem a substância e liberassem a borboleta. Entretanto, pássaros ingênuos ou extremamente famintos capturariam a borboleta, e se alimentariam do tórax e abdome após retirarem suas asas (que não são potencialmente comestíveis). Neste caso os pássaros se alimentam da estrutura com maior potencial emético (abdome), sofrendo consequências desagradáveis (emesis), sujeitando-se ao aprendizado. O mesmo processo pode estar ocorrendo em Ithomiinae com relação aos PAs. Entretanto, o efeito de PAs sobre aprendizado em vertebrados não é conhecido.

A distribuição de PAs no corpo de *Tithorea harmonia* (Tabelas 27 e 28) e a sua concentração relativa (Tab. 29) é constante ao longo da vida desse lepidóptero, não sendo influenciada pela variação mensal de PAs nessa espécie. Indivíduos recém emergidos também apresentam o mesmo padrão de distribuição de PAs em partes do corpo (Tabelas 27 e 28).

O fato mais conspicuo da análise da concentração relativa (Tab. 25) de PAs é a alta concentração nas estruturas sexuais de machos. Encontrei um caso de fêmea de *Aeria olena* em que a bursa tinha uma concentração relativa 15 vezes maior do que as outras estruturas. Provavelmente essa fêmea tinha acabado de copular. BROWN (1985) já tinha observado que machos tinham altas concentrações de PAs em seus espermatóforos e inferiu que ocorria a passagem de PAs de machos para fêmeas durante a cópula. DUSSOURD et al. (1984) observaram que machos de *Cisseps*

fulvicollis (Arctiidae: Ctenuchinae) também transferiam PAs para fêmeas durante a cópula.

A concentração de PAs em estruturas de machos, com a posterior transferência para a bursa da fêmea, e subsequentemente para os ovos, pode ter sido selecionada como um investimento parental na proteção da descendência, protegendo inicialmente a fêmea, e depois os ovos que ela produz. A proteção dos ovos pode ser devido a repelência, conferida por PAs, contra predadores. Em caso de PAs atuarem como substância tóxica, a presença do alcalóide em ovos pode ter sido selecionada através de seleção de parentesco, com o predador sofrendo um aprendizado a partir da ingestão de um ovo tóxico ou de gosto desagradável. Portanto, o predador evitaria predação o restante dos ovos (em caso de ovos agrupados) ou ovos adjacentes (em caso de ovos isolados). Entretanto, não se deve descartar a hipótese que a passagem de PAs para os ovos seja feita através de transporte passivo, não envolvendo nenhuma pressão seletiva.

2.2. Em plantas.

A concentração de PAs em *Eupatorium laevigatum* (Tabela 11) é maior em botões, seguido da porção apical do caule, infrutescências, inflorescências, raiz, folhas e porção basal do caule. A função mais provável seria de proteção de gemas contra herbívoros, e no caso de flores atração de polinizadores. Folhas poderiam ser protegidas contra herbivoria por uma gama de outras substâncias, provavelmente lactonas sesquiterpênicas, encontradas em folhas de diversas espécies da tribo Eupatorieae (DOMINGUEZ, 1977). ROESKE et al. (1976) observou altas

concentrações de cardenolídeos em órgãos reprodutivos de *Asclepias nivea* e *A. curassavica*.

Em *Prestonia acutifolia* folhas de indivíduos adultos apresentaram uma menor concentração de alcalóides totais do que folhas de indivíduos jovens (Tab. 11). Numa análise posterior em cromatografia em camada fina, folhas de indivíduos adultos apresentaram duas manchas bem fracas de PAs, enquanto que folhas de indivíduos jovens apresentavam estas manchas bem conspicuas. Portanto parece que não ocorre uma variação qualitativa de PAs em relação a idade da planta. Ao se analisar folhas de ambos os indivíduos pelo método colorimétrico, não foram registrados traços de PAs em indivíduos adultos, enquanto que alguns indivíduos jovens apresentavam PAs (Tab. 29). Folhas de *Asclepias eriocarpa* apresentam variação de cardenolídeos de acordo com o crescimento da planta (NELSON et al., 1981). Glicosídeos cianogênicos diminuem em concentração com o aumento da idade da planta, juntamente com o aumento de fibras, lignina e taninos, e um decréscimo na quantidade de água e nitrogênio foliares.

Eu acredito que *Prestonia acutifolia* mobiliza defesas qualitativas (FEENY, 1975; 1976; RHOADES & CATES, 1976; RHOADES, 1979), no caso PAs, para folhas jovens com alta concentração de água e nitrogênio e baixa concentração de defesas quantitativas (ligninas e taninas), promovendo assim uma barreira química (tóxica, repelente ou deterrente) contra o ataque de fitófagos. Em folhas adultas a concentração de água e nitrogênio seria reduzida resultando em uma barreira nutricional que funcionaria vantajosamente sem os custos com a produção de PAs.

3. DEFESA QUÍMICA CONTRA PREDACÃO POR *Nephila clavipes*. O PAPEL DOS ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS.

EISNER (1982) descreveu a liberação ileso do arctiídeo *Utetheisa ornatrix* (L.) da teia de *Nephila clavipes* e demonstrou experimentalmente que a liberação se devia a FAs incorporados pela larva desta mariposa de sua planta hospedeira *Crotalaria*. TRIGO (1984) também observou experimentalmente a liberação de adultos de *Hyalurga* sp (Arctiidae: Pericopinae), e verificou a presença de FAs nesse lepidóptero, que se alimentava quando larva em *Heliotropium*, uma planta que contém FAs.

VASCONCELLOS-NETO & LEWINSOHN (1984) mostraram que *Nephila clavipes* discrimina adultos de Ithomiinae e Danainae e os libera ilesos de sua teia através de um comportamento especializado. Entre os lepidópteros liberados estavam *Aeria olena* (9 indivíduos liberados) e *Tithorea harmonia* (6 indivíduos liberados). Heliconini, Nymphalinae, Acraeinae, Pieridae e Papilionidae geralmente eram predados. A coloração de advertência e mimetismo das borboletas não afetou a resposta da aranha. BROWN (1984; 1985; 1987) mostrou que FAs e/ou seus derivados são responsáveis pela rejeição de Ithomiinae por *Nephila clavipes*.

Em experimentos com adultos recém emergidos de Ithomiinae (28 espécies em 22 gêneros) que se alimentavam de Solanaceae, BROWN (1987) verificou que estes eram predados sem hesitação por *Nephila clavipes*, e que indivíduos predados não

apresentavam PAs. Em muitos casos a aranha tinha liberado adultos da mesma espécie e sexo, capturados no campo.

Estes dados confirmam que PAs têm um papel central na defesa de adultos de Ithomiinae e outros lepidópteros contra a predação pela aranha *Nephila clavipes*.

PAs e/ou seus derivados devem atuar diferentemente na defesa química em relação a adultos recém emergidos e adultos capturados no campo e também em relação a diferentes espécies de Ithomiinae. Os resultados obtidos para indivíduos recém emergidos das três espécies de Ithomiinae aqui estudadas (Tabelas 28 e 31 e Figura 24), sugerem três fenômenos novos ainda não esclarecidos, cada qual envolvendo uma espécie.

3.1. Defesa química em *Aeria olena*.

Indivíduos recém emergidos de *Aeria olena* (68,3% não apresentando PAs - Fig. 24) foram quase na sua totalidade (92,9%) rejeitados pela aranha (Tab. 31). O caso é duplamente ambíguo do ponto de vista químico: além de não apresentarem PAs e serem rejeitados, cerca de um terço dos indivíduos parecia ter a capacidade de sintetizar PAs a partir de precursores obtidos de sua planta hospedeira, *Prestonia coalita*, na qual não foi detectada a presença de PAs (Tab. 11). Não se encontrou nenhuma larva ou pupa apresentando PAs (Tab. 29), sugerindo que a quantidade de PAs presente nestes estágios é tão pequena que não é acusada pelo método espectrofotométrico, ou que a transformação se dá por ocasião da emergência do adulto.

Os indivíduos rejeitados sem apresentarem PAs, talvez estejam sequestrando outra substância de sua planta hospedeira com atividade contra predação pela aranha. Entretanto, frações de indivíduos recém emergidos e da planta hospedeira aplicadas topicamente em borboletas palatáveis e testadas contra *Nephila*, não apresentaram nenhuma atividade (Tab. 32).

Outras hipóteses incluem:

a. As substâncias presentes em *Prestonia coalita* seriam inócuas contra *Nephila*, e *Aeria olena* as modificaria estruturalmente tornando-as ativas.

b. *Aeria olena* estaria biossintetizando os compostos responsáveis pela defesa química, independente da planta hospedeira. Sabe-se que os *Heliconiini* biossintetizam glicosídeos cianogênicos "de novo", mesmo que estas substâncias se encontrem presentes em suas plantas hospedeiras (NAHRSTEDT & DAVIS, 1981), e que os *Acraeinae* de regiões neotropicais devem biossintetizar glicosídeos cianogênicos, ao invés de incorporarem PAs de suas plantas hospedeiras (BROWN & FRANCINI, em preparação).

c. As quantidades de substâncias impalatáveis nas frações aplicadas topicamente seriam insuficientes para provocar a resposta de rejeição na aranha.

d. A substância ativa teria sido alterada e/ou perdida durante o fracionamento químico, hipótese que eu considero mais provável.

Os indivíduos recém emergidos que contêm PAs talvez representem uma linhagem de *Aeria olena* (31,7% dos indivíduos recém emergidos analisados - Fig. 25) que os sintetizam de outras

substâncias, possivelmente diidropirrolizinas não detectadas pelo método de Ehrlich, encontradas nas folhas de *Prestonia coalita*. Loroquina (Fig. 1.26), uma diidropirrolizina cetônica, foi isolada de *Urechites karwinskyi* (Apocynaceae: Echitoideae) (BORGES DEL CASTILHO et al., 1970).

A fração polar de *Aeria olena* recém emergida, que não apresentou PAs, mostrou uma mancha amarela com $R_f = 0,14$ em cromatografia em camada fina revelada com reagente de Ehrlich. Quando reduzida com NaBH_4 , apresentou duas manchas roxas fracas com $R_f = 0,21$ e $0,14$ e R_{st} em relação a equinatina igual a $0,50$ e $1,00$. Indivíduos recém emergidos que apresentavam PAs, mostraram um R_{st} (em relação a equinatina) para o alcalóide igual a $0,50$ e $1,00$. Entretanto, a fração polar de *Prestonia coalita* não apresentou nenhuma mancha quando revelada com reagente de Ehrlich, e nem após sua redução. A diidropirrolizina, 1-formil-7 α -hidroxi-6,7-5H-pirrolizina (Fig. 1.29) apresentava uma mancha amarela com $R_f = 0,75$ em cromatografia em camada fina revelada com Reagente de Ehrlich (CULVENOR et al., 1970).

A análise dos padrões químicos das frações polares de *Aeria olena* recém emergida e *Prestonia coalita* não leva a qualquer conclusão sobre a natureza do composto responsável pela proteção química do lepidóptero, nem indica se o composto é biossintetizado pelo inseto ou sequestrado da planta hospedeira. Alcalóides pirrolizidínicos, como aquele isolado por EDGAR et al. (1980) de *Parsonsia heterophylla* (Apocynaceae: Echitoideae) (Fig. 1.32), também poderiam estar envolvidos no processo. Estes alcalóides não apresentam coloração característica quando tratados com reagente de Ehrlich (MATTOCKS, 1967b).

A fração polar de indivíduos capturados no campo (que não apresentava PAs) apresentava considerável atividade contra predação (Tab. 32). Eu acredito que o mesmo composto responsável pela defesa de adultos recém emergidos contra predação por *Nephila clavipes* também é o responsável pela defesa de indivíduos capturados no campo. Os PAs ingeridos por adultos em fontes de néctar devem fornecer uma proteção adicional contra predação por *Nephila clavipes*, além de serem precursores de feromônios.

3.2. Defesa química em *Tithorea harmonia*.

Indivíduos de *Tithorea harmonia* recém emergidos apresentam um outro fenômeno. As larvas, na sua totalidade, sequestram PAs de sua planta hospedeira, *Prestonia acutifolia*, os quais são incorporados no adulto recém emergido (Tab. 29). Os alcalóides presentes nos adultos recém emergidos parecem ser os mesmos das plantas hospedeiras. Entretanto, todos os indivíduos recém emergidos foram predados por *Nephila clavipes* (Tab. 31). Neste caso seriam os PAs os verdadeiros responsáveis pela defesa química, agindo dependentes de sua distribuição no corpo do lepidóptero e/ou de sua concentração? Em relação à distribuição de PAs no corpo dos lepidópteros, não se encontrou diferenças significativas entre indivíduos recém-emergidos e indivíduos capturados no campo (Tabelas 25, 26 e 27).

A concentração de PAs em indivíduos recém emergidos é significativamente diferente de indivíduos novos capturados no campo somente no caso de fêmeas (Tabela 21). Entretanto, isto pode ser reflexo do agrupamento das amostras mensais para análise estatística (ver item 2 da discussão). Não se têm dados sobre

a atividade de PAs em relação à concentração, embora 200 µg da fração alcaloidal de *Prestonia acutifolia* tivesse uma certa atividade contra *Nephila clavipes* (Tab. 32), esta quantidade de PAs está muito acima da média de PAs encontrada em indivíduos recém emergidos e de adultos capturados no campo em alguns meses.

Há diferenças na composição dos PAs encontrados em indivíduos recém emergidos e indivíduos capturados no campo. Indivíduos recém emergidos apresentavam alcalóides idênticos ao de folhas jovens de sua planta hospedeira ($R_f = 0,46$ e $0,64$), enquanto que adultos capturados no campo apresentavam além destes, dois alcalóides a mais com $R_f = 0,10$ e $0,23$. É possível que essa diferença seja responsável pelo comportamento diferencial da aranha em relação a indivíduos capturados no campo e recém emergidos.

Os PAs dos Ithomiinae devem funcionar como precursores de substâncias ativas, não sendo "per se" responsáveis pela defesa. Neste caso pode ser que *Tithorea harmonia* recém emergida não tenha ainda biossintetizado a partir dos PAs os derivados necessários para estimular a resposta da aranha, ou a quantidade biossintetizada seja insuficiente.

3.3. Experimentos com *Mechanitis lysimnia*.

BROWN (1985) sugere que derivados instáveis ou voláteis de PAs estejam envolvidos na atividade defensiva. ROTHCHILD et al. (1984) sugerem que pirazinas, além de cardenolídeos, podem estar associadas à defesa química de Danainae. BROWN (1985) mostrou que o ithomiíneo *Pseudoscada erruca* recém emergido, e portanto sem PAs, após consumir aproximadamente 400 µg de

equinatina N-óxido em solução açucarada, era liberado por *Nephila clavipes* somente a partir de 1 hora após a ingestão dos PAs; antes desse intervalo de tempo o lepidóptero era predado.

No experimento similar utilizando *Mechanitis lysimnia*, verificou-se que somente duas horas após a ingestão do alcalóide é que os indivíduos eram rejeitados (Fig. 27). Alguns indivíduos predados apresentavam às vezes quantidades de PAs semelhantes à indivíduos rejeitados. O alcalóide deve estar sendo "trabalhado" fisiologicamente pelo lepidóptero de duas maneiras: 1. produzindo derivados biologicamente ativos contra predação, e 2. deslocando PAs até os tegumentos onde, mais concentrados, seriam responsáveis contra predação. Entretanto, BROWN (1985) não encontrou diferenças na concentração de PAs entre o tegumento e o conteúdo interno do tórax e abdome, nas espécies *Mechanitis polymnia* e *Ithomia agnosia*.

Larvas de *Mechanitis lysimnia* incorporaram PAs aplicados topicamente em suas plantas hospedeiras (TRIGO & MOTTA, 1986), mas adultos são predados por *Nephila clavipes* quando testados imediatamente após emergirem da pupa. Entretanto, indivíduos que tinham consumido altas quantidades de PAs ($> 1000 \mu\text{g}$) durante a fase larval, quando testados 24 horas após emergirem, eram rejeitados, enquanto que o restante era predado (Trigo, não publicado). Eu acredito que os indivíduos recém emergidos de *Tithorea harmonia*, geralmente testados logo após emergirem ou no máximo depois de 24 horas, não tenham ainda produzido as substâncias ativas em quantidade suficiente para promover a resposta de rejeição e liberação em *Nephila clavipes*.

3.4. Aplicação tópica de alcalóides pirrolizidínicos.

A atividade dos PAs através de bioensaios com *Nephila clavipes*, por aplicação tópica em borboletas palatáveis do alcalóide extraído de plantas e adultos capturados no campo, deu resultados variáveis. Frações alcaloidais não purificadas de plantas apresentavam atividade somente quando em altas concentrações (ver o caso de *Eupatorium laevigatum* aplicado em diferentes concentrações - Tab. 32), enquanto que frações alcaloidais não purificadas de lepidópteros capturados no campo tinham atividade em quantidades menores. BROWN (1984; 1985) descreve que quantidades menores que 200 µg de PAs purificado mostram atividade variável. A Tabela 32 mostra que 140 µg de equinatina pura, extraída de *Eupatorium laevigatum*, apresentou um coeficiente de rejeição de apenas 60%, enquanto que 350 µg de licopsamina bruta, extraída de *Ageratum conyzoides*, apresentou um coeficiente de rejeição de 100%.

3.5. Ação de PAs em defesa química.

Assim como é variável a atividade contra predação por *Nephila clavipes* nos experimentos com adultos recém emergidos, talvez também o seja em adultos de populações naturais. Como PAs também são precursores de feromônios em Ithomiinae (EDGAR et al., 1976; PLISKE, 1975c; PLISKE et al., 1976), fica difícil isolar a importância dos PAs tão somente em relação a defesa química.

No caso de *Aeria olena* que geralmente não apresenta PAs ao emergirem da pupa, pergunta-se até que ponto os alcalóides seriam responsáveis pela defesa química, tanto em adultos recém emergidos quanto em adultos capturados no campo. Para a

elucidação da substância que confere proteção química para indivíduos recém emergidos de *Aeria olena* será necessário uma criação massiva de estágios imaturos, dando um número suficiente de indivíduos para análise química e bioensaios com *Nephila clavipes*.

No caso das espécies, *Tithorea harmonia* e *Mechanitis lysimnia*, PAs talvez representem em relação a aranha, um composto de defesa da Classe I, na definição de BROWER (1984), isto é, seriam venenosos em virtude de sua capacidade de drogar, irritar e/ou envenenar um predador individual. Entretanto, os PAs não estimulariam as reações de rejeição por parte da aranha. Derivados de PAs (lactonas, ácidos esterificantes, diidropirrolizinas) ou talvez produtos metabólicos destes derivados seriam o que Brower chamou de defensivos químicos da Classe II, isto é, compostos inócuos quanto a sua toxidez, entretanto atuando como estímulos desagradáveis para os receptores do predador. Logicamente pode-se supor que estes derivados poderiam também pertencer as Classes I e II simultaneamente.

Parece possível que indivíduos de *Mechanitis lysimnia* experimentalmente alimentados com PAs e indivíduos recém emergidos de *Tithorea harmonia*, apesar de apresentarem PAs, poderiam possuir pouca ou nenhuma quantidade de compostos da Classe II, permitindo sua aceitação por parte da aranha.

3.5.1. Observações, experimentos, hipóteses e críticas.

Faço aqui alguns comentários quanto ao estudo do papel dos PAs na defesa química dos Ithomiinae. O primeiro deles é de cunho metodológico: testes de palatabilidade, aplicando-se PAs topicamente em borboletas palatáveis, podem incorrer em erros consideráveis.

PAs são compostos instáveis que sofrem modificações estruturais um tempo após seu isolamento. Algumas frações alcaloidais apresentaram uma mancha adicional um ano após seu fracionamento. Portanto, não se têm idéia se estes metabólitos influenciam ou não no comportamento da aranha.

Quando alcalóides ou frações são aplicados topicamente não há certeza se a quantidade separada em laboratório foi realmente aplicada na borboleta palatável. Neste caso quantidades consideráveis de PAs podem ser perdidas, incorrendo em erros de avaliação.

Na aplicação de frações alcaloidais não purificadas, há uma série de outros compostos presentes, além de PAs. Estas substâncias podem influir no comportamento da aranha e/ou mascarar ou potencializar a ação dos PAs. A aplicação tópica de PAs, imediatamente após sua purificação ou síntese, e a recuperação do inseto testado para avaliar a quantidade do alcalóide presente, podem diminuir as variações técnicas-metodológicas do experimento. Entretanto, a incorporação direta de PAs e seus derivados por adultos ou larvas (TRIGO, em preparação) é que deve levar à substância biologicamente ativa contra predação pela aranha.

O segundo comentário aborda o aspecto ecológico. Além das implicações biológicas e químicas de PAs e seus derivados na proteção de Ithomiinae contra predação por *Nephila clavipes*, pergunta-se: "quais pressões seletivas levaram alguns grupos de lepidópteros a se tornarem aptos a assimilarem PAs?". "Seria a predação por *Nephila* um dos fatores responsáveis por esta capacidade de assimilação?". "Ou será que a aquisição da capacidade de assimilação de PAs foi selecionada independente deste predador?"

BOPPRE (1978) argumenta que indivíduos ancestrais que tivessem a capacidade de adquirir PAs de fontes de néctar seriam selecionados favoravelmente contra predadores orientados visivelmente, evoluindo posteriormente a coloração de advertência.

Ithomia pellucida Weymer foi rejeitada na maioria das vezes (85%) quando oferecida para gralhas azuis (*Cyanocitta cristata bromia* Oberhalser) (BROWER & BROWER, 1964). HABER (1978) verificou em laboratório que nove espécies de pássaros rejeitaram significativamente adultos de Ithomiinae (21 indivíduos comidos - 13 espécies em 8 gêneros), sendo que um dos pássaros morreu após comer 6 indivíduos. Há alguns relatos na literatura de predação de Ithomiinae por pássaros na natureza. BROWN & VASCONCELLOS-NETO (1976) verificaram indivíduos de três espécies de Ithomiinae sendo predados pelo pássaro *Pipraeidea melanonota*. É interessante notar que os pássaros só se alimentaram do conteúdo interno do abdome, como se o restante do corpo da borboleta fosse impalatável. HABER (1978) observou um tiranídeo comendo um ithomiíneo transparente.

Os PAs também são utilizados por Ithomiinae como precursores de feromônios, portanto independentemente da existência ou não de seleção de predadores, PAs foram selecionados sexualmente (ver hipótese de EDGAR, 1975). Machos de Danainae que não se alimentavam de PAs, não apresentavam feromônios sexuais (SCHNEIDER, 1977) e por isso tinham o seu sucesso de corte reduzido (SCHNEIDER et al., 1975).

Eu não acredito que predação por *Nephila clavipes*, ou qualquer outro predador orientado quimicamente, em ancestrais de Ithomiinae, tenha sido o fator responsável pela seleção de PAs nesses lepidópteros. A coloração de advertência e o complexo mimético mülleriano dos Ithomiinae descartam a possibilidade dos PAs terem sido selecionados por um predador quimicamente orientado. A resposta refratária da aranha com relação aos Ithomiinae deve ser acidental, e posterior a seleção do PAs nesses lepidópteros. Entretanto, o comportamento de tanatose característico de Ithomiinae, quando lançados na teia de *Nephila clavipes*, pode ter evoluído em resposta à aranha.

A coloração de advertência e o mimetismo mülleriano evoluíram nos Ithomiinae devido a pressão de predadores vertebrados, em função da capacidade desses lepidópteros em armazenarem substâncias tóxicas e desagradáveis para este tipo de predadores. As borboletas que possuíam substâncias desagradáveis eram liberados, sendo selecionados individualmente. Posteriormente predadores aprenderam a evitar o padrão de coloração dos indivíduos que apresentavam estas substâncias. No caso de indivíduos apresentando somente substâncias tóxicas, mas não desagradáveis, a seleção se daria por seleção de parentesco,

caso indivíduos aparentados se distribuíssem em áreas próximas e não tivessem grande dispersão (BENSON, 1971). O predador ao ingerir um indivíduo com substância tóxica teria sensações desagradáveis posteriores e associaria estas sensações com a coloração do indivíduo ingerido.

Vertebrados orientados visualmente são predadores potenciais de borboletas, podendo funcionar como agentes seletivos na evolução da impalatabilidade e mimetismo nestes insetos. BOYDEN (1976) verificou que lagartos da espécie Ameiva ameiva aprendem a evitar borboletas impalatáveis *Heliconius erato* e *H. melpomene* (Nymphalidae), enquanto predam *Anartia fatima*, um ninfalíneo palatável. EHRLICH & EHRLICH (1982) observaram que lagartos iguanídeos da espécie *Tropidurus torquatus* alimentavam-se de *Dynamine* sp., *Eunica margarita*, *Callicore hydaspes*, *Marpesia chiron*, *M. petreus*, *Dione juno* (Nymphalinae) e mais três espécies não identificadas, mostrando maior interesse por *Callicore hydaspes*. Entretanto, borboletas do gênero *Heliconius* não estimulavam qualquer reação de ataque no lagarto, mesmo quando voavam a menos de um metro do mesmo. Saguís da espécie *Leontopithecus rosalia* rejeitavam *Heliconius erato* e os ithomiíneos *Ithomia drymo* e *Methona themisto* (COIMBRA-FILHO, 1981).

Portanto, experimentos com vertebrados visualmente orientados poderiam definir se além de PAs, substâncias sequestradas da planta hospedeira seriam efetivas contra predação. O sistema de defesa química de Ithomiinae contra vertebrados visualmente orientados poderia ser análogo ao dos Danainae, onde cardenolídeos sequestrados da planta hospedeira

são efetivos na defesa contra pássaros (BROWER et al., 1967), mas são ineficientes na proteção destes lepidópteros contra predação por *Nephila clavipes* (TRIGO, em preparação).

CONCLUSÕES.

1. As variações em tamanho das populações de *Aeria olena* e *Tithorea harmonia* devem estar associadas a fenologia de suas respectivas plantas hospedeiras, que por sua vez são reguladas por fatores climáticos.
2. A estrutura etária das populações das duas espécies parece ajustada a fenologia das suas plantas hospedeiras e ao padrão climático.
3. A maior proporção de machos capturados, em relação a fêmeas, na população de *Aeria olena* reflete o comportamento alimentar diferenciado entre machos e fêmeas.
4. Machos de *Aeria olena* são mais frequentes do que fêmeas em fontes de néctar com PAs porque necessitam do alcalóide para síntese de feromônios e não sequestram PAs de sua plantas hospedeira. Ambos os sexos de *Tithorea harmonia* visitam raramente fontes de néctar com PAs pois sequestram o alcalóide de sua planta hospedeira.

5. A ordem de preferência por diferentes fontes de PAs em machos de *Aeria olena* deve estar ligada a abundância destas fontes. Recursos mais abundantes são preferidos aos menos abundantes.

6. Plantas com PAs devem ter coevoluído juntamente com o sistema Ithomiinae/plantas hospedeiras.

7. O aumento ou diminuição da quantidade média mensal de PAs/indivíduo em machos de *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia* é reflexo da abundância ou escassez de fontes de néctar com PAs.

8. As diferenças na quantidade de PAs entre machos e fêmeas em *Tithorea harmonia* e a ausência de diferenças em *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia* estão associadas com as duas dinâmicas de aquisição de PAs: 1. sequestro de PAs das plantas hospedeiras por ambos os sexos e transferência do alcalóide do machos para fêmea, que leva fêmeas a terem mais PAs do que machos, e 2. aquisição de PAs de fontes de néctar por machos e transferência do alcalóide para a fêmea, que leva a um balanceamento na quantidade de PAs entre os sexos.

9. PAs são precursores de substâncias biologicamente ativas na proteção das três espécies de Ithomiinae contra predação pela aranha *Nephila clavipes*.

RESUMO

Neste trabalho foram estudado vários aspectos da interação entre Ithomiinae e suas plantas hospedeiras da larva, pertencentes a subfamília Echitoideae (Apocynaceae), com realce na mediação química dos alcalóides pirrolizidínicos (PAs). A variação e função dos PAs nestes ithomiíneos também foi estudada.

As espécies estudadas foram: *Tithorea harmonia pseudethra* na região de Mogi-Guaçu, *Aeria olena olena* na região de Campinas e Serra do Japi, SP, Brasil. As plantas hospedeiras da larva destas duas espécies são *Prestonia acutifolia* e *P. coalita*, respectivamente. Para comparação com um ithomiíneo cuja larva se alimenta de Solanaceae, foi estudado *Mechanitis polymnia casabranca* na região de Campinas. A planta hospedeira desse ithomiíneo é *Solanum paniculatum*, além de outras espécies de *Solanum*.

As variações do tamanho populacional de *Aeria olena* e *Tithorea harmonia* têm padrão semelhante. Um alto número de indivíduos ocorre no período úmido de março a maio. O tamanho populacional decresce em junho/julho no período seco, voltando a aumentar somente em fevereiro/março do ano seguinte. Estas populações parecem ser reguladas pela disponibilidade de plantas hospedeiras, que por sua vez têm suas fenologias associadas ao clima.

Machos de *Aeria olena* visitam fontes de néctar com PAs mais frequentemente do que outras fontes de néctar. Machos desta espécie também visitam fontes de néctar com PAs mais frequentemente que fêmeas. Ambos os sexos de *Tithorea harmonia* raramente visitam fontes de néctar com PAs.

Machos de *Aeria olena* visitam em ordem decrescente as seguintes fontes de néctar com PAs: *Eupatorium maximiliani*, *Heliotropium transalpinum* e *Ageratum conyzoides*. Observações qualitativas verificaram também que *Mechanitis* raramente visitam *Heliotropium transalpinum* e *Ageratum conyzoides*.

A quantidade média mensal de PAs/indivíduo é baixa nas populações de *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia* quando as fontes de néctar com PAs são raras ou inexistentes, e altas quando estas fontes são abundantes. Em *Tithorea harmonia* a quantidade média mensal de PAs/indivíduo deve ter relação com a variação mensal de PAs em suas plantas hospedeiras.

A população de *Tithorea harmonia* apresentou diferenças significativas na quantidade de PAs entre machos e fêmeas, enquanto que as populações de *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia* não. Isto deve estar associado com a diferença na dinâmica de aquisição de PAs entre estas espécies. Machos de *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia* adquirem PAs das fontes de néctar e transferem parte do alcalóide para fêmeas por ocasião da cópula, além de transformarem parte dos PAs em feromônios. Esse mecanismo deve levar a um balanceamento na quantidade de PAs entre os sexos. No caso de *Tithorea harmonia* o mesmo processo deve levar a um acúmulo de PAs em fêmeas, já que ambos os sexos sequestram PAs de suas plantas hospedeiras.

A quantidade de PAs/indivíduo entre populações de *Aeria olena* não apresenta diferenças significativas. Entre espécies, *Tithorea harmonia* apresenta uma concentração de PAs menor do que *Aeria olena* e *Mechanitis polymnia*.

Não se verificou diferenças significativas na quantidade de PAs/indivíduo entre as classes etárias das três espécies.

A distribuição de PAs em diferentes partes do corpo nas três espécies apresenta tórax e abdome com uma maior concentração de PAs do que cabeça e asas. Estruturas sexuais de machos geralmente apresentam uma concentração relativa de PAs (em relação ao peso da parte do corpo analisada) maior do que o restante das partes do corpo.

Experimentos realizados com a aranha *Nephila clavipes* indicam PAs "per se" não são unicamente os responsáveis pela defesa química destes ithomiíneos contra a aranha.

ABSTRACT

Aspects of the interaction between Ithomiinae and larval host plants of subfamily Echitoideae (Apocynaceae) were studied, with emphasis on the chemical role of pyrrolizidine alkaloids (PAs). The function of the PAs in these ithomiine and their temporal and spacial variation were also studied.

The species studied were *Tithorea harmonia pseudethra* in the region of Mogi-Guaçu, and *Aeria olena olena* in Campinas and Serra do Japi, both in the state of São Paulo, Brazil. *Prestonia acutifolia* and *P. coalita* were the respective larval host plants of these two insects. *Mechanitis polymnia casabranca* was studied to provide a comparasion with a solanaceous feeding ithomiine. The larval host plants of the latter species are *Solanum paniculatum* and other *Solanum* species.

Aeria olena and *Tithorea harmonia* have a similar temporal pattern of variation in population size. Large populations are found under humid conditions from March to May. In June and July, during the dry season, population decrease and return to increase only in the following February and March. These populations seem to be regulated by larval host plant availability; changes in the phenology of larval host plants are associated with climatic cycles.

Males of *Aeria olena* visit in decreasing order the following sources of PAs: *Eupatorium maximilianum*, *Heliotropium transalpinum* and *Ageratum conyzoides*. Qualitative observations

showed that *Mechanitis* rarely visits *Heliotropium transalpinum* and *Ageratum conyzoides*.

The mean amounts of PAs/individual is low in *Aeria olena* and *Mechanitis polymnia* when sources of PAs were rare or non-existent, and high when sources were abundant.

The mean amounts of PAs/individual in *Tithorea harmonia* seem to be related to its seasonal variation in the larval host plant.

The mean amounts of PAs/individual was significantly different between males and females in a population of *Tithorea harmonia*. Such a difference did not occur in *Aeria olena* and *Mechanitis polymnia*. This may be associated with differences in the dynamics of PAs acquisition. *Aeria olena* and *Mechanitis polymnia* males acquire PAs from nectar sources and transfer a part of them to the female during mating, and transform a part in to pheromones. This mechanism should result in a balance in the amount of PAs between the sexes. This process could result in a net PAs accumulation in *Tithorea harmonia* females, since both sexes sequester PAs from the larval host plant.

The amount of PAs/individual did not differ significantly between populations of *Aeria olena*. *Tithorea harmonia* has a significantly lower concentration of PAs than *Aeria olena* or *Mechanitis polymnia*. The amounts of PAs in insects of different relative age of the three ithomiine species did not differ significantly.

The three species present a PA concentration significantly higher in the thorax and abdomen than in the head and wings. Sexual structures of males present a relative

concentration of PAs (in relation to weight) significantly higher than other parts of the body.

Tests made with the spider *Nephila clavipes* showed that PAs "per se" are not the only chemical defense of ithomiine butterflies against this predator.

B I B L I O G R A F I A

- ACKERY, P.R. (1987). The danaid genus *Tellervo* (Lepidoptera, Nymphalidae) - a cladistic approach. *Zool. J. Linn. Soc.*, 89:203-274.
- ACKERY, P.R. & R.I. VANE-WRIGHT (1984). *Milkeweed butterflies: their cladistics and biology*. British Museum (Natural History), London, ix + 425 pp.
- AIKAT, B.K.; V.L. PANDIT; A.D. GUPTA; S.R. PAL; S. SEHGAL; A.G.S. PATHANIA; P.N. CHUTTANI & D.V. DATTA. (1979). *Indian J. Med. Res.*, 70:105 apud D.J. ROBINS (1981). *Pyrrolizidine Alkaloids*, In "The Alkaloids" vol. 11, The Royal Society of Chemistry, London, pp.44-58.
- ANDREWARTHA, H.G. & L.C. BIRCH (1954). *The distribution and abundance of animals*. Univ. of Chicago Press, Chicago. 782 pp.
- APLIN, R.T. & M.R. ROTHCHILD (1972). Poisonous alkaloids in the body tissues of the garden tiger moth (*Arctia caja* L.) and the cinnabar moth (*Tyria* (=Callimorpha) *jacobaeae* L.) (Lepidoptera). In "Toxins of Animal and Plant Origin". Eds. A. DeVries & K. Kochva, Gordon & Breach, pp. 579-595.

- BATES, H.W. (1862). Contributions to an insect fauna of the Amazon valley, Lepidoptera: Heliconidae. Trans. Linn. Soc. Lond., 23:495-506.
- BENN, M.; J. De GRAVE; C. GNANASUNDERAM & R. HUTCHINS (1979). Host-plant pyrrolizidine alkaloids in *Nyctemera annulata* Boisduval: their persistence through the life cycle and transfer to a parasite. *Experientia*, 35:731-732.
- BENSON, W.W. (1971). Evidence for the evolution of unpalatability through kin selection in the Heliconiinae (Lepidoptera). *Am. Nat.*, 105:213-226.
- BINGLEY, J.B. (1968). Solvent and temperature effects in the determination of pyrrolizidine alkaloids with 4-dimethylaminobenzaldehyde. *Anal. Chem.*, 40:1166-1167.
- BLAU, P.A.; P. FEENY; L. CONTARDO & D.S. ROBSON (1978). Allylglucosinolates and herbivorous caterpillars: a contrast in toxicity and tolerance. *Science*, 200:1296-1298.
- BOPPRE, M. (1978). Chemical communication, plant relationships and mimicry in the evolution of danaid butterflies. *Ent. exp. & appl.*, 24:264-277.

- BOPPRÉ, M. & D. SCHNEIDER (1985). Pyrrolizidine alkaloids quantitatively regulate both scent organ morphogenesis and pheromone biosynthesis in male *Cretonotos* moths (Lepidoptera: Arctiidae). *J. Comp. Physiol. A*, 157:569-577.
- BORGES DEL CASTILHO, J.; A.G. ESPANA DE AGUIRRE; J.L. BRETÓN; A.G. GONZALES & J. TRUJILLO (1970). Loroquin, a new necine isolated from *Urechites karwinsky* Muller (1-hydroxy-methylene-7-keto-dihydropyrrolizidine). *Tetr. Lett.*, 15:1219-1220.
- BOYDEN, T.C. (1976). Butterfly palatability and mimicry experiments with *Ameiva* lizards. *Evolution*, 30:73-81.
- BOWERS, M.D. (1983). The role of iridoid glycosides in host-plant specificity of Checkerspot butterflies. *J. Chem. Ecol.*, 9:475-496.
- _____ (1984). Iridoid glycosides and host-plant specificity in larvae of the Buckeye butterfly, *Junonia coenia* (Nymphalidae). *J. Chem. Ecol.*, 10:1567-1579.
- BRATTSTEN, L.B. (1979). Biochemical Defense Mechanisms in Herbivores against Plant Allelochemicals. In "Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites". Eds. G.A. Rosenthal & D.H. Janzen. Academic Press, Inc., pp. 200-270.

BROWER, L.P. (1969). Ecological chemistry. *Scient. Am.*, 220:22-29.

----- (1984). Chemical Defense in Butterflies. In "The Biology of Butterflies". Eds. R.I. Vane-Wright & P.R. Ackery. Academic Press, Inc., pp. 111-134.

BROWER, L.P. & J.V.Z. BROWER (1964). Birds, butterflies and plant poisons: a study in ecological chemistry. *Zool., N.Y.*, 49:137-159.

BROWER, L.P. & S.C. GLAZIER (1975). Localization of heart poisons in the monarch butterfly. *Science*, 188:19-25.

BROWER, L.P. & C.M. MOFFITT (1974). Palatability dynamics of cardenolides in the monarch butterfly. *Nature*, 249:280-283.

BROWER, L.P.; J.V.Z. BROWER & J.M. CORVINO (1967). Plant poisons in a terrestrial food chain. *Proc. Nat. Acad. Scien.*, 57:893-898.

BROWER, L.P.; W.N. RYERSON; L.L. COPPINGER & S.C. GLAZIER (1968). Ecological chemistry and palatability spectrum. *Science*, 161:1349-1350.

BROWER, L.P.; P.B. McEVROY; K.L. WILLIAMSON & M.A. FLANNERY (1972). Variation in cardiac glycoside content of monarch butterflies from natural populations in Eastern North America. *Science*, 177:426-428.

BROWER, L.P.; M. EDMUNDS & C.M. MOFFITT (1975). Cardenolide content and palatability of a population of *Danaus chrysippus* butterflies from West Africa. *J. Ent. (A)*, 49:1183-196.

BROWER, L.P.; D.O. GIBSON; C.M. MOFFITT & A.L. PANCHEN (1978). Cardenolide content of *Danaus chrysippus* butterflies from three areas of East Africa. *Biol. J. Linn. Soc.*, 10:251-273.

BROWER, L.P.; J.N. SEIBER; C.J. NELSON; S.P. LYNCH & F.M. TUSKES (1982). Plant-determined variation in the cardenolide content, thin layer chromatography profiles, and emetic potency of monarch butterflies, *Danaus plexippus* reared on the milkweeds, *Asclepias eriocarpa* in California. *J. Chem. Ecol.*, 8:579-633.

BROWN, F.M. (1968). Richard Middleton Fox. *J. Lep. Soc.*, 22:192-195.

_____ (1975). An annotated entomological bibliography of Romualdo Ferreira D'Almeida (1891-1969). *J. Lep. Soc.*, 29:40-51.

BROWN, K.S., Jr. (1977a). Centros de evolução, refugios quaternários e conservação de patrimônios genéticos na região neotropical: padrões de diferenciação em Ithomiinae (Lepidoptera: Nymphalidae). Acta Amaz., 17:75-137.

----- (1977b). Geographical patterns of evolution in Neotropical Lepidoptera: differentiation of the species of Melinaea and Mechanitis (Nymphalidae, Ithomiinae). Syst. Ent., 2:161-197.

----- (1979). Ecologia Geográfica e Evolução nas Florestas Neotropicais. Tese de Livre Docência, UNICAMP, SP, xxxi + 265 pp + 120 pp apêndices.

----- (1980). A review of the genus Hypothyris Hubner (Nymphalidae), with descriptions of three new subspecies and early stages of H. daphnis. J. Lep. Soc., 34:152-172.

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

----- (1985). Chemical ecology of dehydropyrrolizidine alkaloids in adult Ithomiinae (Lepidoptera: Nymphalidae). Rev. Bras. Biol., 44:435-460.

- _____ (1987). Chemistry at the Solanaceae/Ithomiinae interface. *Ann. Miss. Bot. Gard.*, 74:
- BROWN, K.S., Jr. & R.F. D'ALMEIDA (1970). The Ithomiinae of Brazil (Lepidoptera: Nymphalidae). II. A new genus and species of Ithomiinae with comments on the tribe Dircennini D'Almeida. *Trans. Am. Ent. Soc.*, 96:1-17.
- BROWN, K.S., Jr. & W.W. BENSON (1974). Adaptative polymorphism associated with multiple Mullerian mimicry in *Heliconius numata*. *Biotropica*, 6:205-228.
- BROWN, K.S., Jr. & J. VASCONCELLOS-NETO (1976). Predation of aposematic ithomiine butterflies by tanagers (*Pipraeidea melanonota*). *Biotropica*, 8:136-141.
- BROWN, K.S., Jr.; A.J. DAMMAN & P. FEENY (1981). Troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) in Southeastern Brazil: natural history and foodplant relationships. *J. Res. Lep.*, 19:199-226.
- BROWN, K.S., Jr.; O.H.H. MIELKE & H. EBERT (1970). Os Ithomiinae do Brasil (Lepidoptera: Nymphalidae). I. *Prittwitzia* G.N. para *Ithomia hymenaea* Prittwitz e suas subespécies. *Rev. Bras. Biol.*, 30:269-273.

- CAMPOS, H. (1979). Estatística Experimental Não-Paramétrica. ESALQ, Piracicaba, SP, xxi + 342 pp.
- COIMBRA-FILHO, A.F. (1981). Animais predados ou rejeitados pelo Sauí-Piranga, *Leontopithecus r. rosalia* (L., 1766) na sua área de ocorrência primitiva (Callitrichidae: Primates). Rev. Bras. Biol., 4:717-731.
- COHEN, J.A. (1985). Differences and similarities in cardenolide contents of queen and monarch butterflies in Florida and their ecological and evolutionary implications. J. Chem. Ecol., 8:85-103.
- CRONQUIST, A. (1968). The evolution and classification of flowering plants. Ed. Houghton Mifflin Co., Boston, 369 pp.
- CULVENOR, C.C.J. (1978). Pyrrolizidine alkaloids - occurrence and systematic importance in angiosperms. Bot. Notiser, 131:473-486.
- CULVENOR, C.C.J. & L.W. SMITH (1966). The alkaloids of *Amsinckia* species: *A. intermedia* Fisch & Mey., *A. hispida* (Ruiz & Pav.) Johnst. and *A. lycopsoides* Lehm. Austr. J. Chem., 19:1955-1964.

CULVENOR, C.C.J.; J.A. EDGAR; L.W. SMITH & H.J. TWEEDDALE (1970).
Dihydropyrrolizidines. IV. Manganese dioxide oxidation of
1,2-dehydropyrrolizidines. Austr. J. Chem., 23:1869-1879.

D'ARCY, W.G. (1973). Flora of Panama. Family 170. Solanaceae.
Ann. Miss. Bot. Gard., 60:573-780.

DOMINGUEZ, X.A. (1977). Eupatorieae - chemical review. In The
Biology and Chemistry of The Compositae, vol. 1." Eds. V.H.
Heywood, J.B. Harborne & B.L. Turner. Academic Press, Inc.,
NY, pp. 487-502.

DRUMMOND III, B.A. (1976). Comparative Ecology and Mimetic
Relationships of Ithomiine Butterflies in Eastern Ecuador.
PhD Thesis, University of Florida, xvi + 361 pp.

----- (1986). Coevolution of ithomiine butterflies
and solanaceous plants. In "Solanaceae, Biology and
Systematics", Ed. W.G. D'Arcy, Columbia University Press, NY,
pp. 307-327.

DRUMMOND III, B.A. & K.S. BROWN Jr. (1987). Ithomiinae
(Lepidoptera: Nymphalidae): summary of known larval
foodplants. Ann. Miss. Bot. Gard., 74: 341-358.

- DUFFEY, S.S. (1980). Sequestration of plant natural products by insects. *Ann. Rev. Ent.*, 25:447-477.
- DUSSOURD, D.E.; K. UBIK; J.F. RESCH; J. MEINWALD & T. EISNER (1984). Egg protection by parental investment of plant alkaloids in Lepidoptera. In "XVII International Congress of Entomology", Hamburg, Germany.
- EDGAR, J.A. (1975). Danainae (Lep.) and 1,2-dehydropyrrolizidine alkaloid-containing plants - with reference to observations made in the New Hebrides. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 272:467-476.
- (1982). Pyrrolizidine alkaloids sequestered by Solomon Island Danainae butterflies. The feeding preferences of the Danainae and Ithomiinae. *J. Zool. Lond.*, 196:385-399.
- (1984). Parsonsieae: Ancestral Larval Foodplants of the Danainae and Ithomiinae. In "The Biology of Butterflies". Eds. P.A. Ackery & R.I. Vane-Wright, Academic Press, Inc., pp. 91-96.
- EDGAR, J.A. & C.C.J. CULVENOR (1975). Pyrrolizidine alkaloids in *Parsonsia* species (Family Apocyanaceae) which attract danaid butterflies. *Experientia*, 31:393-394.

- EDGAR, J.A.; C.C.J. CULVENOR & G.S. ROBINSON (1973). Hairpencil dihydropyrrolizines of Danainae from the New Hebrides. J. Austr. Ent. Soc., 12:144-150.
- EDGAR, J.A.; C.C.J. CULVENOR & T.E. PLISKE (1976). Isolation of a lactone structurally related to the esterifying acids of pyrrolizidine alkaloids from the costal fringes of male Ithomiinae. J. Chem. Ecol., 2:263-270.
- EDGAR, J.A.; M. BOFFRÉ & D. SCHNEIDER (1979). Pyrrolizidine alkaloid storage in African and Australian danaid butterflies. Experientia, 35:1447-1448.
- EDGAR, J.A.; N.J. EGGERS; A.J. JONES & G.B. RUSSEL (1980). Unusual macrocyclic pyrrolizidine alkaloids from *Parsonsia heterophylla* A. Cunn and *Parsonsia spiralis* Wall. (Apocynaceae). Tetr. Lett., 21:2657-2660.
- EHRLICH, P.R. & L.C. BIRCH (1967). The balance of nature and population control. Am. Nat., 101:97-107.

EHRlich, P.R. & A.H. EHRlich (1967). How to know the butterflies. Ed. W.M.C. Brown Co. Publishers, Dubuque, Iowa, 262 pp.

----- (1982). Lizard predation on tropical butterflies. J. Lep. Soc., 36:148-152.

EHRlich, P.R. & L.E. GILBERT (1973). Population structure and dynamics of the tropical butterfly *Heliconius ethilla*. Biotropica, 5:69-82.

EHRlich, P.R. & P.H. RAVEN (1965). Butterflies and plants: a study in coevolution. Evolution, 18:586-608.

EHRlich, P.R.; A.E. LAUNER & D.D. MURPHY (1984). Can sex be defined or determined? The case of a population of checkerspot butterflies. Am. Nat., 124:527-539.

EISNER, T. (1982). For love of nature: exploration and discovery at biological field stations. Bioscience, 32:321-326.

FEENY, P. (1970). Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. Ecology, 51:565-581.

- _____ (1975). Biochemical Coevolution between Plants and their Insect Herbivores. In "Coevolution of Animals and Plants". Eds. L.E. Gilbert & P.H. Raven. Univ. of Texas Press, Austin and London, pp. 3-19.
- _____ (1976). Plant apparency and chemical defense. In "Biochemical Interactions between Plants and Insects". Eds. J.W. Wallace & R.L. Mansell. Plenum Press, NY e London, pp. 1-40.
- FEENY, P.; L. ROSENBERRY & M. CARTER (1983). Chemical Aspects of Oviposition Behavior in Butterflies. In "Herbivorous Insects: Host-Seeking Behavior and Mechanisms". Ed. S. Ahmad. Academic Press, NY, pp. 27-76.
- FONZAR, L.P.C.M. (1987). Estudo Comparativo de Fenologia e Dinâmica de Duas Formações Florestais na Serra do Japi, Jundiaí, SP. Tese de Mestrado em Ciências Biológicas (Ecologia), Instituto de Biologia, UNICAMP, 233 pp.
- FOUNTAIN, M.E. (1911). Five months butterflies collecting in Costa Rica in summer of 1911. Entomologist, 46:189-194 apud L.E. GILBERT & P.R. EHRLICH (1970). J. Lep. Soc., 24:297-300.
- FOX, L.R. (1981). Defense and dynamics in plant-herbivore systems. Am. Zool., 21:853-864.

FOX, R.M. (1949). The evolution and systematics of the Ithomiidae (Lepidoptera). Univ. of Pittsburg, Bull., 45:1-12.

_____ (1967). A monograph of the Ithomiidae (Lepidoptera). Part III. The Tribe Mechanitini Fox. Am. Ent. Soc., Mem., 22:190 pp.

FOX, R.M. & H.G. REAL (1971). A monograph of the Ithomiidae (Lepidoptera). Part IV. The Tribe Napeogenini Fox. Am. Ent. Inst., Mem., 15:368 pp.

FRAENKEL, G.S. (1959). The raison d'être of secondary plant substances. Science, 129:1466-1470.

FRAHN, J.L. (1969). Paper electrophoresis of pyrrolizidine alkaloids. Austr. J. Chem., 22:1655-1661.

FRAHN, J.L.; C.C.J. CULVENOR & J.A. MILLS (1980). Preparative separation of the pyrrolizidine alkaloids intermedine and lycopsamine, as their borate complexes. J. Chromatogr., 195:379-383.

- FUTUYMA, D.J. (1983). Evolutionary Interactions among Herbivorous Insects and Plants. In "Coevolution". Eds. D.J. Futuyma & M. Slatkin. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA, pp. 207-231.
- GILBERT, L.E. & P.R. EHRLICH (1970). The affinities of the Ithomiinae and the Satyrinae (Nymphalidae). J. Lep. Soc., 24:297-300.
- GOSS, G.J. (1979). the interaction between moths and plants containing pyrrolizidine alkaloids. Environ. Ent., 8:487-493.
- GUPPY, L., Jr. (1895). Notes on some Trinidad butterflies. J. Trinidad Field Naturalists Club, Port of Spain, 2: 170-174 apud L.E. GILBERT & P.E. EHRLICH (1970). J. Lep. Soc., 24:297-300.
- HABER, W.A. (1978). Evolutionary Ecology of Tropical Mimetic Butterflies (Lepidoptera: Ithomiinae). PhD Thesis, Univ. of Minnesota, xii + 257 pp.
- HAIRSTON, N.G.; F.E. SMITH & L.B. SLOBODKIN (1960). Community structure, population control and competition. Am. Nat., 94:421-425.

- HARBORNE, J.B. (1977). Flavonoid Pigments. In "Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites". Eds. G.A. Rosenthal & D.H. Janzen, Academic Press, Inc., pp. 619-656.
- HERBERT, R.B. (1981). Biosynthesis. In "The Alkaloids", vol. 10, The Royal Society of Chemistry, London, pp. 1-15.
- HILL, R.K. (1970). Pyrrolidine, piperidine, pyridine and imadazoline alkaloids. In "Chemistry of the alkaloids". Ed. S.W. Pelletier, Van Nostrand Reinhold Co., NY., pp. 385-430.
- HIRONO, I.; M. HAGA; M. FUJII; S. MATSUURA; N. MATSUBARA; M. NAKAYAMA; T. FURUYA; M. HIKICHI; H. TAKANASHI; E. UCHIDA; S. HOSAKA & I. UENO (1979). J. Natl. Cancer Inst., 63:469 apud D.J. ROBINS (1981). Pyrrolizidine alkaloids. Em "The Alkaloids", vol. 11, The Royal Society of Chemistry, London, pp. 44-58.
- HUIZING, H.J.; F. DERDER & T.M. MALINGRE (1980). Chloranil, a sensitive detection for pyrrolizidine alkaloids on thin-layer chromatograms. J. Chromatogr., 195:407.
- KASTURI, T.E.; S.C. MANCHANDA; R.K. TANDON; M. RAJANI & M.L. BHATIA (1979). Br. Heart J., 41:594 apud D.J. ROBINS (1981). Pyrrolizidine alkaloids. Em "The Alkaloids", Vol. 11, The Royal Society of Chemistry, London, pp. 44-58.

- LAMAS, G. (1973). Taxonomia e evolução dos gêneros *Ithuna* Doubleday (Danainae) e *Paifitia*, gen. n., *Thyridia* Hubner e *Mefhona* Doubleday (Ithomiinae) (Lepidoptera: Nymphalidae). Tese de Doutorado em Biologia. Instituto de Biociências da USP, São Paulo, vii + 225 pp.
- LEETE, E. (1973). Biosynthesis of Alkaloids. In "Biosynthesis", vol. 2, The Chemical Society, London, pp. 106-182.
- LEVIN, D.A. (1976). The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. *Ann. Rev. Ecol. Sys.*, 7:121-159.
- LOPES, B.C. (1984). Aspectos da Ecologia de Membracídeos (Insecta: Homoptera) em Vegetação de Cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. Tese de Mestrado em Ciência Biológicas (Ecologia). Instituto de Biologia, UNICAMP, v + 112pp.
- LYNCH, S.P. & R.A. MARTIN (1987). Cardenolide content and thin-layer chromatography profiles of monarch butterflies, *Danaus plexippus* L., and their larval host-plant milkweed, *Asclepias viridis* Walt., in Northwestern Louisiana. *J. Chem. Ecol.*, 13:47-70.

MARSHALL, L.D. (1982). Male nutrient investment in the Lepidoptera: what nutrients showed males invest? Am. Nat., 120:273-279.

MATTOCKS, A.R. (1967a). Detection of pyrrolizidine alkaloids on thin-layer chromatograms. J. Chromatogr., 27:505-508.

----- (1967b). Spectrophotometric determination of unsaturated pyrrolizidine alkaloids. Anal. Chem., 39:443-447.

----- (1968). Spectrophotometric determination of pyrrolizidine alkaloids - some improvements. Anal. Chem., 40:1749-1750.

----- (1972). Toxicity and metabolism of Senecio alkaloids. In "Phytochemical Ecology". Ed. J.B. Harborne, Academic Press, pp. 179-199.

MEINWALD, J. & Y.C. MEINWALD (1966). Structure and synthesis of the major components in the hairpencil secretion of a male butterfly *Lycoreia ceres ceres* (Cramer). J. Am. Chem. Soc., 88:1305-1310.

MEINWALD, J.; Y.C. MEINWALD & P.H. MAZZOCCHI (1969). Sex pheromone of the queen butterfly: chemistry. Science, 164:1174-1175.

- MIELKE, O.H.H. & K.S. BROWN Jr. (1979). Suplemento ao Catálogo dos Ithomiidae Americanos (Lepidoptera) de Romualdo Ferreira D'Almeida (Nymphalidae: Ithomiinae). Centro de Recursos Audiovisuais da UFPr., Curitiba, Paraná, 216 pp.
- MOHANRAJ, S.; W. HERZ & P.S. SUBRAMANIAM (1982). Separation of diastereoisomeric pyrrolizidine alkaloids by chromatography on alkalised silica gel. J. Chromatogr., 238:530-534.
- MOLYNEUX, R.J. & J.N. ROITMAN (1980). Specific detection of pyrrolizidine alkaloids on thin-layer chromatograms. J. Chromatogr., 195:412.
- MONTEIRO, R.F. (1981). Regulação populacional de Ithomiinae (Lep.: Nymphalidae). Ecologia da Interação Parasitóide x Hospedeiro. Tese de Mestrado em Ciências Biológicas (Ecologia). Instituto de Biologia, UNICAMP, viii + 91pp.
- MORAIS, A.B.B. (1986). Interação entre Troidini (Lepidoptera: Papilionidae) e *Aristolochia* (Aristolochiaceae) em Campinas, SP. Tese de Mestrado em Ciências Biológicas (Ecologia). Instituto de Biologia, UNICAMP, viii + 154 pp.
- MULLER, F. (1878). Ueber die Vortheile der Mimicry bei Schmetterlinge. Zool. Anz., 1:54-55.

- _____ (1879). *Ituna* and *Thyridia*; a remarkable case of mimicry in butterflies. *Proc. R. Ent. Soc. London*, xx-xxix (Translation by R. Meldola).
- MUYSHONDT, A.; A. MUYSHONDT Jr. & P. MUYSHONDT (1976). Notas sobre la biología de lepidópteros de El Salvador I. *Rev. Soc. Mex. Lep.*, 2:77-90.
- NAHRSTEDT, A. & R.H. DAVIS (1981). The occurrence of the cyanoglucosides linamarin and lotaustralin in *Acraea* and *Heliconius* butterflies. *Comp. Biochem. Physiol.*, 68B:575-577.
- NELSON, C.J.; J.N. SEIBER & L.P. BROWER (1981). Seasonal and intraplant variation of cardenolide content in the California Milkweed, *Asclepias eriocarpa*, and implications for the plant defense. *J. Chem. Ecol.*, 7:981-1010.
- NOWICKE, J.W. (1970). *Flora de Panama. Part VIII. Apocynaceae.* *Ann. Miss. Bot. Gard.*, 57:59-130.
- OWEN, D.F. (1971). *Tropical Butterflies.* Claredon, Oxford, 214pp.
- PAECH, K. (1950). *Biochemie und Physiologie der Sekundären Pflanzenstoffe.* (Springer, Berlin) apud G.S. FRAENKEL (1959). *Science*, 129:1466-1470.

- PAIS, M.; F.X. JARREAU; P. FOUCHÉ & R. GOUTAREL (1971).
Adulteration of *Strophantus gratus* seeds. Alafine, a new
alkaloid isolated from the seeds of *Alafia* species and *Alafia*
multiflora (Apocynaceae). *Ann. Pharm. Fr.*, 29:57.
- PASTEELS, J.M.; J.C. GREGOIRE & M. ROWELL-RAHIER (1983). The
chemical ecology of defense in arthropods. *Ann. Rev. Ent.*,
28:263-289.
- PINHEIRO, C.E.G. (1987). Dinâmica Populacional e Áreas de Vida
de *Heliconius erato* e *Heliconius ethilla* (Lepidoptera,
Nymphalidae) em Campinas, SP. Tese de Mestrado em Ciências
Biológicas (Ecologia). Instituto de Biologia, UNICAMP, 104
pp.
- PLISKE, T.E. (1975a). Attraction of lepidoptera to plants
containing pyrrolizidine alkaloids. *Environ. Ent.*,
4:455-473.
- _____ (1975b). Pollination of pyrrolizidine alkaloid-
containing plants by male Lepidoptera. *Environ. Ent.*,
4:474-479.
- _____ (1975c). Courtship behavior and use of chemical
communication by males of certain species of ithomiine
butterflies (Nymphalidae: Lepidoptera). *Ann. Ent. Soc. Am.*,
68:935-942.

- PLISKE, T.E.; J.A. EDGAR & C.C.J. CULVENOR (1976). The chemical basis of attraction of Ithomiine butterflies to plants containing pyrrolizidine alkaloids. *J. Chem. Ecol.*, 2:255-262.
- REESE, J.C. (1979). Interactions of Allelochemicals with Nutrients in Herbivore Food. In "Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites". Eds. G.A. Rosenthal & D.H. Janzen. Academic Press, Inc., pp. 309-330.
- RHOADES, D.F. (1979). Evolution of Plant Chemical Defense against Herbivores. In "Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites". Eds. G.A. Rosenthal & D.H. Janzen. Academic Press, Inc., pp. 4-55.
- RHOADES, D.F. & R.G. CATES (1976). Toward a General Theory of Plant Antieerbivore Chemistry. Em "Biochemical Interaction between Plants and Insects. Eds. J.W. Wallace & R.L. Mansell. Plenum Press, NY & London, pp. 168-213.
- ROBINS, D.J. (1982). The Pyrrolizidine Alkaloids. *Fortschritte Ch. N.S.*, 41:115-203.
- ROBINSON, T. (1974). Metabolism and function of alkaloids in plants. *Science*, 184:430-435.

ROESKE, C.N.; J.N. SEIBER; L.P. BROWER & C.M. MOFFITT (1976).
Milkweed cardenolides and their comparative processing by
monarch butterflies (*Danaus plexippus* L.). *Rec. Adv. Phyt.*,
10:93-167.

ROTHSCHILD, M. (1973). Secondary plant substances and warning
colouration in insects. In "Insect/Plant Relationships". Ed.
H.F. van Emden. Symp. no 8, R. Ent. Soc. London, Blackwells,
Oxford, pp. 59-83.

ROTHSCHILD, M.; R.T. APLIN; P.A. COCKRUM; J.A. EDGAR; P.
FAIRWEATHER & R. LEES (1979). Pyrrolizidine alkaloids in
arctiid moths with a discussion on host plant relationships
and the role of these secondary plant substances in the
Arctiidae. *Biol. J. Linn. Soc.*, 12:305-326.

ROTHSCHILD, M.; B.F. MOORE & W.V. BROWN (1984). Pyrazines as
warning odour components in the Monarch butterfly *Danaus*
plexippus, and in moths of the genera *Zygaena* and *Amata*
(Lepidoptera). *Biol. J. Linn. Soc.*, 23:375-380.

ROTHSCHILD, M. & R. MUMMERY (1986). Carotenoids of butterflies
models and their mimics (Lep.: Papilionidae and Nymphalidae).
Biol. J. Linn. Soc., 28:359-372.

SAS (1985). SAS User's Guide, Version 5.0 Edition. Cary, NC: SAS
Institute, 956 pp.

- SASAKI, K. & Y. HIRATA (1970). The structures of two new zwitterionic alkaloids from *Anodendron affine* Druce. *Tetr. Lett.*, 1969:4065.
- SCHNEIDER, D. (1975). Chemical communication in danaid butterflies. In "Olfaction and Taste". Academic Press, Inc. pp. 327.
- _____ (1977). Plant alkaloids as pheromone precursors in danaid butterflies. In "Colloque Internationaux du C.N.R.S. - n° 265, Comportement des Insects et Milieu Trophique", Paris, France, pp. 353-356.
- SCHNEIDER, D.; M. BOPPRÉ; H. SCHNEIDER; W.R. THOMPSON; C.J. BORIACK; R.L. PETTY & J. MEINWALD (1975). A pheromone precursor and its uptake in male *Danaus* butterflies. *J. Comp. Physiol.*, 97:245-256.
- SCHNEIDER, D.; M. BOPPRÉ; J. ZWEIG; S.B. HORSLEY; T.W. BELL; J. MEINWALD; K. HANSEN & E.W. DIEHL (1982). Scent organ development in *Cretonotos* moths: regulation by pyrrolizidine alkaloids. *Science*, 215:1264-1265.
- SCOTT, J.A. (1985). The phylogeny of butterflies (Papilionoidea and Hesperioidea). *J. Res. Lep.*, 24:241-281.

SCRIBER, M.J. (1984). Host-plant suitability. In "Chemical Ecology of Insects". Eds. W.J. Bell & R.T. Cardé. Sianuer Associates, xii + 524 pp.

SEGALL, H.J. (1984). Recent chromatographic methods to isolate PA. J. Liq. Chromatogr., 7 (suppl. 2):377-392.

SEIBER, J.N.; L.P. BROWER; S.M. LEE; M.M. McCHESNEY; H.T.A. CHEUNG; C.J. NELSON & T.R. WATSON (1986). Cardenolide connection between overwintering monarch butterflies from Mexico and their larval food plants, *Asclepias syriaca*. J. Chem. Ecol., 12:1157-1170.

SEIGLER, D.S. & P.W. PRICE (1976). Secondary compounds in plants: primary functions. Am. Nat., 110:101-105.

SIEGEL, S. (1975). Estatística Não Paramétrica para Ciências do Comportamento. Ed. Mc Graw-Hill do Brasil, xvii + 350 pp.

SILVERSTEIN, R.M.; G.C.C. BASSLER & T.C. MORRILL (1979). Spectrometric Identification of Organic Compounds. John Wiley & Sons, Inc., NY, 340 pp.

SINCLAIR, A.R.E. (1975). The resource limitation of trophic levels in tropical grassland ecosystems. J. An. Ecol., 44:497-520.

- SLAMA, K. (1979). Insect Hormones and Antihormones in Plants. In "Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites". Eds. G.A. Rosenthal & D.H. Janzen, Academic Press, Inc., pp. 683-700.
- SLANSKY, F., Jr. & J.N. SCRIBER (1982). Food consumption and utilization. In "Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology". Eds. G.A. Kerkut & L.E. Gilbert. Pergamon Press. pp. 87-163.
- SMITH, L.W. & C.C.J. CULVENOR (1981). Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. J. Nat. Prod. (Lloydia), 44:129-152.
- SOKAL, R.R. & F.J. ROHLF (1979). Biometry. W.H. Freeman and Co, San Francisco, xxi + 776 pp.
- SOUTHWOOD, T.R.E. (1978). Ecological Methods with particular reference to the study of Insects Populations. Chapman & Hall, London, 524 pp.
- STAHL, E. (1888). Jena. Z. Med. Naturwiss., 22: 557-684 apud D.F. RHOADES (1979). Ecological and Evolutionary Process. In "Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites". Eds. G.A. Rosenthal & D. H. Janzen, Academic Press, Inc., pp. 4-55.

- TABASHNIK, B.E. (1987). Plant secondary compounds as oviposition deterrents for cabbage butterfly, *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). *J. Chem. Ecol.*, 13:309-316.
- TAKANASHI, H.; M. UMEDA & Y. HIRONO (1980). *Mutat. Res.*, 78:67 apud D.J. ROBINS (1981). Pyrrolizidine Alkaloids. In "The Alkaloids", vol. 11, The Royal Society Chemistry, London, pp. 44-58.
- TRIGO, J.R. (1984). Alcalóides pirrolizidínicos na proteção de *Hyalurga* sp (Lepidoptera: Arctiidae: Pericopinae) contra predação por *Nephila clavipes* (Araneidae). Resumos do IX Congresso Brasileiro de Zoologia, p. 104.
- TRIGO, J.R. & P.C. MOTTA (1986). Implicações evolutivas da assimilação de alcalóides deidropirrolizidínicos (PA) por larvas de Ithomiinae (Lepidoptera: Nymphalidae). Resumos da VII Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares.
- VASCONCELLOS-NETO, J. (1980). Dinâmica de Populações de Ithomiinae (Lep., Nymphalidae) em Sumaré, SP. Tese de Mestrado em Ciências Biológicas (Ecologia). Instituto de Biologia, UNICAMP, iv + 206 pp.
- VASCONCELLOS-NETO, J. & T.M. LEWINSOHN (1984). Discrimination and release of unpalatable butterflies by *Nephila clavipes*, a neotropical orb-weaving spider. *Ecol. Ent.*, 9:337-344.

VIANNA, M.J.B. (1972). Contribuição à biologia de *Nephila clavipes* (L., 1767) (Aranae, Araneidae). Tese de Doutoramento em Biologia. Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, 154 pp.

YOUNG, A.M. (1972). On the life cycle and natural history of *Hymenotis nero* (Lepidoptera: Ithomiinae) in Costa Rica. *Psyche*, 79:284-294.

_____ (1973). The life cycle of *Dircenna relata* (Ithomiidae) in Costa Rica. *J. Lep. Soc.*, 27:258-267.

_____ (1974a). A natural historical account of *Oleria zelica pagasa* (Lepidoptera: Nymphalidae: Ithomiinae) in Costa Rica mountain rain forest. *Stud. Neotrop. Fauna*, 9:123-140.

_____ (1974b). On the biology of *Godyris zavaleta caesiopicta* (Lepidoptera: Nymphalidae: Ithomiinae). *Ent. News*, 85:227-238.

_____ (1974c). Notes on the biology of *Pteronymia notilla* (Ithomiidae) in a Costa Rica mountain-forest. *J. Lep. Soc.*, 29:257-268.

_____ (1978a). The biology of the butterfly *Aeria eurimedia agna* (Nymphalidae: Ithomiinae: Oleriini) in Costa Rica. *J. Kans. Ent. Soc.*, 51:1-10.

- _____ (1978b). Notes on the biology of the butterfly *Hypoleria cassotis* (Bates) (Nymphalidae: Ithomiinae) in Northeastern Costa Rica. *Brenesia*, 14-15:97-108.
- _____ (1979). On the evolutionary distance between asclepiadaceous-feeding danaid and apocynaceous-feeding Ithomiids. *J. Res. Lep.*, 18:251-254.
- YU, S.J. (1987). Microsomal oxidation of allelochemicals in generalist (*Spodoptera frugiperda*) and semispecialist (*Anticarsia gemmatilis*) insect. *J. Chem. Ecol.*, 13:423-436.
- WALTER, H. & H. LIETH (1960). Klimadisgram. In "Weltatlas", Jenna, Veb. Gustav. Fisher Verlag., 80 pp.
- WHITTAKER, R.H. & P. FEENY (1971). Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*, 171:757-770.
- WOLDA, H. (1978). Flutuactions in abundance of tropical insects. *Am. Nat.*, 112:1017-1045.
- WOODSON, R.E., Jr. (1930). Studies in the Apocynaceae I. A critical study of the Apocynoideae (with special reference to the genus *Apocynum*). *Ann. Miss. Bot. Gard.*, 17:1-212.

ZALKOW, L.H.; S. BONETTI; L. GELBAUM; M.M. GORDON; B.B. PATIL; A. SHANI & D. VANDERVEER (1979). Pyrrolizidine alkaloids from Middle Eastern plants. J. Nat. Prod. (Lloydia), 42:603-614.

ERRATA

- pg. 4. linha 4. onde lê-se ...FEENY, 1971). leia-se FEENY, 1971) ou sinomônios (NORDLUND & LEWIS, 1976).
- pg. 6. linha 4. onde lê-se ROITMAN leia-se ROITMAN
- pg. 8. a Fig. 1.7 não tem a dupla ligação no anel necínico.
- pg. 13. linha 2. onde lê-se mulleriano leia-se Mülleriano.
- linha 11. onde lê-se ...tribos. Ithomiinae... leia-se ...tribos. A subfamília Ithomiinae...
- pg. 14. linha 6. onde lê-se Patricia Athyrtis leia-se Patricia, Athyrtis.
- pg. 15. linha 2. onde lê-se meidadores interações leia-se mediadores de interações
- pg. 19. linha 8. onde lê-se fontes utilizadas por leia-se fontes alimentares e de alcalóides utilizadas por
- pg. 29. linha 8. onde lê-se WODSON leia-se WOODSON
- linha 11. onde lê-se Prestonia acutifolia Schum. leia-se Prestonia acutifolia (Benth ex Muell. Arg.) K.Schum.
- pg. 32. linha 1. onde lê-se (ganho) leia-se (ganhos)
- pg. 33. linha 2. onde lê-se à fontes leia-se a fontes
- pg. 37. linha 7. onde lê-se ...numa camara de iodo, transformando... leia-se numa câmara de iodo, aquecendo-se posteriormente, transformando...
- pg. 39. linha 11. onde lê-se espectrofotometro leia-se espectrofotômetro
- pg. 41. linha 2. onde lê-se moncesteres leia-se monoésteres
- pg. 45. linha 18. onde lê-se BIOENSSAIOS leia-se BIOENSAIOS
- pg. 46. linhas 8, 10 e 13. onde lê-se quiliceras leia-se quelíferas
- linha 9. onde lê-se rejeitada leia-se rejeitadas
- linha 10. onde lê-se enrolar leia-se enrolar
- pg. 66. onde lê-se ASTERACEA leia-se ASTERACEAE
- pg. 68. linha 14. onde lê-se Hesperidae leia-se Hesperiidae
- linha 16. onde lê-se dipteros leia-se dípteros
- pg. 74. linha 1. onde lê-se Epytyches leia-se Epityches
- linha 29. onde lê-se não sendo leia-se não foi
- pg. 76. onde lê-se 33,59 leia-se 3,59
- pg. 77. linhas 6, 13 e 18. onde lê-se o (CDCl_3) leia-se δ (CDCl_3)
- pg. 117. onde lê-se Miscelia leia-se Myscelia
- pg. 120. linha 5. onde lê-se crescimento leia-se crescimento

- pg. 120. linha 11. onde lê-se cíclica leia-se cíclica
- pg. 121. linha 26. onde lê-se espanções leia-se expansões
- pg. 122. linha 22. onde lê-se Aeria olena período leia-se Aeria olena no período
- pg. 124. linha 1. onde lê-se sabia-se leia-se observou-se
- linha 2. onde lê-se consuma leia-se consumiu
- pg. 127. linha 6. onde lê-se com o um número leia-se com um número
- pg. 130. linha 9. onde lê-se ...PAs)devem ter... leia-se ...PAs) deve ter...
- linha 19. onde lê-se mutualistica leia-se mutualística
- pg. 131. linha 2. onde lê-se voô leia-se voo
- pg. 134. linha 24. onde lê-se fequencia leia-se frequência
- pg. 135. linha 3. onde lê-se reinicio leia-se reinício
- pg. 137. linha 25. onde lê-se ...que se usa ... leia-se ...que usa...
- pg. 138. linha 18. onde lê-se hoppedeira leia-se hospedeira
- pg. 141. linha 24. onde lê-se fêmeas leia-se fêmea
- pg. 142. linha 23. onde lê-se ...no caso caso de flores... leia-se ...no caso de flores...
- pg. 144. linha 6. onde lê-se lar va leia-se larva
- linha 16. onde lê-se Heliconini leia-se Heliconiini
- pg. 148. linha 2. onde lê-se apresentava leia-se apresentavam
- linha 26. onde lê-se pde leia-se pode
- linha 27. onde lê-se estatistitica leia-se estatística
- pg. 151. linha 17. onde lê-se PAs leia-se Alcalóides Pirrolizidínicos
- pg. 153. linha 9. onde lê-se manchas adicionais leia-se mancha adicional
- pg. 154. linha 23. onde lê-se Piipraeidae leia-se Pipraeidae
- pg. 155. linha 25. onde lê-se aprederam leia-se aprenderam
- pg. 156. linha 27. onde lê-se poderia se leia-se poderia ser
- pg. 160. linha 9. onde lê-se Mogi-Gugu leia-se Mogi-Guaçu
- pg. 163. linha 4. onde lê-se ithomiine leia-se ithomiines
- linha 5. onde lê-se spacial leia-se spatial
- linha 11. onde lê-se comparasion leia-se comparison
- linha 17. onde lê-se population leia-se populations
- linha 18. onde lê-se ...return to increase only... leia-se ...increase again only...
- pg. 164. linha 7. onde lê-se ...related to its seasonal... leia-se ...related to seasonal...
- linha 16. onde lê-se in to leia-se into

pg. 164. linha 18. onde lê-se PAs leia-se PA
 linha 24. onde lê-se relatives age leia-se relative ages
 linha 27. onde lê-se torax leia-se thorax

pg. 166. linha 5. onde lê-se Milkweed leia-se Milkweed

pg. 170. linha 7. onde lê-se J.Ent. (A), 49:1183-196 leia-se J.Ent. (A), 49:1183-1196

pg. 172. linha 2. onde lê-se 74: leia-se 74:359-397.
 linha 8. onde lê-se Mullerian leia-se Müllerian
 linha 19. onde lê-se Ithomia leia-se Ithomya

pg. 173. linha 6. onde lê-se Biol., 4:717-731 leia-se Biol., 41:717-731
 linha 13. onde lê-se occurrence leia-se occurrence

pg. 174. linha 2. onde lê-se Dihydropyrrolizidines leia-se Dihydropyrrolizines

pg. 175. linha 12. onde lê-se Danainae leia-se Danaine

pg. 176. linha 2. onde lê-se rom leia-se from

pg. 178. linha 17. onde lê-se in summer leia-se in the summer

pg. 180. linha 8. onde lê-se (1979). the leia-se (1979). The
 linha 12. onde lê-se Naturalist s leia-se Naturalist's

pg. 181. linha 8. onde lê-se imadozoline leia-se imidazoline
 linha 16. onde lê-se detection for leia-se detection for reagent

pg. 182. linha 1. onde lê-se Ithuna leia-se Ituna

pg. 183. linha 5. onde lê-se chromaatogramn leia-se chromatograms

pg. 185. linha 8. onde lê-se Acrea leia-se Acraea
 linha 17. onde lê-se Claredon leia-se Clarendon

pg. 187. linha 18. onde lê-se Ch. N. S. leia-se Ch. Org. N. S.

pg. 188. linha 7. onde lê-se Blacwells leia-se Blackwells
 linha 18. onde lê-se butterflies leia-se butterfly

pg. 190. linha 11. onde lê-se compunds leia-se compounds

Errata da Fig. 5, pg. 24

