

# UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA



RENATO ROGNER RAMOS

**PADRÕES ALARES E EFEITOS DA FRAGMENTAÇÃO DE  
HABITAT NA ESTRUTURA GENÉTICA DE *HELICONIUS*  
*ERATO PHYLLIS* (FABRICIUS, 1775) (LEPIDOPTERA,  
NYMPHALIDAE, HELICONIINI)**

Este exemplar corresponde à redação final  
da tese defendida pelo(a) candidato (a)  
RENATO ROGNER RAMOS  
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Tese apresentada ao Instituto de  
Biologia da Universidade Estadual de  
Campinas para obtenção do título de  
Doutor em Ecologia.

Orientadora: Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini  
Co-orientador: Prof. Dr. Ronaldo Bastos Francini

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

**R147p**

Ramos, Renato Rogner  
Padrões alares e efeitos da fragmentação de habitat na estrutura genética de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera, Nymphalidae, Heliconiini) / Renato Rogner Ramos. – Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientadores: Vera Nisaka Solferini, Ronaldo Bastos Francini.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Borboleta - Ecologia. 2. Variabilidade genética. 3. População - Biologia. 4. Microssatélites (Genética). 5. Morfometria. I. Solferini, Vera Nisaka. II. Francini, Ronaldo Bastos. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

**Título em inglês:** Wings pattern and effects of habitat fragmentation on genetic structure of *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera, Nymphalidae, Heliconiini).

**Palavras-chave em inglês:** Butterfly - Ecology; Genetic variability; Population biology; Microsatellites (Genetics); Morphometry.

**Área de concentração:** Ecologia.

**Titulação:** Doutor em Ecologia.

**Banca examinadora:** Vera Nisaka Solferini, Louis Bernard Klaczko, Karla Suemy Clemente Yotoko, André Victor Lucci Freitas, Aldo Mellender de Araújo.

**Data da defesa:** 25/02/2010.

**Programa de Pós-Graduação:** Ecologia.

Campinas, 25 de fevereiro de 2010.

## BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini; (Orientadora)  
Depto. de Genética e Evolução e Bioagentes, IB, Unicamp

Assinatura

Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko  
Depto. de Genética e Evolução e Bioagentes, IB, Unicamp

Assinatura

Profa. Dra. Karla Suemy Clemente Yotoko  
Depto. de Biologia Geral, ESC, Universidade Federal de Viçosa

Assinatura

Prof. Dr. Woodruff Whitman Benson  
Depto. de Biologia Animal, IB, Unicamp

Assinatura

Prof. Dr. Aldo Mellender de Araújo  
Depto. de Genética, Instituto de Biociências, UFRGS

Assinatura

## SUPLENTES

Prof. Dr. André Victor Lucci Freitas  
Depto. de Biologia Animal, IB, Unicamp

Assinatura

Profa. Dra. Maria Imaculada Zucchi  
Instituto Agrônômico de Campinas

Assinatura

Prof. Dr. João Vasconcellos Neto  
Depto. de Biologia Animal, IB, Unicamp

Assinatura

## AGRADECIMENTOS

As inúmeras contribuições que recebemos, pequenas ou grandes, sempre preenchem lacunas e diminuem o peso que carregamos. A cada passo dado, portas que abrimos ou fechamos, sempre nos deparamos com pessoas que a partir de um pequeno momento tornam-se importantes em nossas vidas. Sinto por esse motivo receio de não poder relatá-las nessa oportunidade, mas vou tentar.

Aos meus familiares por acreditarem no meu potencial e conferirem apoio e calor humano. Ao meu filho por ser o motivo que me encoraja a continuar sempre nesse caminho. A minha companheira Tati Lú pelo apoio e compreensão durante os momentos em que distancias físicas nos separaram. Ao Prof. Dr. W. W. Benson, quase meu orientador, que teve a feliz idéia de me encaminhar ao departamento de genética e evolução, onde conheci a Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini, hoje minha orientadora. Obrigado Profa. Vera por ter me aceitado de braços abertos e por dar a oportunidade de trabalhar em sua equipe, isso me proporcionou grande prazer. Aos professores Dr. André Victor L. Freitas e Dr. Ronaldo Bastos Fancini, pelas constantes orientações ao longo de minha formação. Ao Prof. Dr. Keith Spalding Brown pela adorável companhia e hospitalidade antes e durante todos os anos do meu doutoramento e também a Ricardo Gabriel Mattos por me possibilitar tantas estadias. Obrigado ao Prof. Dr. Luís Carlos Bernacci pela identificação das espécies de Passiflora. Ao Prof. Dr. Paulo César Motta e Eduardo Emery pela ajuda e grande atenção durante os dias de coletas de campo em Brasília, DF.

A UFRGS na figura de Lucas Kaminski e a UFPE na figura de Carlos Eduardo Nobre pelo envio de material das respectivas regiões. Agradeço também a Danielle Lopes Bruno, por conseguir a liberação do acesso a área militar do Forte dos Andradas. Ao amigo Claudemir, por tantas sugestões e explicações sobre protocolos e análises moleculares de microssatélites. A todos os meus colegas do Laboratório de Diversidade Genética: Camila Macrini e Kaiser Schwarcz, Bruno Udelsman, Juliana José, Aluana Abreu, Evandro Moraes, Suzana Alcântara, Flávio Ramos, Karina Lucas, Tiago Porto Aranha, Flávia Fuchs, Rene A. Rocha, Murillo Lino Bution, Joice Bariani, Elen Paes. Muito obrigado pela atenção, paciência e idéias importantes. A Célia Bresil e Ricardo Destéfano, pelo apoio técnico, tantas sugestões e socorros. A CAPES, pelo apoio financeiro recebido, sem o qual não seria possível executar esse projeto.

“A criação não é um ato, mas sim, um processo; não aconteceu há cinco ou seis mil anos atrás, está acontecendo diante de nossos olhos. O homem não é obrigado a ser um simples espectador; pode se tornar um assistente, um colaborador, um parceiro no processo evolutivo.”

Theodosius Dobzhanski.

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL .....	01
OVERVIEW SUMMARY .....	01
INTRODUÇÃO GERAL .....	02

### CAPÍTULO I: Padrões Alares

1. INTRODUÇÃO .....	04
1.1. Variações geográficas .....	04
1.2. Variações locais .....	05
1.3. As variações na borboleta <i>Heliconius erato phyllis</i> .....	05
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	07
2.1. Espécies estudadas .....	07
2.2. Coletas .....	08
2.3. Diafanização .....	09
2.4. Venação das asas .....	09
2.5. Sítios .....	09
2.6. Variáveis climáticas e geográficas .....	11
2.7. Análise de dados .....	11
3. RESULTADOS .....	12
3.1. Comprimento das asas anteriores .....	12
3.2. Padrões de coloração nas asas .....	15
3.3. Formas, frequências e posições dos <i>red raylets</i> .....	20
3.4. Plantas Hospedeiras .....	21
3.5. Variações temporais no MRVT .....	22
4. DISCUSSÃO .....	23
4.1. Climas .....	23
4.2. Comprimento das asas anteriores .....	24
4.3. Crescimento adaptativo .....	27
4.4. <i>Red raylets</i> - formas e números .....	27
4.5. Coloração das asas .....	29
4.6. Plasticidade fenotípica e a diferenciação entre populações .....	33
4.7. Variação temporal no MRVT .....	34
5. CONCLUSÃO .....	35
APÊNDICE - Dados climáticos .....	36

### CAPÍTULO II: Efeitos da fragmentação e das latitudes sobre a estrutura genética das populações

1. INTRODUÇÃO .....	43
1.1. Fragmentação das populações .....	43
1.2. A distribuição de <i>Heliconius erato phyllis</i> .....	44
1.3. O efeito das hospedeiras na dispersão das populações de fitófagos.....	45
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	47
2.1. Espécie estudada, sítios, coletas e acondicionamento .....	47
2.2. Coleta temporal .....	47
2.3. Áreas e distâncias entre fragmentos florais .....	47
2.4. Extração de DNA .....	47
2.5. PCR, eletroforese e genotipagem .....	48
2.6. Análise dos dados .....	48

3. RESULTADOS .....	50
3.1. Análises espaciais .....	50
3.1.1. Microescala - Vale do Rio Quilombo.....	50
3.1.2. Escala regional – Baixada Santista .....	51
3.1.3. Macroescala – Brasil .....	53
3.1.4. Regiões .....	54
3.2. Análises temporais .....	56
3.3. Padrões de cores .....	57
4. DISCUSSÃO.....	59
4.1. Macroescala.....	59
4.1.1. Especialização alimentar, estruturação genética e dispersão .....	59
4.1.2. Variabilidade e diversidade genéticas e os efeitos da fragmentação .....	60
4.1.3. Regiões em escala continental .....	61
4.2. Escala regional – frgmentação e ação dos ventos .....	61
4.3. Microescala .....	65
4.4. Escala temporal - MRVT 2004 e 2006 .....	65
4.5. Colorações e diferenças genéticas .....	66
4.6. Fragmentos .....	66
5. CONCLUSÃO .....	67
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	68
1. Recursos alimentares .....	68
2. Conectividade .....	69
CONCLUSÕES GERAIS.....	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71
REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS.....	72

## RESUMO GERAL

Espécies com distribuições continentais podem ocupar várias zonas climáticas e diferentes vegetações, e forças seletivas locais podem gerar diferenças entre populações. A borboleta *Heliconius erato phyllis* possui esse tipo de distribuição e o teste G revelou diferenças significativas nos padrões de coloração das asas anteriores entre machos de diferentes regiões, mas não entre fêmeas. Melanismo, seleção sexual, atividade hormonal e predação podem estar envolvidos. O número de raios vermelhos nas asas posteriores apresentou correlação positiva com o comprimento das asas anteriores (CAA), mas exceções sugerem que tamanho e temperatura atuem como ativadores de hormônios que elevam a concentração de pigmentos para a formação dos raios. ANOVA demonstrou médias do CAA diferentes entre as populações, e o teste de Tukey apontou os maiores indivíduos em 3 sítios costeiros. Uma análise de componentes principais apontou altas temperaturas, pluviosidade e estabilidade climática como fatores ligados ao grande CAA. Esses fatores possivelmente contribuem com o crescimento de hospedeiras e com o desempenho larval. Técnicas moleculares usando marcador microsatélite foram aplicadas nas populações, em três escalas geográficas e uma temporal. Os resultados mostram grande variabilidade genética e populações sem isolamento por distância em escala continental. A reprodução é panmítica e os indivíduos possuem alta capacidade de dispersão mesmo entre fragmentos urbanos. Na escala temporal ocorreram diferenças estruturais moderadas, provavelmente devido a gargalos. Estudos em populações fragmentadas e de ampla distribuição ajudam a entender os efeitos do isolamento sobre a estrutura genética dessas populações e propor planos de manejo e conservação.

## OVERVIEW SUMMARY

Species with continental distribution can take several climatic zones and different vegetations, and local selective forces can generate differences among populations. The *Heliconius erato phyllis* butterfly has this kind of distribution, and the “G” test showed meaningful differences on forewing color-patterns among males from different regions, but not among females. Melanism, sexual selection, hormonal activity and predation may be involved. The number of red raylets on hindwing show positive correlation with forewing’s length (CAA), but exceptions suggest that size and temperature as triggers hormones that raise the concentration of pigments in the formation of raylets. The ANOVA showed different average on CAA among populations and the Tukey’s test showed greatest individuals on 3 coastline sites. A principal component analysis indicated high temperatures, rainfall and climatic stability as major factors responsible for the large CAA. These factors possibly contribute with the growth of host-plant and the larval performance. Molecular techniques using microsatellite marker were applied on populations under three geographic scales and one temporal scale. The results show has a great genetic variability and populations without isolation by distance on continental scale. The reproduction is panmitic and the individuals have high dispersal ability even among urban fragments. On the temporal scale occurred moderate structural differences; probably due to bottlenecks. Studies on widespread and fragmented populations, help to understand the effects of isolation over the genetic structure of populations, and propose management and conservation plans.

## INTRODUÇÃO GERAL

A distribuição de uma espécie em grande escala geralmente engloba vários climas e formações florestais e pode levar populações à estruturação genética com indivíduos fenotipicamente diferentes. As diferenças envolvem tamanho, forma, coloração e comportamentos específicos (Futuyma 2005). Além do clima (Windig & Lammar 1999), os mecanismos de seleção como predação e a seleção sexual podem atuar em uma escala mais fina, criando diferenças dentro de populações, dentro de uma raça ou entre os sexos (Mallet & Barton 1989; Estrada & Jiggins 2008). Observações em micro escala podem mostrar oscilações e prováveis tendências locais como rápidas respostas às forças evolutivas.

Por serem muito coloridas e dependerem das asas para rituais de corte (Joron 2005) e termorregulação (Berwaerts *et al.* 2001), as borboletas apresentam padrões alares que refletem muito bem alguns mecanismos de seleção. Durante o desenvolvimento larval, em função de efeitos climáticos e de recursos alimentares, esses organismos podem apresentar variações fisiológicas, sobretudo hormonais, que alteram os padrões alares nos adultos (Brakefield 2006).

As borboletas *Heliconius* apresentam grande diversidade de cores e padrões alares que variam entre regiões e anéis miméticos (Brown 1975, 1981). A espécie *H. erato*, possui 29 raças geográficas que ocupam florestas, savanas e jardins urbanos, do Texas até a Argentina e apresentam diversos padrões de coloração (Brown 1979; Baigts 1992). Naturalmente é uma espécie de boa capacidade de dispersão (Mallet 1986), sobretudo a subespécie *Heliconius erato phyllis*, que apresenta a mais ampla distribuição, desde áreas temperadas, tropicais, até equatoriais, além de diferentes formações florestais (Brown 1979). Dos padrões alares de *H. erato phyllis*, o número de pontos vermelhos nas asas anteriores (raios), parece sofrer alterações devido a fatores hereditários (Pansera e Araújo 1983) e climáticos sazonais (Araújo 1980; Araújo e Saalfeld 1981; Ramos e Freitas 1999), sobretudo das temperaturas, que podem ativar ou desativar hormônios responsáveis pela pigmentação (Brakefield *et al.* 1996; Zijlstra *et al.* 2004; Otaki 2007 a; Reed *et al.* 2008). Testes preliminares mostram que o número de raios também está diretamente correlacionado ao tamanho das asas, que por sua vez tem forte correlação com o peso da pupa (Bernays & Chapman 1994). Portanto, a qualidade das

hospedeiras contribui com a nutrição larval e também pode ter influência sobre o padrão de raios.

A estreita relação dos Heliconiini com as hospedeiras do gênero *Passiflora* (Gilbert 1975) pode ter efeitos sobre a dispersão dessas borboletas. Disponibilidade e distribuição das plantas provocam deslocamentos para novas áreas, resultando em efeitos fundadores (Oliver 2006) e criando diferenças na estrutura genética das populações. Os padrões de utilização de hospedeiras apresentados pela subespécie *H. erato phyllis* têm gerado discussões. De acordo com Benson (1978), essas borboletas são mais especializadas na região equatorial e tornam-se gradualmente generalistas em direção a região temperada. Não se sabe se essas populações possuem grande variabilidade genética e baixa estruturação, com indivíduos muito plásticos, capazes de usar hospedeiras de acordo com a disponibilidade local; ou se as populações estão geneticamente estruturadas, com diferenças comportamentais e fisiológicas suficientes para criar padrões de especialização ou generalização de acordo com a região.

A utilização de ferramentas genéticas poderá auxiliar no entendimento sobre a interação inseto-planta em diferentes populações e são excelentes materiais para investigações de processos evolutivos (Solferini & Selivon 2000). Desse modo, a aplicação de marcadores microssatélites, sensíveis a variações recentes, pode informar se distâncias geográficas ou fragmentação afetam a variabilidade e a estrutura genética dessas populações assim como da interação *H. erato phyllis*-*Passiflora*. Conhecimentos sobre a estrutura genética molecular das populações de *H. erato phyllis* poderá fornecer subsídios para cálculos de distanciamento genético e talvez a detecção de “novas subespécies”.

Os efeitos das variações climáticas, ao longo do tempo, e em diferentes escalas de distribuição geográfica, também podem fornecer importantes informações sobre os padrões de coloração das asas e tamanho dos indivíduos de cada região.

Os principais objetivos desse trabalho foram estudar os problemas envolvidos na diferenciação dos padrões alares e investigar se existe estruturação genética entre as populações de *H. erato phyllis* ao longo de sua distribuição.

# CAPÍTULO I: Padrões alares

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Variações geográficas

Estudos que abordam variação entre populações indicam que muitas espécies com ampla distribuição geralmente sofrem quebra no fluxo gênico entre populações distantes e até mesmo vizinhas, devido a barreiras físicas, climáticas ou ecológicas (Habel *et al.* 2009). De acordo com o grau de isolamento, populações da mesma espécie podem apresentar diferenças regionais na estruturação genética (Habel *et al.* 2009) e até no fenótipo (Stillwell & Fox 2009).

Distribuições continentais ao longo de gradientes climáticos geralmente evidenciam diferenciações entre populações (Krauss *et al.* 2004; Zakharov & Hellmann. 2008), envolvendo desde o tamanho, formas, coloração e até o comportamento dos indivíduos (Futuyma 2005). Essas distribuições podem formar zonas híbridas, transições abruptas, clinas ou mosaicos, sendo influenciadas por diferenças ambientais, genéticas, seleção natural e por características intrínsecas da espécie, criando as raças geográficas (Ridley 2006). Entretanto nem sempre as variações obedecem aos padrões tradicionais de distribuição, às vezes eles podem ocorrer mesmo dentro das raças e em níveis ainda menores dentro de uma população como entre os sexos (Stillwell & Fox 2009).

Os estudos em grandes escalas favorecem a detecção de diferenças morfológicas entre indivíduos de populações distintas. Portanto, organismos com distribuições em escalas continentais ao longo de variações geográficas e climáticas podem revelar novos padrões e contribuir para o entendimento dos mecanismos evolutivos que levam às diferenciações.

Geralmente as diferenças entre padrões populacionais bem definidos são vistas como processo evolutivo na escala de tempo atual, mas observações detalhadas em micro e macro escalas podem revelar outra dinâmica na distribuição e formação de padrões. Abordagens desse tipo podem mostrar oscilações e prováveis tendências locais como um rápido momento da história de evolução em nosso tempo que ainda não encontrou uma tendência clara.

## 1.2. Variações locais

Os padrões alares em borboletas tropicais africanas do gênero *Bicyclus* sp. (Nymphalidae: Satyrinae), revelam complexas, mas interessantes ligações entre a genética e o desenvolvimento dos organismos. Essas borboletas apresentam manchas ocelares nas asas cuja formação é controlada geneticamente. Variações sazonais na temperatura ambiental durante o desenvolvimento alteram as concentrações de hormônios nas larvas (Zijlstra *et al.* 2004), modificando a expressão gênica e, conseqüentemente, o fenótipo (Brakefield *et al.* 1996; Beldade & Brakefield 2002; Beldade *et al.* 2002; Beldade *et al.* 2005; Frankino *et al.* 2007). Os resultados são diferentes padrões de manchas ocelares ao longo das estações do ano (Brakefield 2006). Além disso, a seleção natural através de predadores visualmente orientados seleciona os padrões crípticos atacando as formas conspícuas (Stevens 2005). Borboletas que apresentam ocelos (fenótipo de estação úmida) perdem aptidão durante a estação seca, pois suas silhuetas tornam-se mais visíveis nesse ambiente praticamente monocromático formado por galhos e folhas secas no solo da floresta (Brakefield & Frankino 2007; Brakefield 2008). Por outro lado, durante a corte, a seleção sexual também atua e seleciona padrões alares com mais ocelos e cores mais atraentes (Joron & Brakefield 2003; Breuker & Brakefield 2002; Joron *et al.* 2006).

Polifenismo sazonal também pode ser observado em borboletas dos gêneros *Junonia* e *Vanessa* sendo que as variações locais não envolvem seleção por predadores ou diferenciação genética. Esse tipo de variação ocorre devido a atividades hormonais dependentes da temperatura, onde o clima pode causar alterações no desenvolvimento ontogenético e alterar a coloração das asas (Otaki 2007, 2008a e 2008b).

## 1.3. As variações na borboleta *Heliconius erato phyllis*

Os padrões de coloração das asas oferecem uma excelente ferramenta para estudo dos processos de evolução morfológica e especiação. Esses padrões podem ser drasticamente diferentes mesmo dentro de uma espécie, como exemplo o polifenismo mimético e não mimético em *Papilio dardanus*, *P. memnon* e *Hypolimnas bolina* (Nijhout 1991) e o polifenismo sazonal em *Araschnia levana*, que mesmo com genótipos iguais, apresentam padrões de coloração diferentes nas asas em resposta as condições ambientais (Windig & Lammar 1999). Os padrões de colorações das asas em borboletas estão relacionados a diversos fatores, entre eles a atração sexual (Joron 2005; Estrada & Jiggins 2008), termorregulação (Van

Dyck and Matthysen 1998; Berwaerts *et al.* 2001), proteção quando envolve modelos miméticos (Wickler 1968; Benson 1972; Brower 1984; Mallet & Barton 1989) ou homocromia (Wickler 1968; Forsman & Merilaita 2003) e até como resposta a variações ambientais (Resh & Cardé 2003; Beldade *et al.* 2005).

Na região Neotropical, as borboletas do gênero *Heliconius* são conhecidas por sua estreita relação com suas hospedeiras do gênero *Passiflora* (Spencer 1988); apresentam grande diversidade de padrões de coloração alar e participam de anéis miméticos complexos (Brown 1981; Sheppard *et al.* 1985). Essa grande diversidade de cores e padrões entre espécies de Heliconiini também ocorre dentro de uma mesma espécie, em diferentes regiões geográficas (Brown 1975, 1981) ou ao longo de períodos sazonais (Oliveira e Araújo 1992; Ramos & Freitas 1999).

Durante as décadas de 80-90, pesquisas realizadas no Rio Grande do Sul por Araújo (1980) e co-autores (Araújo e Saalfeld 1981), discutiram a variação no número de raios presentes nas asas posteriores (*red raylets* - RR) da borboleta *H. erato phyllis*. Durante as estações do ano em que as temperaturas são mais frias, as populações apresentam frequência modal em torno de três raios, e durante o verão a moda sobe para cinco (Oliveira e Araújo 1992). Além disso, a distribuição do número de raios parece envolver fatores hereditários, observados por Pansera e Araújo (1983).

Observações semelhantes foram feitas para populações de *H. erato phyllis* na região subtropical, no litoral da São Paulo, onde a população apresentou o mesmo padrão encontrado no sul (Ramos & Freitas 1999). Portanto, os RR têm sido positivamente associados à temperatura regional em que os indivíduos vivem, ou seja, quanto maior a temperatura, maior o número de RR. Acredita-se que de algum modo as temperaturas possam selecionar larvas com diferentes números de raios ou alterar a expressão do fenótipo (plasticidade fenotípica).

Entretanto, testes preliminares apontaram que sítios com frequências elevadas para o número de raios, também apresentavam elevados valores para o comprimento das asas anteriores (CAA). Essa relação também foi observada no Morro do Voturuá (São Vicente, SP) ao longo dos períodos sazonais, onde períodos quentes resultaram em asas maiores e maior número de raios, ao passo que nos períodos frios os padrões se inverteram (Ramos e Freitas, observações pessoais).

O tamanho da borboleta adulta depende de uma boa alimentação na fase larval, que envolve disponibilidade e qualidade de hospedeiras (Bernays & Chapman 1994; Baur *et al.* 1998; Rodrigues & Moreira 2004; Schoonhoven *et al.* 2005; Hay-Roe, M. M. 2008). Alterações na fisiologia e disponibilidade de hospedeiras podem afetar de forma diferente o desempenho das borboletas de acordo com o período sazonal em que são consumidas (Ramos 2003). Durante o desenvolvimento, elevações na temperatura, aumento das taxas de crescimento e do porte do indivíduo podem promover alterações fisiológicas (hormonais) e/ou físicas, criando condições para o surgimento de um maior número de raios.

A contagem do número de RR nem sempre é simples, pois alguns indivíduos apresentam RR quase unidos e/ou com morfologias variáveis (manchas, pontos, ovais ou traços). Se os RR são formados a partir de agregados que ficam concentrados em um ponto e se separam ao longo da ontogenia, deve haver uma relação positiva entre número de RR e tamanho das asas posteriores: quanto maior o comprimento das asas, maior o número de RR.

Encontrar um organismo que seja fácil de ser manipulado, que apresente características bem visíveis e distribuição continental, não é simples. *Heliconius erato phyllis* apresenta essas características e torna-se uma ferramenta de fácil utilização para esse tipo de estudo. As asas anteriores dessa subespécie também apresentam variações, que envolvem ausência ou presença de pontos cubitais e suas colorações. Além disso, a grande mácula vermelha das asas anteriores pode estender-se ou não até uma linha amarela longitudinal localizada no centro da asa, sendo bem visíveis e pouco variáveis.

O objetivo central desse trabalho foi estudar os problemas que estão envolvidos na distribuição dos padrões de coloração e dos tamanhos de uma subespécie de borboleta em uma distribuição geográfica continental e tentar buscar correlações com variáveis climáticas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Espécies estudadas

Foram coletadas amostras de adultos em 12 populações da borboleta *Heliconius erato phyllis* (figura 1) em diferentes regiões do Brasil durante os picos populacionais. Nos locais de coleta foram feitas observações sobre as espécies de plantas do gênero *Passiflora*, que são

utilizadas como hospedeiras larvais. Apenas as plantas que apresentaram ovos de *H. erato phyllis*, foram consideradas hospedeiras; as demais espécies de passifloras foram consideradas hospedeiras potenciais.



Figura 1. *Heliconius erato phyllis* alimentando-se em flores de *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae).

## 2.2. Coletas

A captura dos indivíduos adultos foi feita ao longo de trilhas e bolsões de mata, utilizando redes entomológicas. Foram amostrados 24-36 indivíduos por população, exceto para o sítio de Recife de onde foram obtidos apenas 10 indivíduos. Os adultos foram acondicionados em gaiolas e transportados ao laboratório onde foram mortos por congelamento e suas asas foram removidas para servirem como testemunho, os corpos foram conservados em frascos contendo dimetil sulfóxido (DMSO) ou etanol 95%.

Das asas anteriores foram obtidos o comprimento (mm) e os padrões envolvendo cor, presença e ausência de pontos cubitais. Além disso, foi anotado o número de raios presentes nas asas posteriores.

### **2.3. Diafanização**

As asas foram diafanizadas segundo o método aplicado em Borrer e coautores (2004), utilizando-se as seguintes etapas: 1) asas imersas em etanol (95%) – 5min; 2) asas imersas em solução saturada de NaCl - 15min; 3) banho em solução de HCl (10%) - 5min; 4) lavagem em NaClO até a perda das escamas e aquisição de transparência; 5) lavagem com água destilada.

### **2.4. Venação das asas**

O sistema de venação utilizado como referência, obedeceu à nomenclatura desenvolvida por Comstock-Needham (Miller 1969). Quatro indivíduos por população tiveram as asas fotografadas digitalmente com câmera Nikon coolpix L5 antes de serem diafanizadas e após a diafanização. As imagens foram comparadas utilizando-se o programa CorelDRAW® Graphics Suite 12 (Corel Corporation 2003), e ajustadas de modo que seus tamanhos e posicionamento fossem compatíveis para uma sobreposição entre elas. A sobreposição facilitou a comparação visual das formas, dos números de veias e da posição dos raios em indivíduos de diferentes populações.

### **2.5. Sítios**

Doze sítios foram escolhidos no Brasil, alguns ao longo da região costeira e outros no interior. Todos foram agrupados por similaridade de acordo com a classificação climática de Köppen (Peel *et al.* 2007) ou por proximidade. Os nomes, localizações, coordenadas, características geográficas e climáticas de cada sítio estão compilados na tabela 1 e figura 2.

Tabela 1. Coordenadas, número amostral (n) e características locais das diferentes regiões e sítios de coleta.

Município	Sítio	Coordenadas	Altitude	Clima	Vegetação local
Porto Alegre, RS	1- PALEG n = 30	30°3'59"S 51°7'39"W	110 m	Cfa	mosaicos de capoeiras, campos e fragmentos de Mata Atlântica em diferentes estádios de sucessão, matas aluviais, vegetação aquática (juncais e macrófitas) * <sup>1,2</sup>
Santos, SP	2- VRQI-1 n = 35	23°51'9"S 46°20'14"W	15 m	Af	floresta ombrófila submontana * <sup>3</sup>
	3- VRQI-2 n = 28	23°50'S 46°19'34"W	78 m	Af	floresta ombrófila submontana * <sup>3</sup>
	4- VRQI-3 n = 32	23°49'7"S 46°18'28"W	66 m	Af	floresta ombrófila submontana * <sup>3</sup>
	5- JAPUÍ n = 30	23°59'8"S 46°23'25"W	138 m	Af	floresta ombrófila submontana * <sup>3</sup>
São Vicente, SP	6- MRVT n = 60	23°57'35"S 46°21'43"W	109 m	Af	floresta ombrófila submontana * <sup>3</sup>
	7- FAND n = 38	24°1'56"S 46°16'53"W	9 m	Af	floresta ombrófila submontana * <sup>3</sup>
Jundiaí, SP	8- S. JAPÍ n = 40	23°13'54"S 46°56'7"W	1052 m	Cwb	floresta mesófila semidecídua * <sup>4</sup>
Carmo da Cachoeira, MG	9- CACH n = 26	21°29'46"S 45° 7'55"W	1046 m	Cwb	floresta estacional semi-decidual mata de galeria e de cerrado, plantações de café e pastos
Brasília, DF	10- BRAS n = 41	15°44'15"S 47°52'51"W	1010 m	Aw	bosques de <i>Pinus sp.</i> , eucaliptos e manchas de mata de cerrado
Recife, PE	11- RECIF n = 10	8°0'19"S 34°56'48"W	62 m	Am	floresta neotropical de terras baixas * <sup>5</sup>
Igarassu, PE	12- IGARA n = 24	7°47'9"S 34°56'34"W	49 m	Am	floresta subperenifólia e partes de floresta subcaducifólia * <sup>6</sup>

**Clima:** Am = monçônico; Af = tropical quente e úmido, chuvas bem distribuídas, inverno pouco seco e verão quente/úmido; Cfa = temperado úmido com verão quente; Cwb = tropical de altitude com inverno seco e verão temperado; Aw = tropical com estação seca de inverno, tipo savana. \*<sup>1</sup> = UFRGS 2003, \*<sup>2</sup> = Penter *et al.* 2008, \*<sup>3</sup> = Ururahy *et al.* 1987, \*<sup>4</sup> = Leitão Filho 1992, \*<sup>5</sup> = Barbosa *et al.* 2005, \*<sup>6</sup> = MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA 2005.

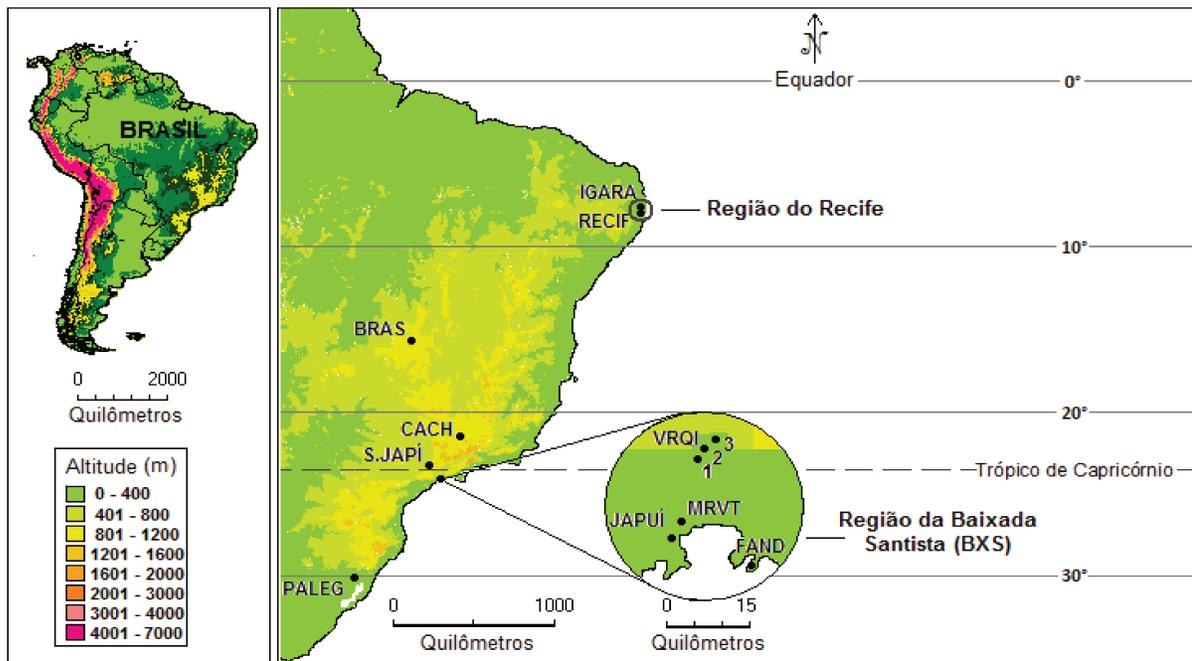


Figura 2. Regiões e locais de coletas (PALEG = Porto Alegre; S.JAPÍ = Serra do Japí; CACH = Carmo da Cachoeira; BRAS =Brasília; RECIF = Recife; IGARA = Igarassú) ao longo do território brasileiro, destacando em menor escala os 6 sítios da Baixada Santista (VRQI = Vale do rio Quilombo, setores 1, 2 e 3; JAPUÍ = Morro do Japuí; MRVT = Morro do Voturuá; FAND = Forte dos Andradas).

## 2.6. Variáveis climáticas e geográficas

Comparações entre as diferentes regiões envolvendo o CAA abordaram dados climáticos e características geográficas de cada sítio, obtidos a partir do software DIVA-GIS (Hijmans *et al.* 2005b). As variáveis utilizadas foram: T1 = média anual de temperatura; T2 = média mensal de variação de temperatura; T3 = isothermalidade  $(T2-T7)*100$ ; T4 = temperatura sazonal  $(DP*100)$ ; T5 = temperatura máxima do mês mais quente; T6 = temperatura mínima do mês mais frio; T7 = variação anual de temperatura  $(T5-T6)$ ; T8 = média de temperatura do quarto (trimestre) mais úmido; T9 = média de temperatura do quarto mais seco; T10 = média de temperatura do quarto mais quente; T11 = média de temperatura do quarto mais frio; P1 = pluviosidade; P2 = pluviosidade do mês mais úmido; P3 = pluviosidade do mês mais seco; CV = precipitação sazonal (coeficiente de variação); P4 = pluviosidade do quarto mais úmido; P5 = pluviosidade do quarto mais seco; P6 = pluviosidade do quarto mais quente; P7 = pluviosidade do quarto mais frio; [obtidas a partir do banco de dados WORLDCLIM v 1.4, no URL <http://www.worldclim.org/> segundo Hijmans *et al.* (2005)]. Alt = altitude (metros); Frq = tamanho do fragmento (Km<sup>2</sup>).

## 2.7. Análises de dados

Diferenças no CAA entre os sexos em cada região foram testadas utilizando-se ANOVA com um fator. As comparações dos valores de CAA entre as populações foram feitas utilizando ANOVA e o teste *a posteriori* de Tukey para amostras com tamanhos desiguais, usando o programa STATISTICA 7.0 (StatSoft© 2008).

Para comparar as frequências dos padrões de coloração das asas anteriores entre sítios de regiões diferentes, entre os períodos e entre os sexos, foi aplicado o teste “G” de Williams e os dados foram analisados através do programa BioEstat 5.0 (Ayres *et al.* 2007). A relação entre o CAA e o número de RR para cada indivíduo, foi testada através de uma análise de regressão linear utilizando uma amostra de 324 indivíduos.

Uma abordagem temporal, em um período de dois anos (2004 e 2006), foi aplicada na população do MRVT. Foram considerados variações nos padrões de coloração das asas, no número de raios e no CAA. Os testes estatísticos para esses conjuntos de dados obedeceram aos mesmos parâmetros das respectivas abordagens espaciais anteriormente citadas. Apenas para as

comparações envolvendo número de raios, onde as variáveis são categóricas, foi adotada a estatística não paramétrica, o teste de Kruskal-Wallis.

Ao conjunto de dados climáticos, geográficos e CAA, foi aplicada uma análise de componentes principais e de agrupamento, com o auxílio do programa STATISTICA 7.0 (StatSoft© 2008). Os dados foram transformados utilizando-se Box-Cox (Gotelli & Ellison 2004), as transformações indicadas para cada variável foram aplicadas pelo programa BioEstat 5.0 (Ayres *et al.* 2007) e o CAA foi assumido como variável dependente.

Para todos os testes estatísticos utilizados o nível de significância adotado foi  $\alpha = 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Comprimento das asas anteriores

De acordo com o teste “ANOVA um fator”, não há diferenças significativas do CAA entre os sexos ( $F = 3,1$ ;  $p = 0,076$ ). Dentro de cada região também não foram encontradas diferenças significativas entre os sexos; Baixada Santista ( $F = 2,69$ ;  $p = 0,099$ ), Serras do Sudeste+Sul ( $F = 0,26$ ;  $p = 0,61$ ) e Centro-oeste+Nordeste ( $F = 0,62$ ;  $p = 0,56$ ). A partir desse teste as amostras de machos e fêmeas dentro de cada sítio foram unidas.

A ANOVA apontou diferenças altamente significativas entre as médias para o CAA ( $F = 5,59$ ;  $p = 0,0000001$ ). A aplicação do teste *a posteriori* de Tukey, revelou que FAND, MRVT, VRQI3 e PALEG possuem indivíduos significativamente maiores que os demais grupos. Por outro lado, as populações BRAS, S.JAPÍ, CACH e IGARA apresentaram as médias mais baixas para o CAA que foram significativamente menores quando comparadas às demais populações da região costeira (FAND, MRVT, VRQI 3, PALEG, VRQI 1) (Tabela 2).

Tabela 2. Médias do comprimento das asas anteriores ( $\bar{X}$  CAA) em milímetros, entre as populações e grupos homogêneos (sem diferenças significativas - tons de cinza e preto) indicados pelo teste de Tukey, para  $p < 0,05$ ; MS = 6,5; DF = 344.

Populações	n amostral	$\bar{X}$ CAA (mm)	Grupos homogêneos para $p < 0,05$		
			1	2	3
S.JAPÍ	34	34.9	■	■	■
BRAS	41	35.2			
CACH	25	35.4			
IGARA	24	35.4			
JAPU	30	35.9			
VRQI2	28	35.9			
RECIF	10	35.9			
VRQI1	36	36.6			
PALEG	30	36.8			
VRQI3	32	36.9			
MRVT	31	37.3	■	■	■
FAND	34	38.4			

FAND = Forte dos Andradas; MRVT = Morro do Voturuá; VRQI = Vale do rio Quilombo setores 1, 2 e 3; PALEG = Porto Alegre; RECIF = Recife; JAPUÍ = JapuÍ; CACH = Carmo da Cachoeira; IGARA = Igarassú; BRAS = Brasília.

Obs.: Machos e fêmeas foram incluídos na mesma análise por não apresentarem diferença significativa para o CAA.

A análise multivariada de componentes principais indicou altas temperaturas como os principais fatores relacionados ao aumento do CAA, sendo T5 = Temperatura máxima do mês mais quente e T1 = Média anual de temperatura, as principais variáveis entre elas. T7 = variação anual de temperatura, foram negativamente relacionadas ao porte dos indivíduos. Entre as variáveis que envolvem pluviosidade, apenas P7 = pluviosidade do quarto mais frio, aparece com grande influência positiva em relação ao CAA.

Outras medidas de pluviosidade, tamanho do fragmento, altitude e CV não apresentaram uma relação direta ou inversa ao CAA (Figura 3).

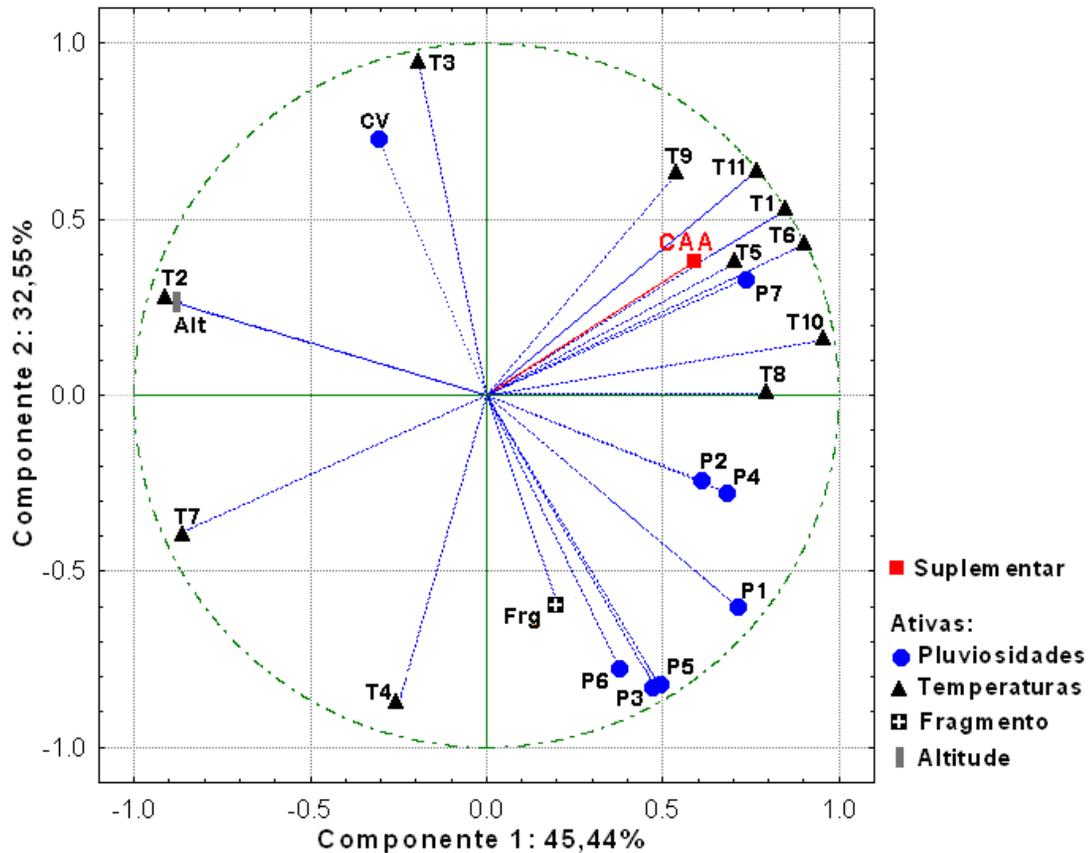


Figura 3. Análise de componentes principais envolvendo dados climatológicos como variáveis ativas [T1 = média anual de temperatura; T2 = média mensal de variação de temperatura; T3 = isothermalidade  $(T2-T7)*100$ ; T4 = temperatura sazonal  $(DP*100)$ ; T5 = temperatura máxima do mês mais quente; T6 = temperatura mínima do mês mais frio; T7 = variação anual de temperatura  $(T5-T6)$ ; T8 = média temperatura do quarto mais úmido; T9 = média de temperatura do quarto mais seco; T10 = média de temperatura do quarto mais quente; T11 = média de temperatura do quarto mais frio; P1 = pluviosidade; P2 = pluviosidade do mês mais úmido; P3 = pluviosidade do mês mais seco; CV = precipitação sazonal (coeficiente de variação); P4 = pluviosidade do quarto mais úmido; P5 = pluviosidade do quarto mais seco; P6 = pluviosidade do quarto mais quente; P7 = pluviosidade do quarto mais frio; Alt = altitude (metros); Frg = tamanho do fragmento ( $Km^2$ )] e o comprimento das asas anteriores (CAA) como variável suplementar em 12 sítios no Brasil.

Os seis sítios da Baixada Santista de clima “Af” foram positivamente correlacionados e ficaram muito próximos, indicando alta similaridade. Em outro grupo distante, de clima “Am”, reuniram-se RECIF e IGARA, também com grandes semelhanças entre si. Os sítios S.JAPÍ e CACH de clima tipo “Cwb”, PALEG de clima “Cfa” e BRAS “Aw” não formaram um grupo coeso. PALEG e BRAS ficaram distantes e em posições opostas, entre eles e com menor distanciamento entre si, apareceram CACH e S.JAPÍ, sendo que CACH ficou voltado para BRAS, e S. JAPI para PALEG no quadrante negativo (Figura 4).

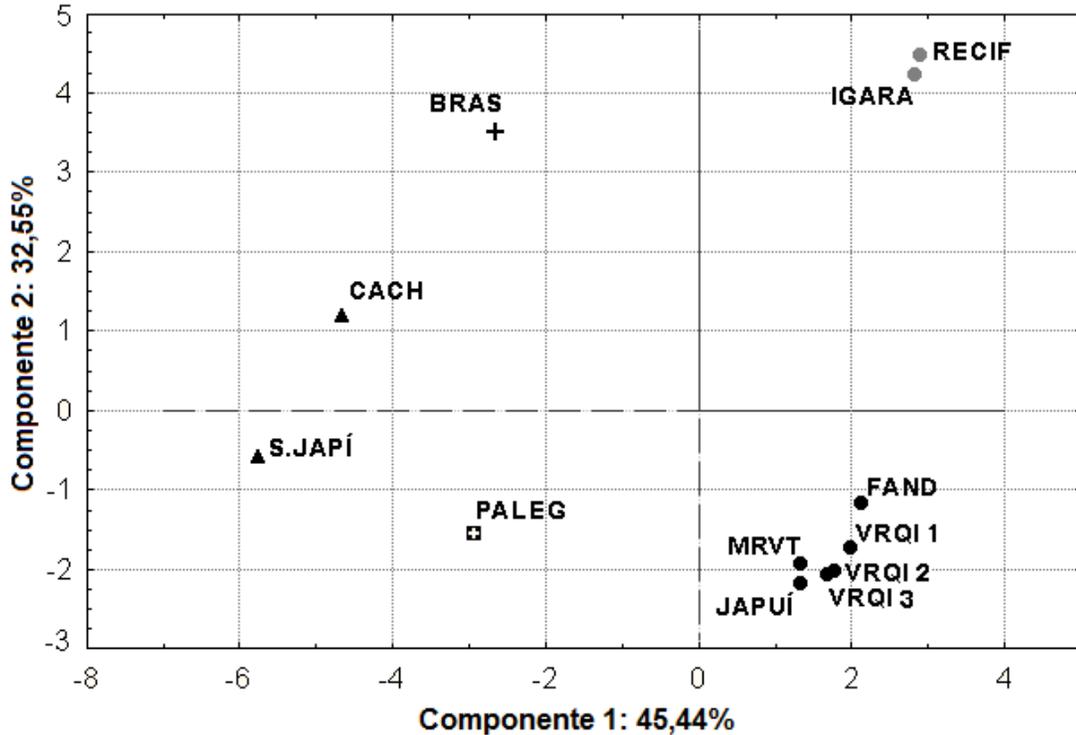


Figura 4. Agrupamento dos 12 sítios de diferentes regiões do Brasil (FAND = Forte dos Andradas; MRVT = Morro do Voturuá; VRQI = Vale do rio Quilombo setores 1, 2 e 3; PALEG = Porto Alegre; RECIF = Recife; JAPUÍ = Japuí; CACH = Carmo da Cachoeira; IGARA = Igarassú; BRAS = Brasília.), envolvendo clima em relação aos componentes principais 1 = 45,44% e 2 = 32,55%.

### 3.2. Padrões de coloração nas asas

Os cinco padrões de coloração mais frequentes foram: 1) negro (NT), sem ponto cubital, ocorreu em 18% dos indivíduos; 2) amarelo (A), com ponto cubital amarelo, em 53% dos indivíduos; 3) vermelho (V), com ponto cubital vermelho, em 11% dos indivíduos; 4) amarelo-vermelho (AV), encontrado em 6% dos indivíduos; 5) junção (J), onde a mácula vermelha se estende em direção da linha amarela juntando-se a ela, ocorreu em 12% dos indivíduos. A linha amarela longitudinal e a mácula vermelha estiveram presentes em todos os indivíduos (Figura 5).

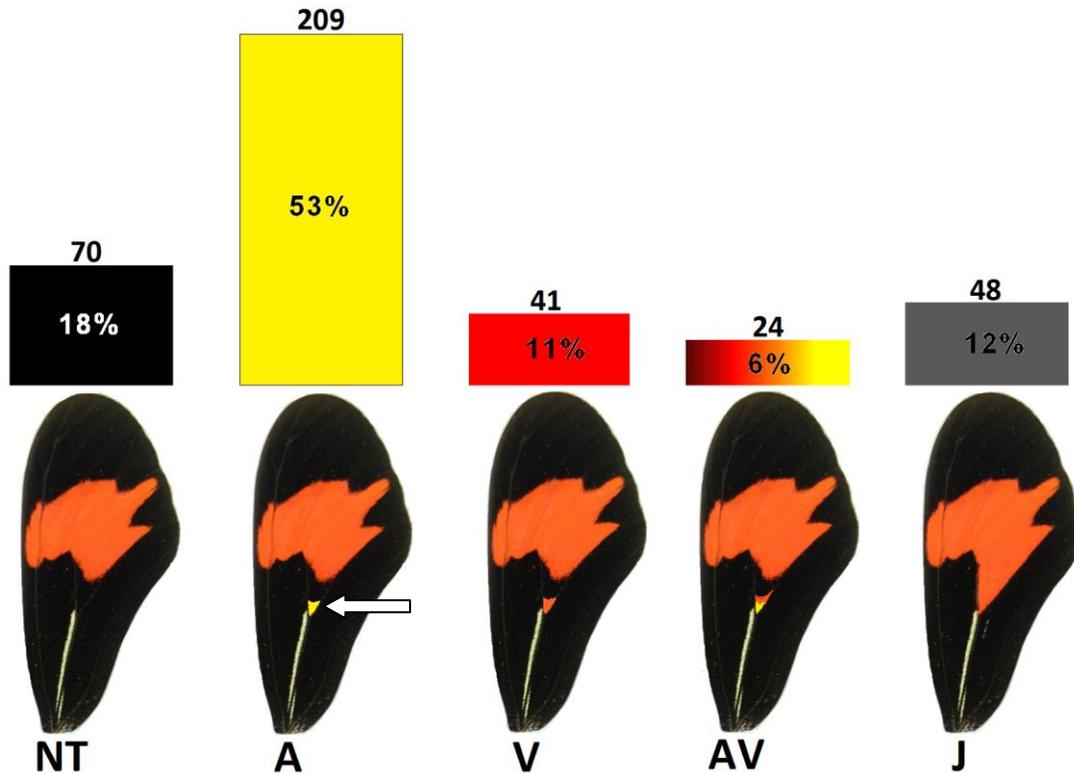


Figura 5. Frequências e números absolutos dos padrões de colorações das asas anteriores encontrados nos sítios de estudo. Padrão negro NT – ausência de ponto cubital; Padrão amarelo A – ponto cubital amarelo; Padrão vermelho V – ponto cubital vermelho; Padrão amarelo-vermelho AV – ponto cubital amarelo com vermelho; J – junção da grande mácula vermelha com o ponto cubital e linha amarela.

As frequências dos padrões alares variaram de acordo com os sítios e apresentaram similaridades quando comparadas a sítios de regiões próximas (Figura 6) e/ou com regimes de temperaturas semelhantes. Na Baixada Santista, as comparações envolvendo distribuições de frequências dos padrões A, NT, V, AV e J, não foram significativas entre os sítios FAND, MRVT, VRQI-I-II-III e JAPUÍ de acordo com o teste G (GL = 12; Teste-G Williams = 15,66;  $p = 0,2$ ). Portanto as populações de todos os sítios da Baixada Santista apresentam as mesmas frequências de padrões alares. Os sítios da região Serras do Sudeste e o Sul, também não apresentaram diferenças significativas (GL = 8; Teste-G Williams = 8,15;  $p = 0,418$ ) entre as distribuições de suas frequências. O mesmo aconteceu para os sítios da região centro-oeste + nordeste, nos quais o Teste-G de Williams não mostrou diferenças significativas (GL = 8; Teste-G Williams = 14,28;  $p = 0,075$ ).

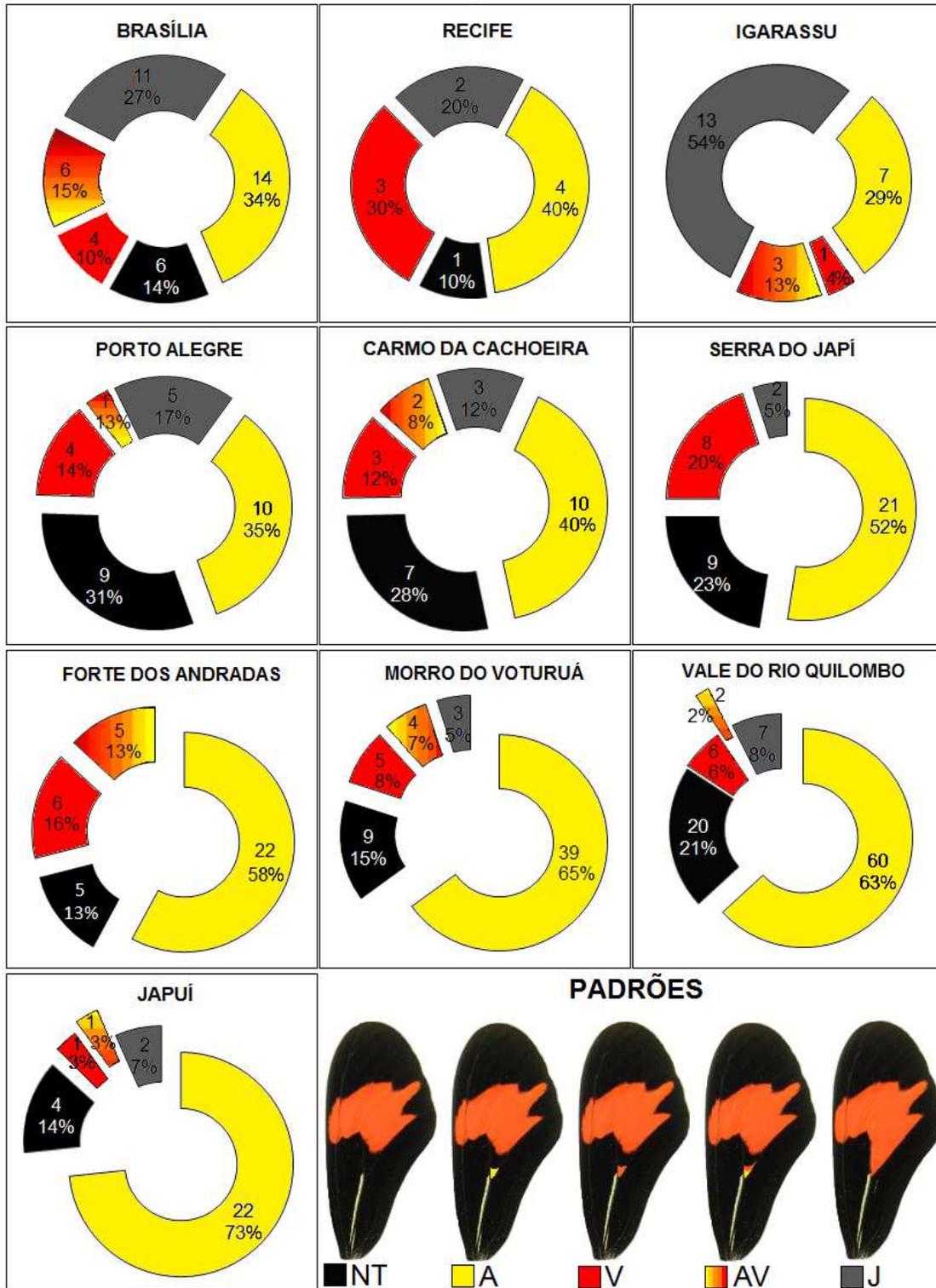


Figura 6. Percentuais e números absolutos dos principais padrões de coloração encontrados nas asas anteriores da subspecie *Heliconius erato phyllis* em sítios de diferentes regiões do Brasil.

Padrões: Padrão negro NT – ausência de ponto cubital; Padrão amarelo A – ponto cubital amarelo; Padrão vermelho V – ponto cubital vermelho; Padrão amarelo-vermelho AV – ponto cubital amarelo com vermelho; J – junção da grande mácula vermelha com o ponto cubital e linha amarela.

O resultado do Teste-G apontou uma diferença altamente significativa ( $GL = 8$ ; Teste-G Williams = 59,16;  $p < 0,0001$ ) na distribuição das frequências de A, NT, V, AV e J entre as regiões estudadas (Centro-oeste + Nordeste, Baixada Santista, Serras do Sudeste+Sul).

Mesmo agrupando-se os padrões que evidenciam a coloração vermelha em uma só categoria (J+V+AV), o teste de “G” Williams manteve os resultados significativos (G Williams = 44,85;  $p < 0,0001$ ) para as comparações entre regiões. As amostragens da região Centro-oeste + Nordeste apresentaram as maiores frequências para os padrões que destacaram a coloração vermelha (J+V+AV). Por outro lado as amostras da Baixada Santista apresentaram as maiores frequências para o padrão “A” e nas Serras do Sudeste + Sul as maiores frequências para o padrão negro “NT” (Figura 7).

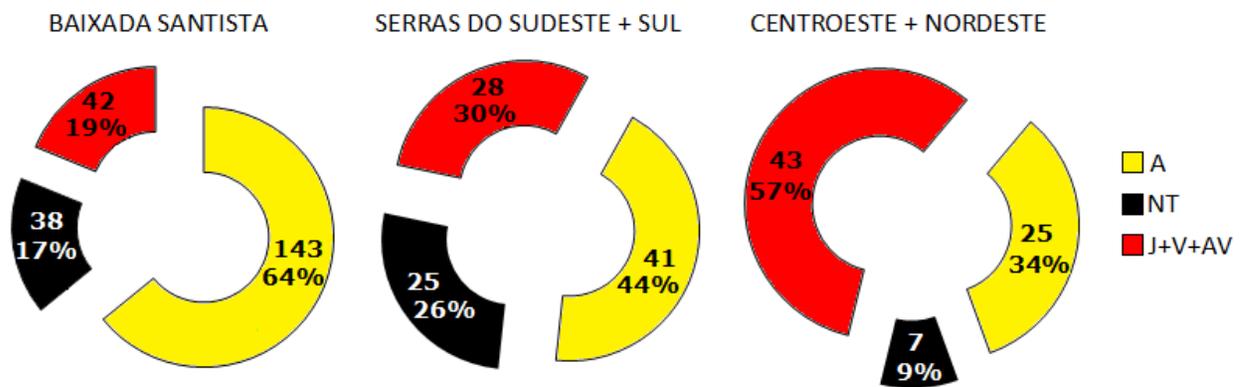


Figura 7. Números absolutos e distribuição das frequências dos padrões de coloração “A” amarelo - ponto cubital amarelo, “NT” negro - ausência de ponto cubital e “J+V+AV” - soma dos padrões que evidenciam a coloração vermelha (“V” vermelho – ponto cubital vermelho; “AV” amarelo-vermelho – ponto cubital amarelo com vermelho; “J” junção – junção da grande mácula vermelha com o ponto cubital e linha amarela) entre as regiões da Baixada Santista, Serras do Sudeste+Sul e Centro-oeste+Nordeste.

As frequências dos padrões de coloração (“A”, “NT” e “J+V+AV”) entre os sexos, de acordo com o teste G (Williams), foram significativamente diferentes em duas regiões, Baixada Santista (Teste G Williams = 16,46;  $p = 0,0003$ ) e Serras do Sudeste+Sul (Teste G Williams = 8,23;  $p = 0,0163$ ). Apenas na região Centro-oeste+Nordeste não ocorreu diferença significativa entre os sexos e as frequências de seus padrões alares (Teste G Williams = 1,95;  $p = 0,38$ ) (Figura 8). Os machos de diferentes regiões apresentaram os padrões de coloração em frequências significativamente diferentes (Teste G de Williams = 36,40;  $p < 0,0001$ ), entretanto o mesmo não ocorreu com as fêmeas (Teste G de Williams = 5,92;  $p = 0,2049$ ) (Figura 8).

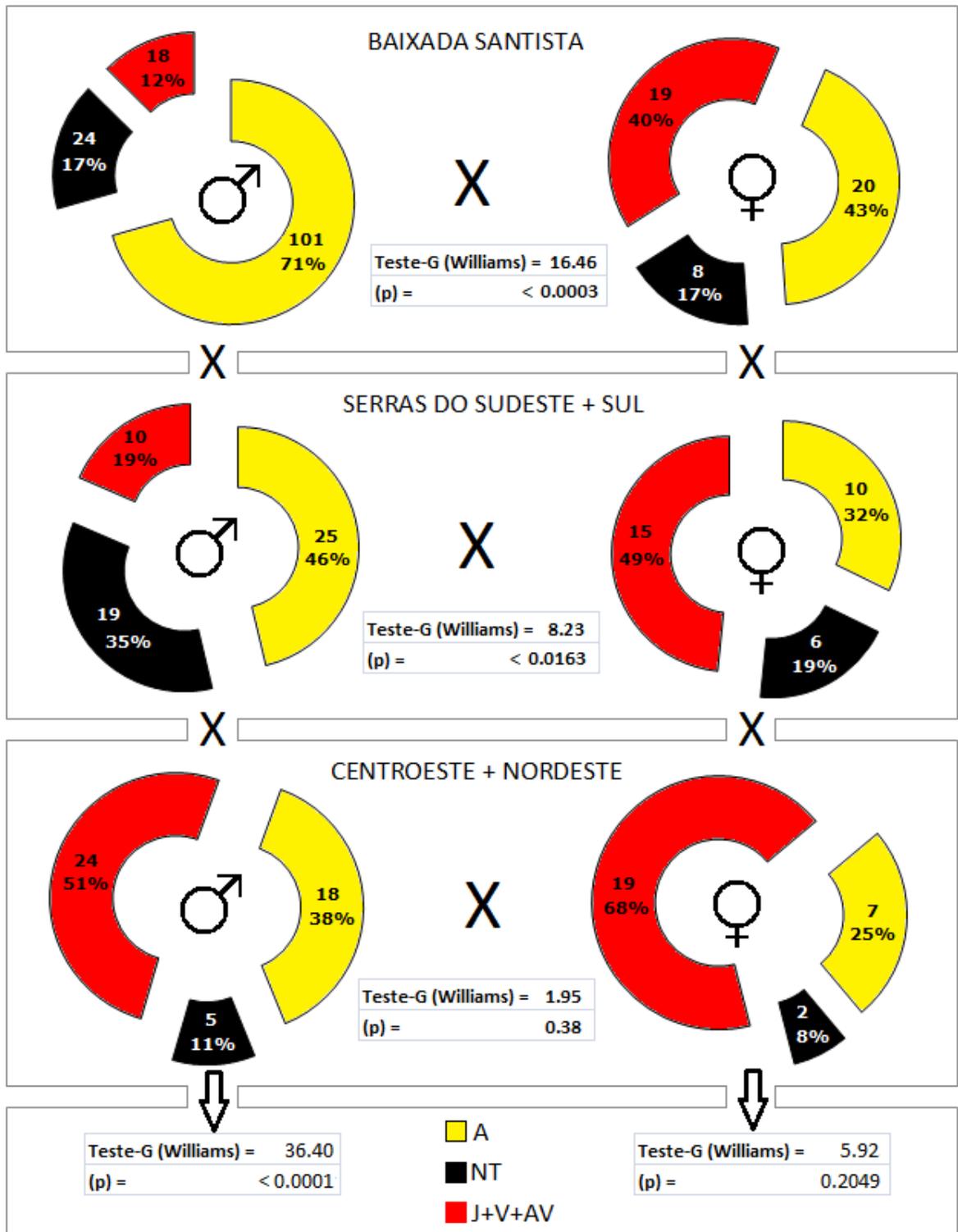


Figura 8. Números absolutos e distribuição das frequências dos padrões de coloração “A” amarelo - ponto cubital amarelo, “NT” negro - ausência de ponto cubital e “J+V+AV” - soma dos padrões que evidenciam a coloração vermelha (“V” vermelho – ponto cubital vermelho; “AV” amarelo-vermelho – ponto cubital amarelo com vermelho; “J” junção – junção da grande mácula vermelha com ponto cubital e linha amarela), nos sexos e em diferentes regiões (Baixada Santista, Serras do Sudeste+Sul e Centro-oeste+Nordeste), destacando os resultados do Teste G (Williams) nas comparações intrassexuais entre regiões, e interssexuais em cada região.

Dois padrões raros foram encontrados no VRQI, um deles apresenta linha amarela com extremidade vermelha clavada e o outro uma mancha negra em forma de vírgula na mácula vermelha (Figura 9). O padrão “vírgula” também apareceu em um indivíduo capturado no PALEG e nenhum outro indivíduo foi encontrado nos demais sítios apresentando esses padrões.

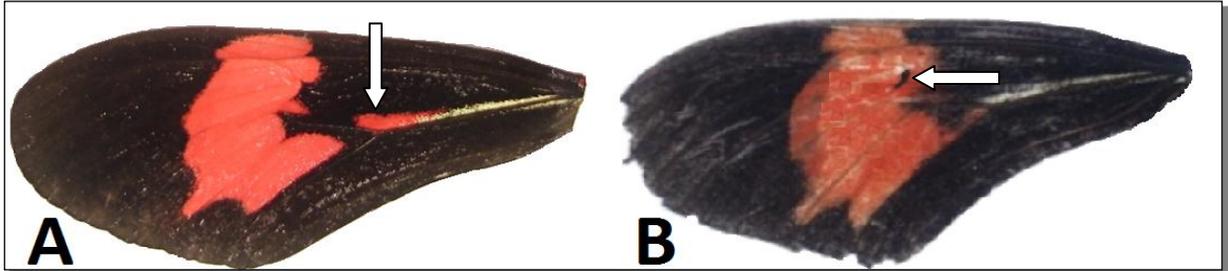


Figura 9. Padrões raros encontrados no VRQI. A – linha amarela com região distal clavada e vermelha; B – mácula vermelha com mancha negra em forma de vírgula.

### 3.3. Formas, frequências e posição dos *red raylets*

As formas encontradas durante as coletas estão de acordo com as observações de Ramos e Freitas (1999). Os padrões exibem formas aparentemente borradas, muito próximas, quase sobrepostas, pontuadas ou tracejadas (Figura 10). O tamanho dos pontos não depende do espaço entre as veias, eles são maiores na parte basal e diminuem de tamanho em direção a porção distal da asa (Figura 11), variando de 1-7 sempre em sequência e iniciada abaixo das veias 1A ou 2A. Nesse caso, o raio número 2 (abaixo da 1A) geralmente é o maior e está sempre presente, o que não acontece com os demais raios, esses geralmente apresentam coloração mais fraca ou estão ausentes (Figura 11).

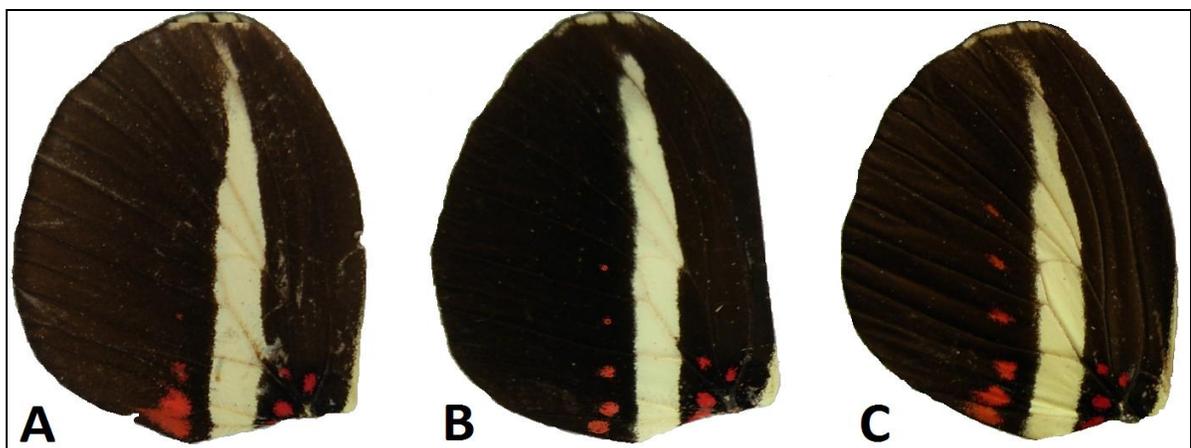


Figura 10. Formas e disposições dos *red raylets* observadas nos sítios de coleta. A – aparente sobreposição de pontos sem espaço; B – formas arredondadas; C – formas tracejadas. Obs.: os tamanhos das asas não estão na mesma escala.

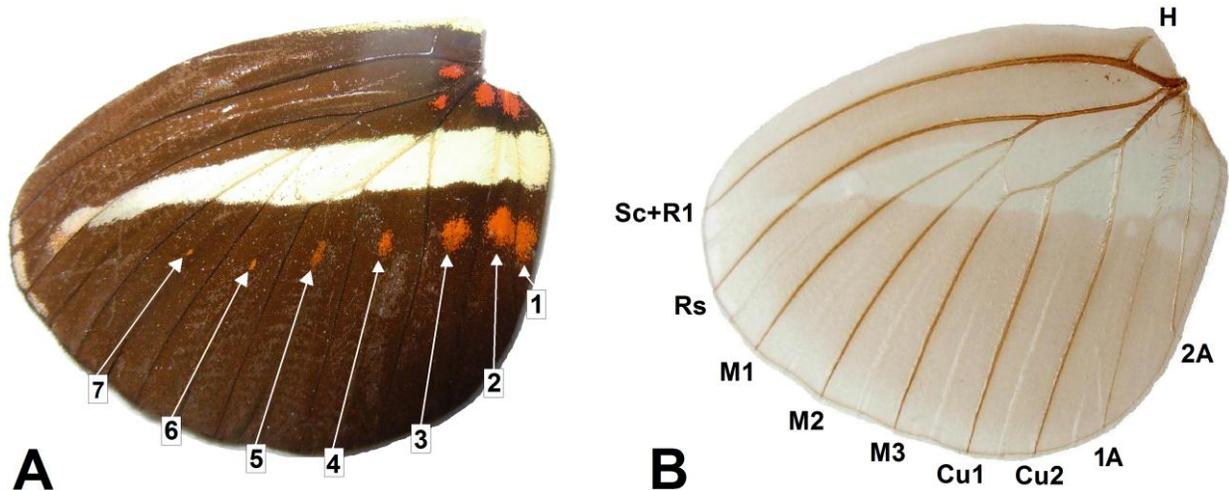


Figura 11. A - Posicionamento e numeração dos raios nas asas posteriores; B - asa diafanizada com venação aparente e classificação segundo o sistema de Comstock-Needham (Miller 1969). Sc = Sub costal; R1 = radial 1; Rs = Setor radial; M1 = Medial 1; Medial 2; M3 = Medial 3; Cu1 = Cubital 1; Cu2 = Cubital 2; 1A = Anal 1; 2A = Anal 2.

De acordo com a análise de regressão linear (BioEstat 5.0), os resultados apontam uma correlação positiva, porém fraca, entre o número de RR e o CAA (IC 95% = 0,26 - 0,45;  $R^2 = 0.13$ ;  $t = 6,9$ ; GL = 322; poder 0,05 e  $p = 0,0001$ ).

### 3.4. Plantas Hospedeiras

Das doze espécies de *Passiflora* encontradas, apenas sete receberam ovos de *Heliconius erato phyllis* e foram consideradas hospedeiras. *Passiflora misera* Kunth apresentou a distribuição mais ampla, ocorrendo no Rio Grande do Sul, Planalto Central e Baixada Santista. O sítio que apresentou maior número de espécies de *Passiflora* foi a Serra do Japí (JAPÍ) com seis espécies, mas não foi possível detectar quais eram hospedeiras. Por outro lado, no sítio MRVT as borboletas utilizaram quatro das cinco plantas encontradas. Em CACH, BRAS e VRQI as fêmeas utilizaram somente uma planta hospedeira, independente do número de espécies alternativas. No Rio Grande do Sul, o sítio PALEG também apresentou um grande número de espécies de passiflora (5), mas apenas duas hospedeiras (Tabela 3).

No alto da Serra do mar, fora da área de abrangência do estudo foram encontradas duas espécies (*Passiflora villosa* Vell. e *Passiflora deidamiodes* Harms.) não incluídas na lista do VRQI, mas que podem potencialmente ocorrer na região. Não foram encontradas plantas hospedeiras nos dois sítios da região nordeste (RECIF e IGARA), em CACH o uso ocorreu sobre *P. edulis* cultivada.

Tabela 3. Espécies de passifloras encontradas nos diferentes sítios de coleta, destacando a ocorrência (células tachadas) e o uso como planta hospedeira (\*).

	<i>P. caerulea</i> L.Marítimo	<i>P. elegans</i> Masters	<i>P. suberosa</i> Linnaeus	<i>P. truncata</i> Regel	<i>P. edulis</i> Sims	<i>P. alata</i> Dryand	<i>P. jileki</i> Wawra	<i>P. capsularis</i> L.	<i>P. misera</i> Kunth	<i>P. miersii</i> Masters	<i>P. amethystina</i> Mikan	<i>P. sidifolia</i> M.Roem
PALEG			*						*			
VRQI				*								
JAPUÍ					*		*		*			
MRVT					*	*	*	*				
FAND									*			
JAPÍ												
CACH					*							
BRAS									*			

### 3.5. Variações temporais no MRVT

Inspecções periódicas no MRVT durante os anos de 2004 e 2006 encontraram reduções na disponibilidade de plantas hospedeiras (tabela 4).

Tabela 4. Números e percentuais de plantas hospedeiras utilizadas, que foram encontradas no MRVT durante os anos de 2004 e 2006.

<i>Espécies de plantas hospedeiras</i>	<i>Ano de 2004</i> n e %	<i>Ano de 2006</i> n e %
<i>Passiflora jileki</i>	23 (45,1%)	3 (13%)
<i>Passiflora capsularis</i>	22 (43,1%)	20 (87%)
<i>Passiflora edulis</i>	6 (11,8%)	0 (0%)

Obs.: *Passiflora alata* não foi incluída porque é uma planta tóxica para as larvas.

A média do CAA da população do MRVT, de acordo com o teste ANOVA, sofreu significativa redução ao longo de 2 anos ( $F = 4,5767$ ;  $p = 0,036$ ), de 37,3 mm para 35,6 mm (Figura 12 A). O número de RR sofreu uma pequena redução na média, oscilando de 4 para 3,5 raios, mas as mudanças não foram significativas entre os dois períodos (Kruskal-Wallis,  $H = 1,8418$ ,  $p = 0,1747$ ).

Após o intervalo de dois anos, o padrão “J” apareceu com uma frequência de 10%, o padrão “V” declinou de 13% para 4% e a frequência de “AV” declinou de 10% para 3%. A ausência de ponto cubital (NT) praticamente não se alterou, oscilou de 16% para 14% e a frequência de “A” aumentou de 61% para 69% (Figura 12 B). Entretanto o teste de “G” de Williams não detectou diferença significativa entre as frequências dos padrões alares encontrados entre os períodos de 2004 e 2006 (Teste-G Williams = 7,2;  $p = 0,167$ ).

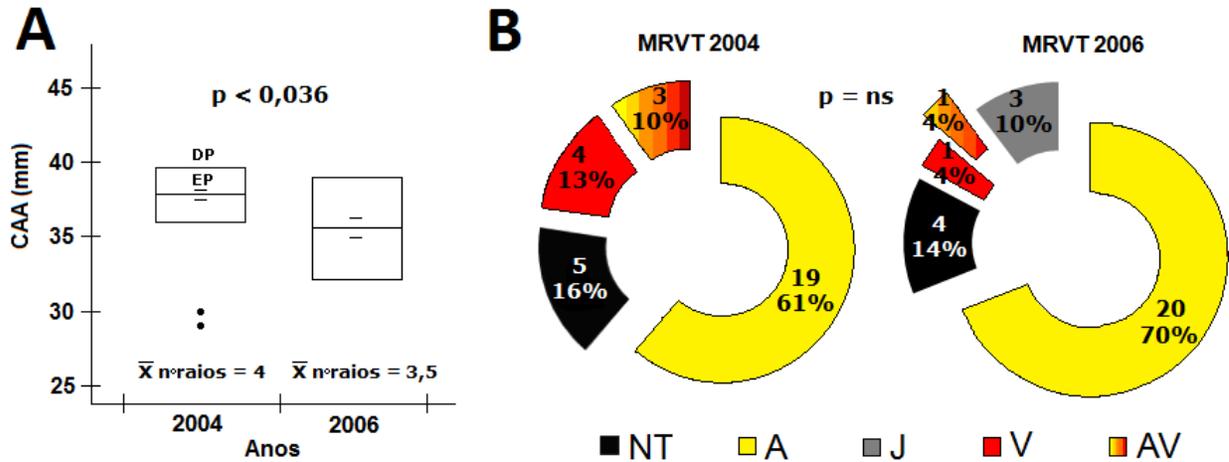


Figura 12. Amostragens temporais nos anos de 2004 e 2006 no MRVT, São Vicente, SP. A- Box Plots contendo média, erro padrão (EP), desvio padrão (DP) do CAA (mm), “p” significativo de acordo com ANOVA e a média para o número de raios. B- Proporções e números absolutos dos padrões de coloração (NT = negro; A = amarelo; J = junção; V = vermelho; AV = amarelo-vermelho) encontrados nos anos de 2004 e 2006, sem diferença significativa (ns) ao teste “G”.

Os dados climáticos para os dois períodos indicam que 2004 teve maior pluviosidade e chuvas mais distribuídas, entretanto 2006 foi mais quente com maiores médias e números de dias com temperaturas acima de 32°C e 34°C (IAC-CIIAGRO 2009) (Apêndice, Tabela I a,b).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Climas

O agrupamento entre sítios da Baixada Santista mostra climas Af, chuvosos com pluviosidades acima de 100 mm nos meses mais secos e pluviosidade anual acima de 2600 mm chegando a 3000 mm. Suas médias de temperaturas do quarto mais frio estão entre 18°C-19,4°C e no quarto mais quente entre 24,1°C-25,4°C. Portanto, são locais relativamente quentes e com grande umidade. Por outro lado o agrupamento dos sítios da costa nordeste caracteriza períodos de secas muito marcantes durante o verão, com apenas 30 mm de chuvas no mês mais seco (clima Am). Além disso, suas médias de temperaturas são mais altas e a estação mais chuvosa é durante o inverno.

A aproximação entre CACH e S.JAPI, com altitudes acima de 1000m e de climas Cwb, não é tão evidente como aquelas encontradas nos demais agrupamentos. Entretanto, essa distância é comparável àquela encontrada entre FAND e JAPUÍ no grupo Baixada Santista. Portanto, os dois sítios com climas de montanha podem ser considerados um terceiro agrupamento, embora estejam localizados em biomas distintos (Tabela 1).

Os sítios BRAS e PALEG, devido a seus climas muito distintos Aw e Cfa, aparecem isolados em posições opostas e distantes de qualquer agrupamento evidente.

CACH e BRAS aparecem no mesmo quadrante e, apesar de não estarem muito próximos, foram positivamente relacionados. Nesse caso, ambos são sítios de altitude, possuem vegetação de Cerrado, apresentam períodos de seca e regime de chuvas muito semelhantes, diferem apenas nas amplitudes térmicas que são maiores em CACH e nas médias de temperatura, que são superiores em BRAS.

O S.JAPI se aproxima de PALEG, mas são negativamente relacionados. Apesar de serem sítios de regiões frias e apresentarem médias de temperaturas relativamente baixas, suas principais diferenças se aplicam ao regime de chuvas. A pluviosidade é bem distribuída ao longo do ano no PALEG, mas S. JAPI apresenta período de seca bem demarcado com Floresta Mesófila Semi-decídua.

#### **4.2. Comprimento das asas anteriores**

O CAA, parâmetro utilizado para definir o porte dos indivíduos adultos, é positivamente correlacionado com a massa da pupa (Dunlap-Pianka *et al.* 1977). O tamanho depende do desempenho alimentar na fase larval, que, por sua vez, é influenciado pela qualidade e disponibilidade de plantas hospedeiras (Cates 1981; Bernays & Chapman 1994; Janz *et al.* 1994; Baur *et al.* 1998; Kerpel 1999; Van Loon & Schoonhoven 1999; Rodrigues & Moreira 2004; Schoonhoven *et al.* 2005; Hay-Roe, M. M. 2008).

Escassez de folhas pode causar subnutrição e conseqüentemente gerar adultos de pequeno porte e em casos mais extremos as larvas podem morrer (Rodrigues & Moreira 1999, 2002; Ramos 2003; Rodrigues & Moreira 2004). A dificuldade da larva em mastigar a folha pode gerar indivíduos de pequeno porte, como é o caso de imaturos que se alimentam de *P.jileki* (Ramos *et al.* 2009 *submitted*), planta com folhas coriáceas muito duras (Bernacci *et al.* 2003). Além da ação física, larvas que consomem hospedeiras com grandes concentrações de

componentes tóxicos do metabolismo secundário também apresentam um fraco desempenho (Spencer 1988; Hay-Roe 2004; Schoonhoven *et al.* 2005). Portanto, os indivíduos grandes estão relacionados à boa qualidade da hospedeira (Périco e Araújo 1991), que envolve um balanço entre nutrientes, água, concentração de compostos do metabolismo secundário e disponibilidade de biomassa, importantes para um bom desempenho larval (Bethann & Oberhauser 2004). Contudo, esses fatores são reflexos das condições onde as plantas se encontram, desde o solo (Prudic *et al.* 2005) até o clima. Os climas têm fortes contribuições sobre o crescimento das plantas, e considerando água como um dos fatores essenciais deveríamos esperar que as pluviosidades locais promovessem esse diferencial.

Entre as variáveis pluviométricas, P7 (pluviosidade do quarto mais frio), que se sobrepõem ao quarto mais seco foi a que mais explicou o CAA, enquanto as demais variáveis não foram tão importantes. As borboletas e suas plantas hospedeiras encontravam-se preferencialmente em bolsões de matas próximos a cursos d'água, lagoas perenes ou no litoral, locais com microclimas de umidade relativa elevada. Além de fornecerem biomassa para as larvas, as plantas funcionaram como reservatórios de água. A água não foi um fator limitante nesses sítios durante as coletas, seja pela proximidade de corpos d'água ou pelo regime de chuvas em cada região.

Apesar da pluviosidade do quarto mais seco não ter aparecido com a mesma importância, a seca para a maior parte dos sítios estudados, apresenta sobreposição ao quarto mais frio (P7). A exceção ocorre nos sítios de clima Am (Recife e Igarassú), com verões quentes e secos, com invernos muito chuvosos e médias das temperaturas mínimas sempre superiores a 19°C. Em PALEG as chuvas são bem distribuídas durante o ano, mas seus invernos são muito frios e mais úmidos do que os sítios tropicais (ver apêndice II).

As variáveis climáticas envolvendo temperaturas (T1 e T5) explicaram melhor o CAA. Altas temperaturas não só aceleram o crescimento de plantas, como também podem alterar seus processos metabólicos e causar crescimentos acima do normal (Schulze *et al.* 2005). Além de indiretamente promover um bom desempenho larval pelo aumento da qualidade de suas hospedeiras, as altas temperaturas aumentam os ritmos de crescimento da larva (Gotthard 2008).

A variação anual de temperatura (T7) foi negativamente relacionada ao CAA. Isso indica que climas constantes e com menores variações térmicas proporcionam maiores taxas de

crescimento para as plantas (Schulze *et al.* 2005) e para as larvas, ao contrário do que ocorre em condições muito variáveis.

FAND e MRVT (Baixada Santista) possuem as duas populações com as maiores médias para o CAA. Esses sítios estão em uma região relativamente quente e extremamente úmida durante o ano (Nimer 1972), o que favorece o crescimento de plantas e larvas.

Climas de monções (Am) promovem efeitos positivos sobre o crescimento e qualidade das plantas hospedeiras e no desempenho larval durante os períodos de chuvas (Papaj *et al.* 2007). Apesar das coletas terem sido realizadas após a estação chuvosa, os indivíduos encontrados nos sítios de climas Am não apresentaram grandes CAA. Os menores CAA foram registrados em CACH, BRAS, S.JAPÍ e IGARA, regiões sujeitas a períodos prolongados de secas e/ou quedas de temperatura. RECIF foi uma exceção, talvez devido a sua localização costeira e a presença de um grande lago ao centro do parque, que aumentam a umidade local e diminuem os efeitos da estação seca.

Apesar de sua localização no extremo sul da região subtropical, PALEG situa-se próximo à região costeira, com chuvas bem distribuídas ao longo do ano. Esses fatores parecem diminuir os efeitos das baixas temperaturas e das variações de pluviosidade entre as estações, aumentando as possibilidades de grandes CAA.

Larvas que dispõem de fotoperíodo curto crescem relativamente mais rápido em altas temperaturas do que em baixas temperaturas (Gotthard 2008). Oscilações como essas são capazes de alterar as taxas metabólicas e os ritmos de desenvolvimento larval, e se não ultrapassarem um limiar de máxima tolerância, as altas temperaturas tendem a acelerar o crescimento da larva (Resh & Cardé 2003). Apenas a velocidade de desenvolvimento não explica um bom desempenho, e como discutido anteriormente, esse depende da qualidade da hospedeira (Schowalter 2006; Hay-Roe & Nation 2007).

Os sítios FAND, PALEG e BRAS apresentam distâncias entre si que variam de 1000-2000 km, sendo FAND e PALEG litorâneos e BRAS do planalto central (Figura 2). Todos possuem climas distintos (Figura 4), mas com um ponto em comum, as populações de *H. erato phyllis* utilizam *P. misera* como planta hospedeira principal. Entretanto, a alimentação sobre a mesma espécie de planta não promoveu desempenhos similares entre as populações. O teste Tukey mostrou diferença significativa no CAA entre as três populações. Os maiores adultos estavam presentes no FAND e os menores em BRAS (Tabela 2). Apesar das diferenças climáticas os

maiores indivíduos foram encontrados na região costeira. O desempenho larval e morfologia do adulto não dependem apenas da hospedeira utilizada, mas de fatores climáticos locais como: temperatura durante o desenvolvimento (Janz *et al.* 1994), efeitos de interação “temperaturas x hospedeiras” (Stamp & Bowers 1990, Ramos 2003), dinâmica das populações de hospedeiras e borboletas (Braschler & Hill 2007).

Discussões envolvendo diferenças entre os tamanhos das subespécies de *H. erato* do lado leste e oeste dos Andes abordam principalmente histórias evolutivas dos grupos, seleção estabilizadora e competição por hospedeiras (Hay-Roe 2008). Entretanto, a qualidade das hospedeiras, influenciadas pelos climas locais, é uma variável importante que deve ser considerada (Schweiger *et al.* 2006). O oeste dos Andes com exceção de alguns locais na Colômbia é mais seco do que o lado leste sob influência da pluviosidade amazônica. Portanto, grandes pluviosidades, especialmente em estações mais secas, parecem influenciar positivamente o desenvolvimento de plantas hospedeiras e indiretamente no desempenho larval, resultando em adultos maiores.

#### **4.3. Crescimento adaptativo**

O tamanho de um organismo representa um equilíbrio entre custos e benefícios (Gotthard 2008). Mecanismos que integram efeitos genéticos e efeitos ambientais durante o desenvolvimento do fenótipo dão suporte à plasticidade do desenvolvimento (Pigliucci *et al.* 2006).

Um grande tamanho na forma adulta pode representar um bom potencial reprodutivo, seja na produção de gametas ou em uma disputa por acasalamentos (Alcock 2005). Entretanto aumentos nas taxas de crescimento elevam os riscos de mortalidade tornando larvas mais conspícuas atraindo parasitóides e predadores como vespas e formigas.

#### **4.4. Red raylets – formas e número**

Analisando a sobreposição entre as médias do CAA e do número de RR a partir do conjunto de dados de *H. erato* obtidos por Ramos e Freitas (1999), foram observadas flutuações sazonais coincidentes entre as duas variáveis ao longo do ano e borboletas maiores tendendo a apresentar mais raios. A análise de componentes principais incluindo dados climáticos mostrou temperaturas como os principais fatores que explicam o CAA. As temperaturas parecem ter

grande influência sobre a qualidade das plantas e essas conseqüentemente sobre o desempenho larval. Discussões também sugerem que a temperatura pode ser o fator preponderante para a determinação do número de raios em *H. erato phyllis*, embora também envolvam adaptações locais (Oliveira & Araújo 1992).

A venação das asas de *Pararge aegeria* (Satyrinae) não determina a ausência ou presença de ocelos, mas parece sinalizar a posição e a forma de cada um deles dentro dos espaços entre veias. A venação pode compartimentar e separar os ocelos atuando como barreira para difusão de substâncias morfogênicas; por outro lado os espaços também podem integrá-los, moldá-los e até determinar seus tamanhos nessa subfamília. O tamanho dos ocelos está positivamente correlacionado ao tamanho das asas, contudo, ocelos podem responder de forma flexível a heterogeneidade ambiental e tornarem-se mais claros sob condições de escassez de recursos durante o desenvolvimento (Breuker *et al.* 2007).

*Heliconius erato phyllis*, não possui ocelos como *Pararge aegeria*, mas apresenta raios vermelhos (*red raylets*). O número de raios assim como os padrões e colorações alares, são entendidos como características hereditárias (Pansera e Araújo 1983; Sheppard *et al.* 1985), mas variáveis ambientais parecem exercer forte influência sobre esses padrões.

Em borboletas Nymphalidae dos gêneros *Vanessa* e *Junonia* a concentração de pigmentos nas células que dão origem às escamas das asas é controlada pelos hormônios ecdisteróide e do choque frio (HCF) (Otaki 2007 a, 2008 a, b). Experimentos realizados com essas borboletas mostram que choques frios de temperatura na fase de pupa alteraram os desenhos e padrões de coloração das asas dos adultos, reduziram os tamanhos de ocelos, eliminaram bandas e deslocaram linhas e arcos. Por outro lado, tratamentos envolvendo choques quentes de temperatura apresentam efeitos inversos. Nesse caso, a elevação da temperatura aumenta os níveis de ecdisteróides na hemolinfa e inibe a ação do hormônio de choque frio. Durante estações frias o aumento da atividade das células secretoras específicas produz altos níveis de hormônios de choque frio (Otaki 2007 a).

Os raios muita vezes aparecem em forma de ponto ou traço e, diferente do que ocorre com os ocelos em *Pararge aegeria*, os limites (espaços) criados por duas veias parecem nem sempre separar dois pontos. Isso é visível nas duas primeiras células abaixo das veias 1A e 2A, região onde as veias estão muito próximas e os pontos são bem grandes (Figura 11A). Também é possível observar que a distância entre as veias não interfere no tamanho dos pontos: eles são

maiores na porção basal, principalmente abaixo da veia 1A (segunda célula) e, à medida que se distanciam dela, os demais raios tornam-se menores. O raio número 1, abaixo da veia 2A, muitas vezes é menor do que o raio número 2; este geralmente concentra mais pigmentação. Quando a borboleta apresenta três raios, o raio número 1 e/ou o número 3 podem ter coloração mais fraca, mas quando existem apenas 1 ou 2 raios o raio número 2 tem sempre presença obrigatória. Essa característica pode ser um indicativo de que os raios surgem a partir de um ponto abaixo da veia 1A (raio 2) e, à medida que as asas crescem, o pigmento se espalha de forma mais intensa para os sítios vizinhos e com menor intensidade para posições mais distantes da asa (7ª posição abaixo da M1) durante o desenvolvimento ontogenético na fase de pupa. É possível que a intensidade do pigmento nas asas de *H. erato phyllis* pode variar em função da temperatura ou nutrição, semelhante ao que ocorre com *Pararge aegeria* (Nymphalidae: Satyrinae). Além do tamanho das asas que contribui com o número de raios, a taxa de crescimento parece contribuir com a forma dos raios. Com crescimento rápido os pontos de pigmentação podem sofrer distorções e com crescimento mais lento, os raios tornam-se mais arredondados.

Apesar da regressão linear apontar correlação positiva entre CAA e RR, em alguns casos pode-se observar adultos pequenos com muitos raios ou grandes com poucos raios. É possível que microclimas e a qualidade das hospedeiras consumidas também influenciem a quantidade de hormônios produzidos. Portanto, temperaturas e recursos parecem atuar de forma conjunta, na formação de raios de *H. erato phyllis*. As temperaturas quando altas favorecem a quantidade e qualidade dos recursos, promovendo bom desempenho larval e resultando em adultos de grande porte. Esses fatores ajudariam explicar as exceções encontradas nas populações, onde indivíduos pequenos com muitos raios e grandes com poucos raios seriam resultados de combinações locais específicas entre desempenho e temperatura. Entretanto fatores hereditários também estão envolvidos e as interações com variáveis ambientais podem influenciar as frequências locais do número de raios (Périco e Araújo 1983; Sheppard *et al.* 1985).

#### **4.5. Coloração das asas**

Alguns insetos apresentam mais de um padrão de coloração, dependendo da temperatura, o que é chamado de polifenismo (Resh & Cardé 2003). Mudanças nas atividades enzimáticas para a síntese de pigmentos nas células das escamas causam essas alterações nas colorações das

borboletas (Otaki 2008 b). Os padrões não precisam ser exclusivamente sazonais eles também podem ocorrer geograficamente. Dependendo das condições climáticas locais (temperatura, luminosidade e pluviosidade), padrões regionais podem ser criados. Variações nas colorações das asas refletem diferenças adaptativas em resposta ao ambiente físico (Resh & Cardé 2003; Beldade *et al.* 2005).

Reed *et al.* (2008) constatou que em *Heliconius erato* o pigmento negro é expresso pela melanina, o laranja é originado a partir da xantomatina e a diidroxantomatina dá origem ao vermelho, sendo que a 3-hidroxiquinurenina (3-HOK) é precursora da xantomatina e da diidroxantomatina e todos os três partilham da mesma origem biossintética. A coloração amarela ocorre quando a 3-hidroxiquinurenina é incorporada diretamente a partir da hemolinfa. Embora os genes envolvidos na síntese desses pigmentos sejam conhecidos por se expressarem nas asas de Heliconiini e de outras borboletas, pouco se sabe sobre a regulação em *Heliconius*. Uma hipótese provável se baseia no modelo de contra corrente, no qual os genes de padrões de coloração ativam ou reprimem a síntese de pigmentos. Nesse caso, consideram-se os efeitos das enzimas codificadas pelos genes e as atividades dos transportadores necessários para a síntese de pigmentos, que podem ser espacialmente ou temporalmente co-regulados e co-expressos.

Os pigmentos são incorporados nas escamas na fase de pupa de acordo com a concentração de transportadores na hemolinfa, mas há indícios de que a gordura corporal seja responsável pela produção do 3-HOK (Reed *et al.* 2008).

Muitas borboletas utilizam as asas como se fossem painéis de aquecimento e condutores do calor solar, são chamadas de indivíduos heliotérmicos, pois necessitam de temperaturas acima de 30°C para ativar seus músculos torácicos (Chai & Srygley 1990; Berwaerts *et al.* 2001; Van Dyck & Wiklund 2002). O aquecimento produzido é conduzido até seus músculos torácicos e desse modo a borboleta consegue obter uma condição inicial de vôo sem apresentar grandes gastos de energia (Van Dyck & Matthysen 1998). Aos primeiros raios de sol, *Heliconius erato* abre as asas utilizando-as como painéis solares para absorver calor.

Existem diversas evidências que favorecem o rápido aquecimento. Machos de *Heliconius erato* patrulham ativamente as áreas de alimentação criando territórios (Brown 1981). Ativar músculos de vôo rapidamente traz vantagens na busca por fêmeas e por recursos. Por se tratar de um organismo heliotérmico, durante as horas mais quentes do dia suas respostas metabólicas são tão rápidas que possibilitam vôos em alta velocidade, o que permite fugir facilmente de

predadores e nesse momento a proteção mimética pode tornar-se secundária. Durante o crepúsculo, sob temperaturas amenas, a atividade de vôo dessas borboletas fica comprometida. Tornam-se lentos e para pássaros insetívoros são presas fáceis de perseguir ou de encontrar entre as folhagens (Mallet & Gilbert 1995).

Cores escuras facilitam o aquecimento e podem ser usadas na termorregulação corporal. Muitas populações de regiões frias apresentam padrões que tendem a aumentar as áreas escuras nas asas e mesmo pequenas alterações podem apresentar diferenças significativas nos processos de termorregulação (Van Dyck & Matthysen 1998; Van Dyck & Wiklund 2002). A melanização em asas de borboletas tende a aumentar com a altitude e/ou latitude em resposta as baixas temperaturas (Watt 1968). Algumas evidências foram encontradas nos sítios frios das serras do sudeste e região sul, que apresentaram as maiores frequências do padrão negro (NT = 26%), sobretudo para os machos. Por outro lado, nos sítios mais quentes como centro-oeste e nordeste, sem grandes necessidades de aquecimento, apenas 9% dos indivíduos apresentaram esse padrão.

A presença de 4 a 5 padrões de coloração em cada sítio de coleta é intrigante. Se observarmos todas as regiões, percebemos que as fêmeas apresentam uma distribuição de padrões semelhante, e a predominância de cada padrão nos machos varia de acordo com a região. As fêmeas de *H. erato*, independentemente da região estudada, apresentam altas frequências de padrões vermelhos. A grande diversidade de pássaros insetívoros nos Neotrópicos e suas estratégias distintas de caça podem aplicar uma seleção diferente entre habitats e microhabitats, resultando em diferentes padrões e cores em uma mesma região. Micro habitats diferentes em uma paisagem heterogênea poderiam manter o polimorfismo.

Além do mimetismo, os climas quentes das regiões estudadas podem tornar o melanismo de menor importância para os machos que predominam nas bordas ensolaradas das matas, a coloração teria um aspecto mais neutro nos machos.

Outro ponto interessante envolve o comportamento das fêmeas de *Heliconius erato*, que são geralmente encontradas próximas a plantas hospedeiras no interior de matas em locais sombreados, enquanto machos patrulham áreas abertas. Comportamentos diferenciados expõem fêmeas e machos a diferentes fatores de seleção, principalmente quando consideramos tempo de exposição a predadores e microclimas do interior da mata, desse modo esses fatores podem gerar dimorfismo sexual (Joron 2005). Estudos sugerem que as taxas de predação diferem, entre ambientes (abertos e florestados), entre períodos sazonais e em relação a hora do dia (Shapiro

1974; Jeffords *et al.* 1980). A habilidade de escapar de predadores também não é igual entre os sexos, pois ocorrem diferenças na morfologia e alocação de massa. Fêmeas possuem grande abdômen e tórax proporcionalmente menores diminuindo sua habilidade relativa de escapar de pássaros predadores quando comparadas aos machos (Srygley & Chai 1990; Ide 2006). Talvez isso explique porque fêmeas de borboletas tropicais são atacadas com maior frequência, e porque em muitos casos de mimetismo batesiano elas são miméticas, enquanto os machos da mesma espécie não são (Wickler 1968).

Neste estudo, fêmeas apresentam frequências de padrões de coloração diferente dos machos, principalmente nas regiões da Baixada Santista e Serras do sudeste+Sul. Entretanto, na região Centro-oeste+Nordeste ambos os sexos apresentam as mesmas frequências. *Galbula ruficauda* (Piciformes; Galbulidae) popularmente conhecidos como jacamares, são os mais importantes predadores visuais de borboletas (Benson 1972; Chai 1986), são muito rápidos, capazes de atacar e perseguir tanto em áreas abertas como no interior das matas. A presença dessas aves parece pressionar intensamente as populações, moldando-as de forma que apresentem maiores frequências para padrões vermelhos (Benson 1972). As espécies de jacamares no Brasil ocorrem nas regiões amazônica, centro-oeste e nordeste, chegando às fronteiras com o sudeste (Frisch & Frisch 2005), o que engloba os sítios Brasília, Recife e Igarassú. Predadores atacam com maior frequência padrões de coloração negra e creme, e evitam os vermelhos (Bowers *et al.* 1985), assim onde ocorrem jacamares como na região centroeste+nordeste, os padrões vermelhos estariam sob as mesmas pressões de predação em machos e fêmeas.

Os padrões amarelos têm altas frequências na Baixada Santista e nas regiões de Serras do Sudeste + Sul. Nesses locais, os anéis miméticos de coloração amarela são frequentes em outros grupos de borboletas (Ithomiinae). A ausência de predadores especializados (Jacamares) poderia relaxar a seleção mimética deixando outros fatores como clima e seleção sexual como os principais modeladores dos padrões locais (Fordyce *et al.* 2002; Mavárez *et al.* 2006).

No caso dos machos de *Heliconius erato*, a grande acuidade visual sobre os padrões de coloração, principalmente durante o comportamento de corte, mantém a preferência por fenótipos específicos e cria um mecanismo de segurança que evita acasalamentos com outras raças ou espécies (Estrada & Jiggins 2008). A preferência dos machos por determinadas fêmeas pode envolver outras características além da coloração, como odores (feromônios) e frequência

de bater de asas (Srygley 2007; Estrada & Jiggins 2008). Se algumas dessas características estiverem ligadas a um determinado padrão alar, a escolha de uma parceira pode determinar indiretamente as frequências de ocorrências dos padrões de coloração e gerar uma distribuição semelhante entre as populações. Outra possibilidade pode envolver o sistema ZW, em que a fêmea é heterogamética, e muitas vezes a coloração das asas estão ligadas aos cromossomos sexuais. Esse tipo de herança pode gerar dimorfismo sexual (Sperling 2003), e cada sexo pode desenvolver um padrão de coloração que retém as características de modelos miméticos distintos (Carpenter & Ford 1949).

#### **4.6. Plasticidade fenotípica e a diferenciação entre populações**

Mecanismos de respostas a variações ambientais desenvolvem formas sazonais com diferenças significativas na morfologia e/ou na sua história natural, de acordo com o clima (Brakefield & Reitsma 1991). Larvas de *Battus philenor* do Texas apresentam coloração negra durante o período frio, relacionado à maior absorção de calor e maior atividade. Durante o verão, quando expostas a grande luminosidade, as formas vermelhas são mais frequentes e aquecem-se mais lentamente do que as larvas negras. A plasticidade morfológica pode ser adaptativa, permitindo as lagartas continuarem a se alimentar e crescer durante altas temperaturas (Nice & Fordyce 2006).

A plasticidade fenotípica em populações pode ser ecológica e evolutivamente muito relevante sob determinadas condições ambientais que podem alterar ou anular o efeito de hormônios na hemolinfa dos imaturos e modificar os padrões de cores da borboleta. A plasticidade fenotípica em insetos é representada pelo polifenismo sazonal e mediada por hormônios durante o desenvolvimento, como o ecdisteróide por exemplo. Mudanças ocorridas não se resumem apenas às influências da temperatura, mas às condições ambientais em sua totalidade, e também à qualidade e disponibilidade de hospedeiras (Otaki 2007 b).

Não é incomum encontrar indivíduos no campo com padrões de coloração aberrantes para sua espécie e semelhantes a outras, como as borboletas *Colias erate* mimetizando *Colias palaeno* ou *Papilio xuthus* semelhante à *Papilio machaon*. Esses casos podem exemplificar o papel da plasticidade fenotípica. Quatro famílias de borboletas, Papilionidae, Pieridae, Lycaenidae e Nymphalidae, apresentam padrões plásticos de coloração ligados a condições

térmicas ambientais. Nesse caso, diversos padrões de cor, determinadas formas e colorações, podem ser vantajosos durante processos seletivos, levando a evolução local (Otaki 2008 b).

#### **4.7. Variação temporal no MRVT**

Nesse trabalho, a redução do CAA pode ser explicada pela diminuição da disponibilidade e talvez na qualidade das hospedeiras. Apesar da pequena queda no número de *P. capsularis*, principal recurso larval no MRVT, as plantas alternativas não estavam presentes no ano de 2006. De acordo com observações de Ramos (2003), *P. capsularis* também é muito utilizada por outros Heliconiini, principalmente *Dryas iulia* e *Eueides aliphera*. A falta de hospedeiras alternativas obriga *H. erato* e outras borboletas a competirem pelo mesmo recurso. A princípio, a escassez de recursos devido à fitofagia afetou principalmente o tamanho da população pelo aumento da taxa de mortalidade larval e também o desempenho larval. Embora não tenham sido feitos experimentos de monitoramento populacional, poucos indivíduos adultos foram visualizados e capturados no campo durante o ano de 2006.

Com a redução significativa do CAA esperava-se também uma queda no número de raios que, apesar de ter ocorrido, não apresentou grande relação com o tamanho da borboleta. Como efeitos combinados entre variação climática e qualidade das hospedeiras não podem ser descartados, é provável que a diminuição de recursos e o aumento da competição tenham criado uma situação de estresse para as larvas. Além disso, o declínio da pluviosidade em 2006 (apêndice I a,b) provavelmente afetou a qualidade das hospedeiras, resultando em uma significativa redução no CAA. Por outro lado, as temperaturas em 2006 foram maiores do que as de 2004 (apêndice, Tabela I a). O aumento das temperaturas, responsáveis por alterações hormonais, como a elevação do ecdisteróide, provavelmente agiu como um contraponto aos efeitos da baixa qualidade de recursos, provocada pelo declínio da pluviosidade. Altas temperaturas provavelmente agiram como forças contrárias à diminuição de alimento, promovendo aumento do número de raios e, por isso, não foi possível observar uma diminuição significativa que acompanhasse a queda no CAA.

## 5. CONCLUSÃO

Populações em regiões sujeitas a grandes variações sazonais na temperatura e/ou pluviosidade apresentam pequenos CAA em relação àquelas de climas mais estáveis, úmidos e quentes. As médias do CAA em sítios costeiros no Brasil são maiores do que em sítios interioranos devido à umidade elevada nos litorais. Efeitos indiretos no crescimento das borboletas envolvem a ação do clima sobre as plantas hospedeiras. A combinação entre altas temperaturas e umidade, provavelmente eleva as taxas de crescimento dessas plantas. Por outro lado, climas com invernos frios e secos, ou com períodos de seca prolongada prejudicam o crescimento e a qualidade das hospedeiras (Takagi & Miyashita 2008). Direta ou indiretamente, os climas de cada região promovem desempenhos larvais distintos, resultando em adultos com CAA significativamente diferentes entre populações.

Os padrões de coloração em *Heliconius erato phyllis*, entre sexos e regiões, provavelmente são influenciados pela interação fatores como: a) predação; b) seleção sexual; c) clima e micro clima (temperatura e pluviosidade); d) qualidade das plantas hospedeiras; e) hereditariedade.

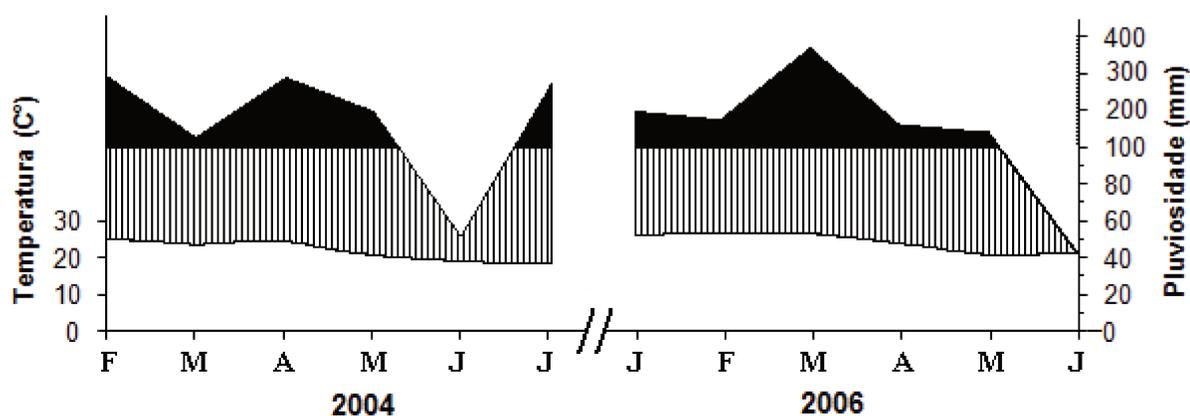
Para o número de raios, as normas de reação que resultam em caracteres alares específicos, parecem obedecer a fatores climáticos, qualidade das hospedeiras, alterações hormonais na fase de pupa e hereditariedade. Provavelmente, elevadas concentrações de pigmentos nas escamas depende de pupas com grandes volumes corpóreos, gerando grandes adultos e um maior número de raios. Temperaturas elevadas também podem ativar a produção de hormônios específicos que realçam cores e manchas. Isso ajuda a explicar exceções na correlação positiva entre CAA x RR, nesse caso efeitos contrários envolvendo temperatura e tamanho podem gerar indivíduos pequenos com muitos raios ou grandes com poucos raios.

Essas borboletas estão passando por um processo onde os padrões alares não estão estabelecidos devido às pressões seletivas locais que se opõem. Para responder esse tipo de questão seriam necessários uma série de testes que envolvessem: preferência por acasalamentos, heranças genéticas, palatabilidade, controle e choques de temperaturas durante o desenvolvimento larval e durante o crescimento de hospedeiras. Os resultados podem auxiliar em futuras elaborações de modelos e na melhoria do entendimento dos processos evolutivos dos padrões de coloração entre as subespécies de *Heliconius erato*.

### APÊNDICE – Dados climáticos

I.a. - Tabela. Dados climáticos da região Santos/São Vicente, SP para dois períodos em 2004 e 2006, contendo pluviosidades mensais e totais, número absoluto e % de dias com chuva, médias de temperaturas mensais e totais e o número de vezes que as temperaturas superaram 32°C e 34°C em cada mês (IAC-CIIAGRO 2009).

	Meses	Dias com chuva e (%)	Pluviosidade (mm)	Média T °C	T>32°C	T>34°C
Período de 2004	fevereiro	20 (69%)	297,8	25,0	8	2
	março	16 (52%)	126,5	24,2	3	1
	abril	20 (67%)	293,7	24,4	4	0
	maio	14 (45%)	187,2	20,6	0	0
	junho	5 (17%)	54,1	19,4	0	0
	julho	16 (52%)	255,8	18,8	0	0
		<b>Soma = 91</b>	<b>Soma = 1215,1</b>	<b>Média = 22,1</b>	<b>15</b>	<b>3</b>
Período de 2006	janeiro	10 (32%)	191,3	26,2	5	2
	fevereiro	16 (57%)	168,2	26,9	6	4
	março	16 (52%)	364,8	26,9	12	5
	abril	11 (37%)	151,1	24,1	2	0
	maio	14 (45%)	139,8	20,7	1	0
	junho	11 (37%)	44,0	21,2	0	0
		<b>Soma = 78</b>	<b>Soma = 1059,2</b>	<b>Média = 24,3</b>	<b>26</b>	<b>11</b>



I.b. Climatogramas da região de Santos/São Vicente, SP, para seis meses dos anos de 2004 e de 2006, considerando dois meses anteriores e correntes ao período de coleta.

## II – Registros obtidos a partir do World Clim e classificação climática segundo com Köppen.

### Vale do Rio Quilombo (VRQI-1). Clima tropical quente e úmido, inverno seco e verão quente/úmido (Af)

Latitude	Longitude	Altitude	Variáveis Bioclimáticas		Valores	
			Tmin	Tmax		Pluv
23° 51' 9"	46° 20' 14"	15 m			Média anual de Temperatura [1]	22
					Média mensal de variação de temperatura [2]	7.2
					Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	51.5
					Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	241
					Temperatura máxima do mês mais quente [5]	28.9
					Temperatura mínima do mês mais frio [6]	14.9
					Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	14
					Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	25.1
					Media de temperatura do quarto mais seco [9]	19.1
					Media de temperatura do quarto mais quente [10]	25.1
					Média de temperatura do quarto mais frio [11]	19.1
					Precipitação anual [12]	2528
					Precipitação do mês mais úmido [13]	328
					Precipitação do mês mais seco [14]	100
					Precipitação Sazonal (CV) [15]	40.5
					Precipitação do quarto mais úmido [16]	957
					Precipitação do quarto mais seco [17]	321
					Precipitação do quarto mais quente [18]	957
					Precipitação do quarto mais frio [19]	321
Anual	18.4	25.6	2528			

### Vale do Rio Quilombo (VRQI-2). Clima tropical quente e úmido, inverno seco e verão quente/úmido (Af)

Latitude	Longitude	Altitude	Variáveis Bioclimáticas		Valores	
			Tmin	Tmax		Pluv
23° 50'	46° 19' 34"	78 m			Média anual de Temperatura [1]	21.5
					Média mensal de variação de temperatura [2]	7.4
					Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	52.4
					Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	238.6
					Temperatura máxima do mês mais quente [5]	28.4
					Temperatura mínima do mês mais frio [6]	14.3
					Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	14.1
					Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	24.6
					Media de temperatura do quarto mais seco [9]	18.7
					Media de temperatura do quarto mais quente [10]	24.6
					Média de temperatura do quarto mais frio [11]	18.7
					Precipitação anual [12]	2679
					Precipitação do mês mais úmido [13]	344
					Precipitação do mês mais seco [14]	103
					Precipitação Sazonal (CV) [15]	40.6
					Precipitação do quarto mais úmido [16]	1005
					Precipitação do quarto mais seco [17]	334
					Precipitação do quarto mais quente [18]	1005
					Precipitação do quarto mais frio [19]	334
Anual	17.9	25.2	2679			

**Vale do Rio Quilombo (VRQI-3). Clima tropical quente e úmido, inverno seco e verão quente/úmido (Af)**

			<b>Variáveis Bioclimáticas</b>		Valores
<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Altitude</b>			
23° 49' 7"	46° 18' 28"	<b>66 m</b>		Média anual de Temperatura [1]	21.7
				Média mensal de variação de temperatura [2]	7.4
				Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	51.9
				Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	240
	<b>Tmin</b>	<b>Tmax</b>	<b>Pluv</b>	Temperatura máxima do mês mais quente [5]	28.6
Jan	21.7	28.1	329	Temperatura mínima do mês mais frio [6]	14.4
Fev	21.5	28.6	343	Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	14.2
Mar	20.5	28	329	Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	24.7
Abr	18.3	26.2	233	Media de temperatura do quarto mais seco [9]	18.8
Mai	16.1	24.7	163	Media de temperatura do quarto mais quente [10]	24.7
Jun	14.6	23.2	120	Média de temperatura do quarto mais frio [11]	18.8
Jul	14.4	22.4	103	Precipitação anual [12]	2665
Ago	15.6	22.4	110	Precipitação do mês mais úmido [13]	343
Set	16.4	23.3	159	Precipitação do mês mais seco [14]	103
Out	17.7	24.4	240	Precipitação Sazonal (CV) [15]	40.5
Nov	19	25.8	236	Precipitação do quarto mais úmido [16]	1001
Dez	19.9	27	300	Precipitação do quarto mais seco [17]	333
				Precipitação do quarto mais quente [18]	1001
Anual	18	25.3	2665	Precipitação do quarto mais frio [19]	333

**Morro do Voturuá (MRVT). Clima tropical quente e úmido, inverno seco e verão quente/úmido (Af)**

			<b>Variáveis Bioclimáticas</b>		Valores
<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Altitude</b>			
23° 57' 34"	46° 21' 43"	<b>109 m</b>		Média anual de Temperatura [1]	21.1
				Média mensal de variação de temperatura [2]	7.2
				Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	51.2
				Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	239.1
	<b>Tmin</b>	<b>Tmax</b>	<b>Pluv</b>	Temperatura máxima do mês mais quente [5]	28
Jan	21.3	27.5	345	Temperatura mínima do mês mais frio [6]	14
Fev	21.1	28	335	Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	14
Mar	20	27.4	332	Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	24.2
Abr	17.7	25.4	244	Media de temperatura do quarto mais seco [9]	18.2
Mai	15.5	23.9	172	Media de temperatura do quarto mais quente [10]	24.2
Jun	14	22.3	118	Média de temperatura do quarto mais frio [11]	18.2
Jul	14.1	21.9	111	Precipitação anual [12]	2733
Ago	15.3	21.8	110	Precipitação do mês mais úmido [13]	345
Set	16.1	22.8	167	Precipitação do mês mais seco [14]	110
Out	17.5	24	256	Precipitação Sazonal (CV) [15]	39.5
Nov	18.6	25.2	241	Precipitação do quarto mais úmido [16]	1012
Dez	19.3	26.3	302	Precipitação do quarto mais seco [17]	339
				Precipitação do quarto mais quente [18]	1012
Anual	17.5	24.7	2733	Precipitação do quarto mais frio [19]	339

**Morro do Xixová-JapuÍ. Clima tropical quente e úmido, inverno seco e verão quente/úmido (Af)**

Latitude	Longitude	Altitude	Variáveis Bioclimáticas		Valores		
			Tmin	Tmax		Pluv	
23° 59' 8"	46° 23' 25"	138 m				Média anual de Temperatura [1]	21
						Média mensal de variação de temperatura [2]	7.3
						Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	51.1
						Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	240.6
						Temperatura máxima do mês mais quente [5]	27.9
						Temperatura mínima do mês mais frio [6]	13.7
						Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	14.2
						Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	24.1
						Media de temperatura do quarto mais seco [9]	18.1
						Media de temperatura do quarto mais quente [10]	24.1
						Média de temperatura do quarto mais frio [11]	18.1
						Precipitação anual [12]	2811
						Precipitação do mês mais úmido [13]	358
						Precipitação do mês mais seco [14]	111
						Precipitação Sazonal (CV) [15]	39.8
						Precipitação do quarto mais úmido [16]	1037
						Precipitação do quarto mais seco [17]	344
						Precipitação do quarto mais quente [18]	1037
			Anual	17.3	24.6	2811	Precipitação do quarto mais frio [19]

**Forte dos Andradas (FAND). Clima tropical quente e úmido, inverno seco e verão quente/úmido (Af)**

Latitude	Longitude	Altitude	Variáveis Bioclimáticas		Valores		
			Tmin	Tmax		Pluv	
24° 1' 56"	46°16'53"	9 m				Média anual de Temperatura [1]	22.3
						Média mensal de variação de temperatura [2]	7.3
						Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	51.2
						Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	242.9
						Temperatura máxima do mês mais quente [5]	29.2
						Temperatura mínima do mês mais frio [6]	15
						Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	14.2
						Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	25.4
						Media de temperatura do quarto mais seco [9]	19.4
						Media de temperatura do quarto mais quente [10]	25.4
						Média de temperatura do quarto mais frio [11]	19.4
						Precipitação anual [12]	2624
						Precipitação do mês mais úmido [13]	358
						Precipitação do mês mais seco [14]	87
						Precipitação Sazonal (CV) [15]	43.8
						Precipitação do quarto mais úmido [16]	1000
						Precipitação do quarto mais seco [17]	300
						Precipitação do quarto mais quente [18]	1000
			Anual	18.7	25.9	2624	Precipitação do quarto mais frio [19]

**Morro do Santana (PALEG). Clima temperado úmido com verão quente (Cfa)**

			<b>Variáveis Bioclimáticas</b>		Valores
<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Altitude</b>			
30° 3' 59"	51° 7' 39"	110 m	Média anual de Temperatura [1]		18.9
			Média mensal de variação de temperatura [2]		9.4
			Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]		48.6
			Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]		355.4
	<b>Tmin</b>	<b>Tmax</b>	<b>Pluv</b>	Temperatura máxima do mês mais quente [5]	29.1
Jan	19.4	29.1	116	Temperatura mínima do mês mais frio [6]	9.8
Fev	18.9	28.1	120	Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	19.3
Mar	16.9	25.8	118	Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	15.8
Abr	13.7	22.7	107	Media de temperatura do quarto mais seco [9]	22.5
Mai	11	19.7	114	Media de temperatura do quarto mais quente [10]	23
Jun	9.8	18.7	141	Média de temperatura do quarto mais frio [11]	14.7
Jul	9.9	18.8	135	Precipitação anual [12]	1456
Ago	11.1	20.2	132	Precipitação do mês mais úmido [13]	142
Set	12.6	22.3	142	Precipitação do mês mais seco [14]	101
Out	14.6	24.8	122	Precipitação Sazonal (CV) [15]	11.1
Nov	16.5	27.2	101	Precipitação do quarto mais úmido [16]	409
Dez	16.5	26.1	108	Precipitação do quarto mais seco [17]	325
				Precipitação do quarto mais quente [18]	354
Anual	14.2	23.6	1456	Precipitação do quarto mais frio [19]	390

**Serra do Japí (S.JAPÍ). Clima tropical de altitude c/ inverno seco e verão temperado (Cwb)**

			<b>Variáveis Bioclimáticas</b>		Valores
<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Altitude</b>			
23°13'54"	46° 56' 7"	1052 m	Média anual de Temperatura [1]		16.8
			Média mensal de variação de temperatura [2]		10.8
			Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]		61.8
			Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]		235.4
	<b>Tmin</b>	<b>Tmax</b>	<b>Pluv</b>	Temperatura máxima do mês mais quente [5]	24.6
Jan	14.7	24.6	235	Temperatura mínima do mês mais frio [6]	7.1
Fev	14.9	24.4	215	Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	17.5
Mar	14.2	23.9	158	Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	19.4
Abr	12	22.4	60	Media de temperatura do quarto mais seco [9]	13.8
Mai	9.4	20.5	51	Media de temperatura do quarto mais quente [10]	19.5
Jun	7.8	19.4	45	Média de temperatura do quarto mais frio [11]	13.8
Jul	7.1	19.4	31	Precipitação anual [12]	1377
Ago	8.2	20.6	33	Precipitação do mês mais úmido [13]	235
Set	10	21.7	63	Precipitação do mês mais seco [14]	31
Out	11.7	22.5	133	Precipitação Sazonal (CV) [15]	67.1
Nov	13.1	23.5	140	Precipitação do quarto mais úmido [16]	663
Dez	13.9	23.8	213	Precipitação do quarto mais seco [17]	109
				Precipitação do quarto mais quente [18]	608
Anual	11.4	22.2	1377	Precipitação do quarto mais frio [19]	109

**Carmo da Cachoeira (CACH). Clima tropical de altitude c/ inverno seco e verão temperado (Cwb)**

				<b>Variáveis Bioclimáticas</b>	Valores
<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Altitude</b>		Média anual de Temperatura [1]	19.1
21° 29' 46"	45° 7' 55"	1046 m		Média mensal de variação de temperatura [2]	12.9
				Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	66.9
				Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	216.7
	<b>Tmin</b>	<b>Tmax</b>	<b>Pluv</b>	Temperatura máxima do mês mais quente [5]	27.5
Jan	16.2	27.5	260	Temperatura mínima do mês mais frio [6]	8.2
Fev	16.1	27	211	Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	19.3
Mar	15	26.2	179	Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	21.3
Abr	12.6	25.2	66	Media de temperatura do quarto mais seco [9]	16.4
Mai	9.8	23.7	37	Media de temperatura do quarto mais quente [10]	21.3
Jun	8.2	23	22	Média de temperatura do quarto mais frio [11]	16.1
Jul	8.3	23.7	15	Precipitação anual [12]	1480
Ago	9.8	25.4	20	Precipitação do mês mais úmido [13]	294
Set	12.1	26.4	65	Precipitação do mês mais seco [14]	15
Out	14.1	26.4	130	Precipitação Sazonal (CV) [15]	80.6
Nov	15	26.5	181	Precipitação do quarto mais úmido [16]	765
Dez	15	26.1	294	Precipitação do quarto mais seco [17]	57
				Precipitação do quarto mais quente [18]	650
Anual	12.7	25.6	1480	Precipitação do quarto mais frio [19]	74

**Brasília (BRAS). Clima tropical com estação seca de inverno tipo savana (Aw)**

				<b>Variáveis Bioclimáticas</b>	Valores
<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Altitude</b>		Média anual de Temperatura [1]	21.5
15° 44' 15"	47° 52' 51"	1010		Média mensal de variação de temperatura [2]	11
				Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	71.9
				Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	106.5
	<b>Tmin</b>	<b>Tmax</b>	<b>Pluv</b>	Temperatura máxima do mês mais quente [5]	28.3
Jan	17.4	26.9	278	Temperatura mínima do mês mais frio [6]	13
Fev	17.5	27.3	203	Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	15.3
Mar	17.1	27.1	214	Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	22
Abr	15.8	26.7	129	Media de temperatura do quarto mais seco [9]	20.5
Mai	14	26.2	30	Media de temperatura do quarto mais quente [10]	22.4
Jun	13	25.8	5	Média de temperatura do quarto mais frio [11]	19.9
Jul	13.6	26.9	9	Precipitação anual [12]	1567
Ago	15.2	28.3	11	Precipitação do mês mais úmido [13]	278
Set	17.1	28.3	44	Precipitação do mês mais seco [14]	5
Out	17.6	27.4	152	Precipitação Sazonal (CV) [15]	81.2
Nov	17.5	26.6	237	Precipitação do quarto mais úmido [16]	770
Dez	16.6	27	255	Precipitação do quarto mais seco [17]	25
				Precipitação do quarto mais quente [18]	433
Anual	16	27	1567	Precipitação do quarto mais frio [19]	44

**Recife (RECIF). Clima de Monção (Am)**

Latitude	Longitude	Altitude	Variáveis Bioclimáticas		Valores		
			Tmin	Tmax		Pluv	
8° 0' 19"	34° 56' 48"	62 m				Média anual de Temperatura [1]	25.3
						Média mensal de variação de temperatura [2]	6.7
						Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	70.2
						Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	104.1
						Temperatura máxima do mês mais quente [5]	30
						Temperatura mínima do mês mais frio [6]	20.4
						Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	9.6
						Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	24.3
						Media de temperatura do quarto mais seco [9]	25.9
						Media de temperatura do quarto mais quente [10]	26.4
						Média de temperatura do quarto mais frio [11]	23.9
						Precipitação anual [12]	1699
						Precipitação do mês mais úmido [13]	272
						Precipitação do mês mais seco [14]	30
						Precipitação Sazonal (CV) [15]	67.3
						Precipitação do quarto mais úmido [16]	799
						Precipitação do quarto mais seco [17]	116
						Precipitação do quarto mais quente [18]	344
			Anual	22	28.7	1699	Precipitação do quarto mais frio [19]

**Igarassú (IGARA). Clima de monção (Am)**

Latitude	Longitude	Altitude	Variáveis Bioclimáticas		Valores		
			Tmin	Tmax		Pluv	
7° 47' 9"	34° 56' 34"	49 m				Média anual de Temperatura [1]	25.2
						Média mensal de variação de temperatura [2]	8.3
						Isotermalidade (2/7) (* 100) [3]	72.4
						Temperatura Sazonal (STD * 100) [4]	109.4
						Temperatura máxima do mês mais quente [5]	30.8
						Temperatura mínima do mês mais frio [6]	19.4
						Variação anual de Temperatura (5-6) [7]	11.4
						Média de temperatura do quarto mais úmido [8]	24.1
						Media de temperatura do quarto mais seco [9]	25.8
						Media de temperatura do quarto mais quente [10]	26.3
						Média de temperatura do quarto mais frio [11]	23.6
						Precipitação anual [12]	1891
						Precipitação do mês mais úmido [13]	298
						Precipitação do mês mais seco [14]	39
						Precipitação Sazonal (CV) [15]	63.3
						Precipitação do quarto mais úmido [16]	856
						Precipitação do quarto mais seco [17]	130
						Precipitação do quarto mais quente [18]	424
			Anual	21.1	29.3	1891	Precipitação do quarto mais frio [19]

# **CAPÍTULO II: Efeitos da fragmentação e da latitude sobre a estrutura genética das populações**

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. Fragmentação das populações**

Os remanescentes de Florestas Estacionais Semidecíduas assim como de Florestas Ombrófilas Submontanas da Mata Atlântica, estão hoje claramente fragmentados devido às atividades agrícolas e a urbanização (FUNDAÇÃO S.O.S. MATA ATLÂNTICA & INPE 2003). Áreas de cerrado e de floresta amazônica também vêm sofrendo com a expansão das culturas de cana de açúcar, soja e com a pecuária (Brandão *et al.* 2007). Desde a época da colonização as ações antrópicas têm causado aumentos na fragmentação geográfica de muitas espécies e o empobrecimento de comunidades naturais, podendo levar a deriva ecológica e genética (Polus *et al.* 2007). Os processos de fragmentação tendem a reduzir a quantidade de habitat dentro da paisagem assim como sua conectividade, diminui o fluxo gênico entre populações aumentando seus níveis de isolamento, endogamia e diferenciação (Fahrig 2003; Keyghobadi *et al.* 2005 e 2006; Hughes *et al.* 2006).

Estudos populacionais em remanescentes florestais ao longo de variações climáticas podem fornecer importantes informações de como a estruturação genética de uma espécie pode ser afetada; além disso, são importantes nos estudos evolutivos, no desenvolvimento de novos planos de manejo e conservação (Zakharov & Hellmann 2008).

A teoria dos refúgios ressalta que a grande diversidade nos trópicos teria surgido devido aos processos de fragmentação de florestas (Vanzolini & Williams 1970; Vanzolini 2002). Durante a glaciação algumas regiões tornaram-se mais frias e secas formando fragmentos isolados com especiações locais subsequentes. Nos períodos de interglaciação, o clima mais quente e úmido restabeleceu os contatos entre as populações em ilhas de florestas, aumentando a diversidade local (Vanzolini & Williams 1970, Vanzolini 2002, Knapp & Mallet 2003). Considerando uma escala de tempo mais recente (50-500 anos) em analogia ao modelo de refúgios (10-30 mil

anos), a fragmentação por ação antrópica pode dar uma idéia sobre os níveis ou ritmos de diferenciação genética entre populações isoladas.

A fragmentação das populações de *H. erato phyllis* em diferentes climas e biomas pode ter criado alterações significativas na estrutura genética em curtos períodos. A utilização de marcadores microssatélites, sensíveis a variações recentes, pode informar se isolamentos atuais afetaram a variabilidade e a estruturação genética dessas populações.

## **1.2. A distribuição de *Heliconius erato phyllis***

A borboleta *H. erato* possui 29 subespécies distribuídas pelos neotrópicos, desde o Texas ao nordeste do Peru e norte da Argentina (Brown 1979; Baigts 1992). As “subespécies” apresentam diversos padrões de coloração, participam de diferentes anéis miméticos e servem de modelo ou são co-mímico de outras borboletas (Mallet & Barton 1989). A maior parte delas se concentra entre os trópicos e a região do Equador (Brown 1979), mas existem duas subespécies no hemisfério norte, *H. erato petiverana* e *H. erato punctata*, cujas populações atingem regiões próximas ao Trópico de Câncer (Baigts 1992). *H. erato phyllis* possui a distribuição mais ampla, ocorrendo desde a região equatorial atingindo regiões temperadas do hemisfério sul (Figura 13). Além de ocupar vários climas, *H. erato phyllis* ocorre em diferentes formações florestais como campos sulinos, cerrado, mata de cocais e mata atlântica (Brown 1979).

Um estudo feito por Mallet (1986) mostrou que *Heliconius erato petiverana* apresenta boa capacidade de dispersão. A subespécie apresentou altos níveis de heterozigosidade e baixa estruturação entre populações a 5 km de distância. Entretanto, sua capacidade de dispersão é menor quando comparada a outras borboletas como monarcas, pierídeos e papílionídeos, que possuem níveis de estruturação ainda mais baixos (Mallet 1986). Por outro lado, considerando a ampla distribuição da subespécie *H. erato phyllis*, sua capacidade de dispersão pode ser grande e seus níveis de estruturação podem ser mais baixos, quando comparada a outras subespécies de *H. erato* que apresentam distribuições mais restritas.

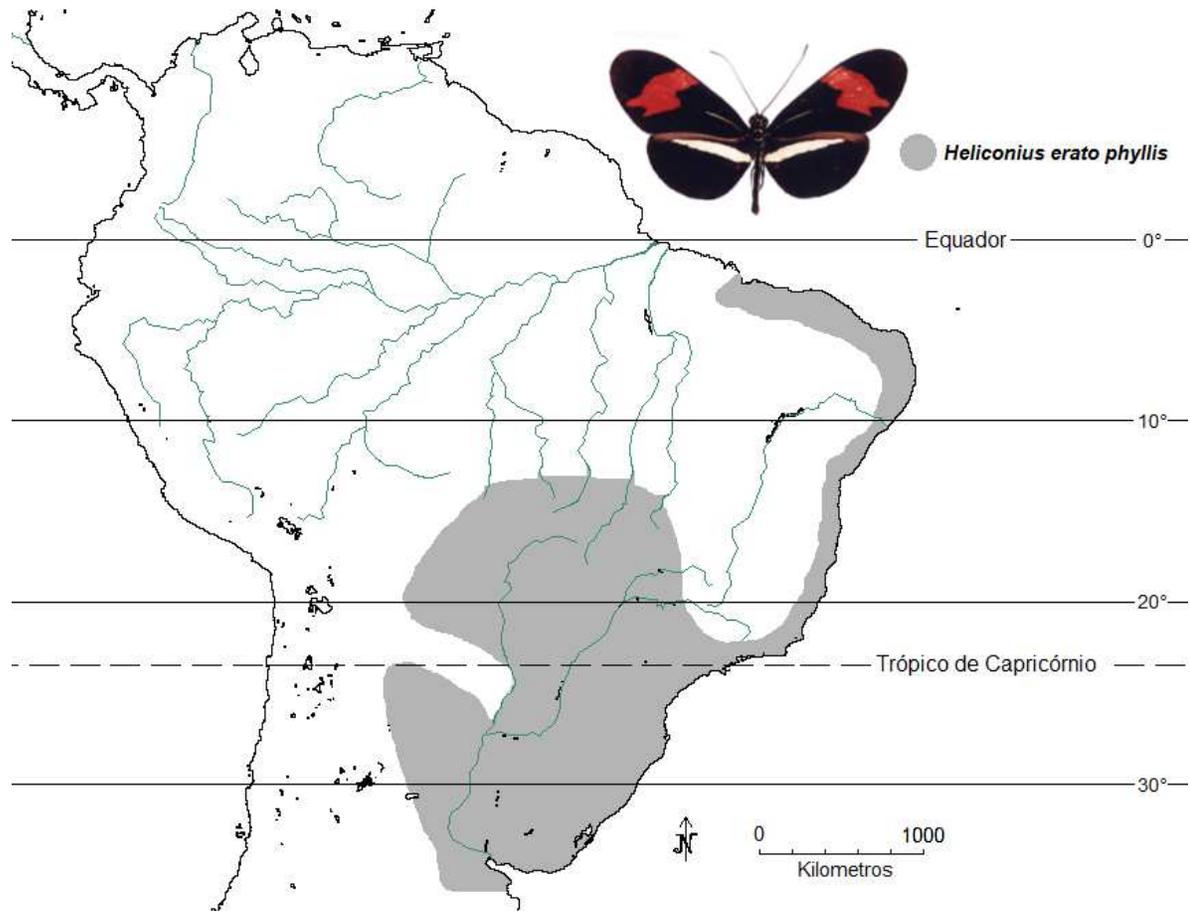


Figura 13. Área de distribuição da subespécie *Heliconius erato phyllis* ao longo de diferentes zonas climáticas na região Neotropical (Brown 1979).

### 1.3. O efeito das hospedeiras na dispersão das populações de fitófagos

*Heliconiini* é um dos grupos mais bem estudados e conhecidos devido a sua estreita relação com as plantas do maracujá (Gilbert 1975; Benson *et al.* 1976; Brown 1981), podendo aceitar cerca de 20 espécies de *Passifloraceae* como hospedeiras (K. S. Brown e W. W. Benson, comunicação pessoal). As distribuições de plantas assim como sua abundância promovem dispersões das populações de fitófagos para novos locais, podendo resultar em uma série de efeitos fundadores (Oliver 2006; Dover & Settle 2009). Desse modo, a mesma espécie de fitófago pode apresentar diferenças na estrutura populacional devido a mudanças na distribuição de suas hospedeiras. Algumas populações de fitófagos nativos podem explorar inclusive novos recursos introduzidos, tornando-se dependentes de plantas exóticas ou antropogênicas (Oliver 2006).

Variações geográficas também contribuem para alterações nos padrões de utilização de hospedeiras (Mitter & Futuyma 1983), como: a) níveis locais de nutrientes para plantas (Bethann & Oberhauser 2004); b) fenologia (Rausher 1978; Kuussaari *et al.* 2000); c) diferenças genéticas (Tscharntke & Brandl 2004) e d) abundância (Kuussaari *et al.* 2000). As plantas são vistas como uma grande oportunidade para oviposição e variações apresentadas por elas podem promover diferenças em pequena escala geográfica na preferência dos fitófagos (Singer *et al.* 1992).

*Heliconius erato phyllis* apresenta populações com padrões distintos no uso de hospedeiras (Rodrigues e Moreira 2002): as borboletas são mais especializadas próximas à região do Equador e tornam-se mais generalistas à medida que se aproximam da zona temperada (Benson 1978). Essa característica pode ser uma resposta comportamental, de uma espécie exposta a problemas específicos locais, o que poderia estar associado à alta variabilidade genética. Por outro lado, existe a possibilidade da espécie apresentar populações com diferenças genéticas suficientes responsáveis pela especialização no comportamento e também na fisiologia, resultando na especialização no uso de hospedeiras.

Os padrões atuais de utilização de hospedeiras por insetos fitófagos indicam que as mudanças de hospedeiras foram eventos preponderantes na diversificação dos insetos (Bush & Diehl, 1982). Estudos envolvendo ferramentas genéticas podem ajudar no entendimento das interações insetos-plantas em diferentes populações (Solferini & Selivon. 2000).

Apesar das regiões tropicais apresentarem maiores riquezas de espécies e de nichos, poucos estudos foram realizados na América do Sul abordando a variabilidade genética e a amplitude de hospedeiras das populações ao longo da distribuição de uma espécie. O conhecimento da estrutura genética molecular das populações, em diferentes fragmentos, fornecerá subsídios para estudar seus níveis de diferenciação. Os resultados desse estudo podem subsidiar o manejo e conservação de populações fragmentadas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Espécie estudada, sítios, coletas e acondicionamento

Todos os sítios amostrados no CAPÍTULO I, exceto a Serra do Japí, foram utilizados neste estudo e os mesmos indivíduos coletados foram aproveitados nas análises moleculares. A ferramenta de captura e o acondicionamento dos indivíduos no campo seguiram a mesma metodologia do CAPÍTULO I.

### 2.2. Coleta temporal

Além das capturas em diferentes regiões climáticas, foram feitas duas amostragens no Morro do Voturuá (MRVT), São Vicente, SP, com intervalo de dois anos. No ano de 2004 foram coletados 31 indivíduos e no ano de 2006, 29 indivíduos. Dados climáticos como temperatura e pluviosidade e disponibilidade de planta hospedeira foram considerados.

### 2.3. Áreas e distâncias entre fragmentos florestais

As imagens dos fragmentos florestais estudados, foram obtidas a partir do programa Google Earth 5.0.1 (GOOGLE 2009) e suas áreas em Km<sup>2</sup> foram estimadas pelo programa Image Tool 3.00 (Wilcox *et al.* 2002). As distâncias geográficas entre os sítios foram obtidas a partir do ponto central de coleta de cada fragmento com o auxílio da régua de distâncias do Google Earth 5.0.1 (GOOGLE 2009). As abordagens espaciais englobaram três escalas: micro, regional e macro, entre sítios e entre regiões (agrupamento de sítios em um raio de 30 km).

### 2.4. Extração do DNA

As borboletas conservadas em etanol 95% ou DMSO, tiveram o DNA extraído a partir de uma adaptação do protocolo sugerido pelo *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*. **Etapas:** 1<sup>a</sup>) maceração da metade do tórax do indivíduo; 2<sup>a</sup>) adição de 600 µL de solução de lise (*Cell Lysin Solution*); 3<sup>a</sup>) aquecimento do macerado a 65°C / 45 min para amostras conservadas em DMSO e 2-h para amostras conservadas em etanol; 4<sup>a</sup>) descanso das amostras / 4-min a temperatura ambiente; 5<sup>a</sup>) adição de 200µL de solução de precipitação de proteínas (*Protein Precipitation Solution-PPS - Promega*); 6<sup>a</sup>) homogeneização das amostras ao vortex por 20-s;

7<sup>a</sup>) resfriamento das amostras em gelo / 5-min; 8<sup>a</sup>) centrifugação / 6-min. a 13000 rpm e 25°C; 9<sup>a</sup>) transferência do sobrenadante para um novo microtubo com 600µL de álcool isopropílico absoluto; 10<sup>a</sup>) amostras levadas ao Biofreezer a -84°C / 45-min.; 11<sup>a</sup>) descongelamento; 12<sup>a</sup>) centrifugação das amostras / 2-min a 13000 rpms e 25°C; 13<sup>a</sup>) descarte do sobrenadante; 14<sup>a</sup>) adição de 600µL de etanol a 70% para cada microtubo e agitação manual durante 1-min para que o DNA desprenda das paredes do recipiente; 15<sup>a</sup>) centrifugação das amostras / 2- min a 13000 rpm e 25°C com posterior descarte dos sobrenadantes; 16<sup>a</sup>) secagem dos microtubos / 15-min; 17<sup>a</sup>) adição de 100µL de solução de Tris EDTA para a reidratação do DNA (*DNA Rehydration Solution*); 18<sup>a</sup>) agitação manual dos microtubos para diluir o DNA; 19<sup>a</sup>) repouso por 10 min; 20<sup>a</sup>) congelamento para estocagem.

## 2.5. PCR, eletroforese e genotipagem

Os *primers* desenvolvidos por Flanagan (2002) para *H. erato petiverana* foram aplicados com sucesso em *H. erato phyllis*. Cinco *loci* foram usados nas análises: Hel 03, Hel 05, Hel 08, Hel 13 e Hel 15. O protocolo aplicado por Flanagan (2002) sofreu algumas adaptações: a reação de amplificação (PCR) dos *loci* de microsátélites foi obtida em um volume total de 25 µL por amostra e: 1x PCR buffer; 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 200 µM dNTP; 0,4 µM de cada *primer*; 1 u *Brazilian Taq* (Invitrogen); BSA 10%; 1 µL de DNA e H<sub>2</sub>O (*milli Q*). O programa do termociclador (Hybaid) foi composto por (1x) 3-min a 94°C; (30x) 30-s a 94°C, 30-s à temperatura de pareamento específica para cada loco (58-60°C), 45-s a 72°C; (1x) 10-min a 72°C. A genotipagem dos indivíduos foi feita por eletroforese em gel de poliacrilamida 6% e corrida com voltagem constante de 100 volts/70mA/6 h. Os produtos de PCR foram comparados com um marcador *ladder* (Invitrogen) de 50 bp para estimar o tamanho dos alelos. Após a corrida, os géis foram corados com prata seguindo protocolo de Creste *et al.* (2001). O número de pares de bases de cada fragmento foi estimado com o auxílio do programa computacional DNAFRAG (Schaffer & Sederoff 1981).

## 2.6. Análises dos dados

Os resultados sofreram correções para alelos nulos, de acordo com Chapuis & Estoup (2007), utilizando-se o programa FreeNa.

A variabilidade genética de cada população foi estimada com os parâmetros: a média de alelos por loco ( $A$ -total, raros com frequência abaixo de 0,05 e exclusivos), e heterozigosidade. Diferenças entre as populações quanto a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) e heterozigosidade observada ( $H_o$ ) foram verificadas pelo teste de permutação com o programa Genetix (Belkhir *et. al.* 2004). Desvios das frequências genótípicas em relação ao esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg foram testados usando o coeficiente de endogamia  $F_{IS}$  (usando o programa Genetix).

Testes G de Williams foram aplicados para testar as diferenças entre as proporções de alelos nas populações estudadas (BioEstat 5.0 - Ayres *et al.* 2007). Para os índices de fixação  $F_{ST}$  e  $F_{IS}$  (Wright 1978) foram usados os estimadores  $\theta$  e  $f$  (Weir & Cockerham 1984). As probabilidades estatísticas foram obtidas pela permutação aleatória de indivíduos entre as amostras populacionais, “n” vezes, com posterior correção sequencial de Bonferroni (Holm 1979). As estruturas populacionais resultantes foram testadas através de uma análise hierárquica da divisão da variância total em componentes de covariância, devido a diferenças intra-individuais, interindividuais, ou interpopulacionais. A significância do  $\theta$  loco-a-loco foi calculada utilizando o método de permutações e seguindo as recomendações de Sokal & Rohlf (2001). Os valores de  $\theta$  por loco que apresentaram algum grau de estruturação foram classificados de acordo com Wright (1978).

A correlação entre a distância genética ( $\theta$ ) e a distância geográfica entre pares de populações (Reynolds *et al.* 1983, Manly 1985), foi realizada em um teste de Mantel (1967) baseado nos pressupostos de Rousset (1997). Os valores das distâncias geográficas em Km, foram transformados de acordo com os algoritmos Box-Cox (Gotelli & Ellison 2004), utilizando o programa BioEstat 5.0 (Ayres *et al.* 2007). As diferenças entre os valores  $\theta$  para todas as populações do Brasil foram obtidas ao teste de “z” utilizando o programa BioEstat 5.0 (Ayres *et al.* 2007).

As variáveis como números de alelos, níveis de heterozigosidade e diversidade genética, foram aplicadas em uma análise de regressão linear, em relação à área de seus fragmentos.

As estatísticas descritas foram aplicadas às populações nas três escalas espaciais: 1) micro - dentro das populações do VRQI; 2) mediana - regional (Baixada Santista); 3) macro - a) entre os sítios, b) entre regiões considerando todos os sítios em um raio de 30 km como uma só população.

Os parâmetros envolvendo variabilidade,  $n^{\circ}$  total de alelos por população e  $\theta$ , foram aplicados na comparação temporal das populações do MRVT e na comparação entre padrões de coloração das asas anteriores (A; NT; V; J+AV – vide capítulo I).

Para todos os testes estatísticos o nível de significância adotado foi  $\alpha = 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Análises espaciais

Considerando todas as populações, o número total de alelos encontrados para cada loco foi: Hel 15 = 35; Hel 13 = 23; Hel 08 = 14; Hel 05 = 44 e Hel 03 = 35.

##### 3.1.1. Microescala – Vale do Rio Quilombo

Os padrões de distribuição dos alelos não apresentaram diferenças significativas entre os três setores de coletas (Teste G-Williams = 1,14;  $p = 0,88$ ). O número de alelos raros apresentou alta frequência em relação aos alelos exclusivos nos três setores (Figura 14).

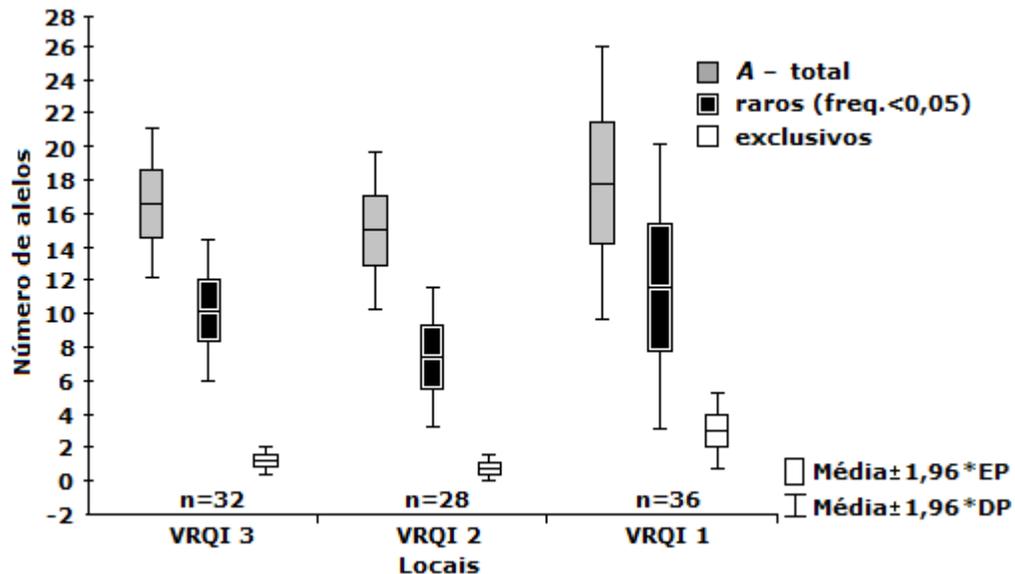


Figura 14. Média, desvio padrão (DP) e erro padrão (EP) do número de alelos por loco, considerando o total de alelos (*A-total*), número de alelos raros (frequências < 0,05), número de alelos exclusivos, e o tamanho das amostras (n) nos três setores do Vale do rio Quilombo (VRQI).

As heterozigosidades  $He$  e  $Ho$  não foram significativamente diferentes entre os setores, assim como os valores de  $F_{IS}$ . Para todos os setores, o intervalo de confiança de 95% foi de -0,00577 (-0,029 — 0,0092). Entretanto os intervalos de confiança apontam para valores que se sobrepõem entre os três setores (Figura 15).

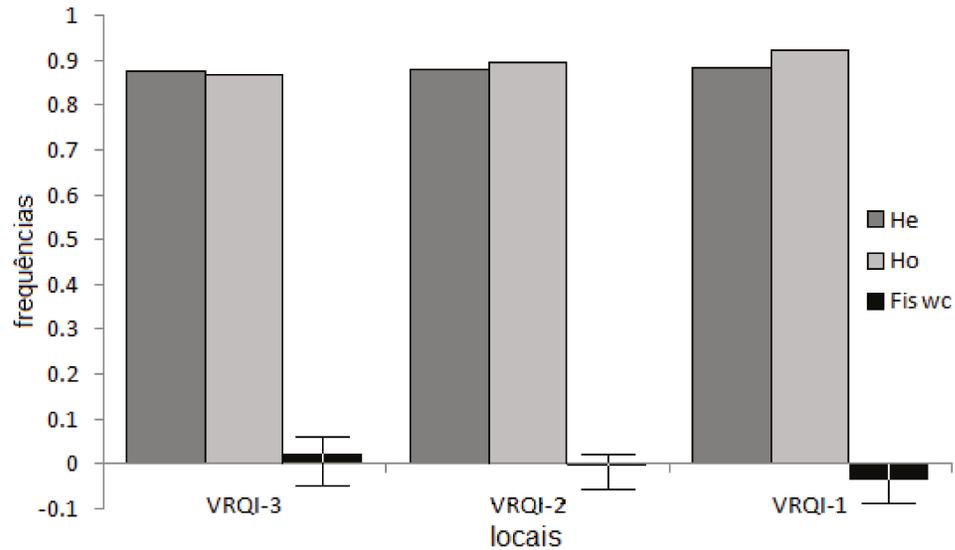


Figura 15. Heterozigosidade esperada ( $He$ ), observada ( $Ho$ ) e  $F_{IS}$  (com intervalo de confiança 95%) de acordo com Weir & Cockerham (1984), para os três setores de coleta (3, 2 e 1) do VRQI.

Os valores de  $\theta$  par a par entre as populações do VRQI, também não foram significativos 0,01918 (0,0104 — 0,0264) (Tabela 5). O teste de isolamento por distância (Mantel, 1967) com aplicação dos pressupostos de Rousset (1997), indicou que as distâncias geográficas entre as populações não podem explicar suas distâncias genéticas (“Z” de Mantel; valor “p” para os dois lados da curva = **0,334** > 0,05 e **1** > 0,95).

Tabela 5. Distâncias genéticas  $\theta$  (em negrito) entre os setores 1, 2 e 3 do VRQI e respectivas distâncias geográficas (Km).

	Km	VRQI 2	VRQI 1
$\theta$	VRQI 3	<b>2,5</b>	<b>5</b>
VRQI 2	<b>0,0193</b>	VRQI 2	<b>2,5</b>
VRQI 1	<b>0,0224</b>	<b>0,0155</b>	VRQI 1

### 3.1.2 Escala regional – Baixada Santista

As populações da Baixada Santista apresentaram padrões semelhantes para o número de alelos, sem diferenças significativas entre as proporções de alelos raros por locus e de alelos

exclusivos em relação a média do número total de alelos (Teste G- Williams = 3,2;  $p = 0,97$ ). Apenas o MRVT não apresentou alelos exclusivos (Figura 16).

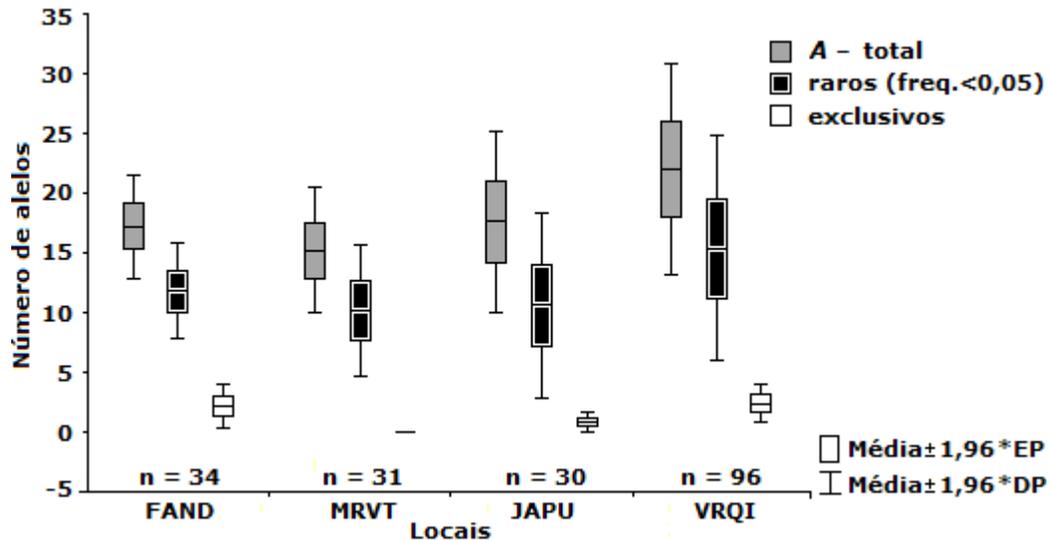


Figura 16. Média, desvio padrão (DP) e erro padrão (EP) do número de alelos por loco, considerando o total de alelos (*A-total*), número de alelos raros (frequências < 0,05), número de alelos exclusivos, e o tamanho das amostras (*n*) nos sítios da Baixada Santista.

As populações da Baixada Santista apresentaram valores altos e semelhantes quanto à diversidade gênica (*He*) e frequência de heterozigotos (*Ho*); os coeficientes de endogamia (*F<sub>IS</sub>*) não foram significativos; *F<sub>IS</sub>* para todas as populações foi -0,0028 (IC 95% = -0,0303 — 0,019) (Figura 17).

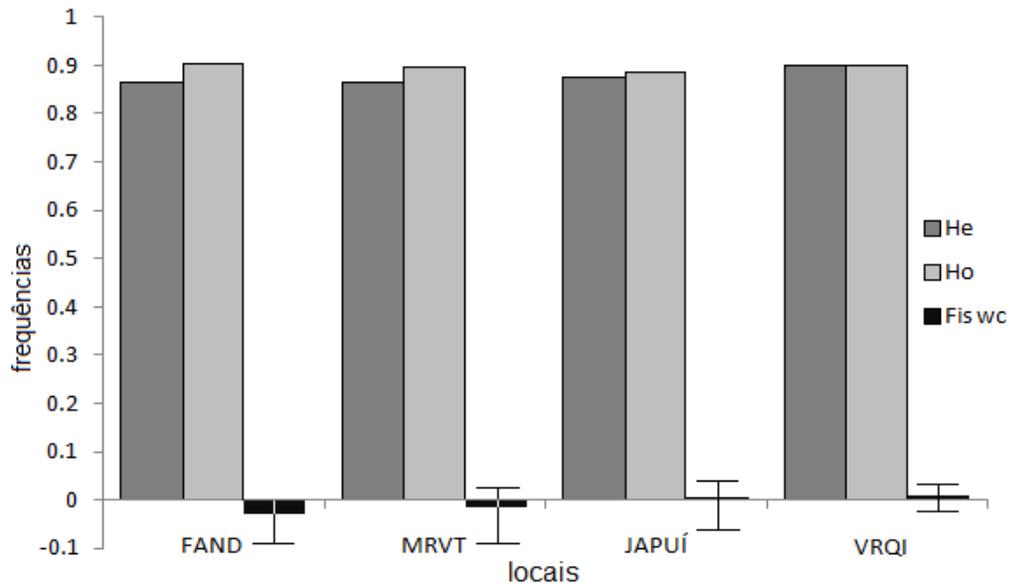


Figura 17. Heterozigosidade esperada (*He*), observada (*Ho*) e *Fis* (com intervalo de confiança 95%) de acordo com Weir & Cockerham (1984) para os sítios da Baixada Santista.

Considerando todas as populações, o valor de  $\theta$  foi de 0,0189 (IC95% = 0,0065 — 0,0342) indicando baixa estruturação de acordo com Wright (1978) (Tabela 6). O teste de isolamento por distância, não revelou estruturação populacional dependente do distanciamento geográfico entre as populações (“Z” de Mantel; valor “p” para os dois lados da curva = **0,0823**>0,05 e **0,9576**>0,95).

Tabela 6. Matriz de correlação contendo os valores  $\theta$  (em negrito) e as respectivas distâncias geográficas (Km) entre as populações da Baixada Santista.

	Km	MRVT	JAPUÍ	VRQI
$\theta$	FAND	11,5	12	22,5
MRVT	<b>0,0355</b>	MRVT	4	14,5
JAPUÍ	<b>0,0204</b>	<b>0,0359</b>	JAPUÍ	18
VRQI	<b>0,0142</b>	<b>0,011</b>	<b>0,0205</b>	VRQI

### 3.1.3 Macroescala – Brasil

A média do coeficiente de endogamia  $F_{IS}$ , para todas as populações foi -0,0167 (IC 95% = -0,0323 — -0,0007). As populações apresentaram valores altos e semelhantes de  $H_e$  e  $H_o$  e valores  $F_{IS}$  próximos a zero, com exceção das populações CACH e BRAS que apresentaram valores significativos de  $F_{IS}$  (Figura 18).

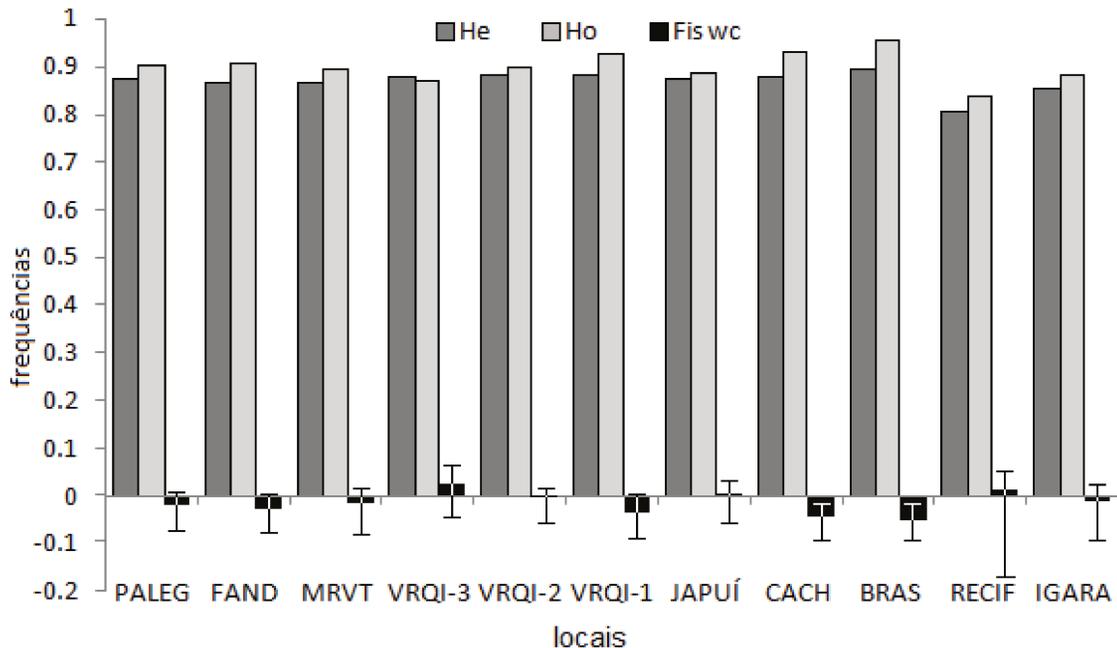


Figura 18. Heteroziguidade esperada ( $H_e$ ), observada ( $H_o$ ) e  $F_{IS}$  (com intervalo de confiança 95%) de acordo com Weir & Cockerham (1984) para todos os sítios estudados.

Considerando todas as populações, o  $\theta$  foi 0,025 (IC 95% = 0,0163 — 0,0329), indicando baixa estruturação genética. Os valores de  $\theta$  entre pares de populações foram na maioria muito baixos, sem indicação de estruturação moderada (Tabela 7), e o teste de “Z” não revelou diferença significativa entre eles. Os maiores valores de  $\theta$  foram encontrados entre a população RECIF e as demais (Tabela 7). Comparando o RECIF com os sítios da Baixada Santista (VRQI 1, VRQI2, VRQI 3, FAND, MRVT, JAPUÍ), observa-se valores de  $\theta$  superiores a 0,05, indicando estruturação moderada de acordo com Wright (1978). Por outro lado, a comparação entre os sítios mais distantes, IGARA e PALEG, mostra um valor muito baixo para  $\theta$ . O teste de Mantel (1967), entre as matrizes de valores de  $\theta$  e de distância geográfica (Km), indicou não haver correlação entre os dois parâmetros (“Z” de Mantel; valor “p” para os dois lados da curva = **0,1542**>0,05 e **0,8458**<0,95). Nesse caso as distâncias genéticas não podem ser explicadas pelo distanciamento geográfico.

Para cada população, a média de alelos ( $A$  - total, raros e exclusivos), os níveis de heterozigidade e diversidade, não apresentaram correlação com as áreas dos fragmentos.

Tabela 7. Matriz de correlação entre os valores  $\theta$  (células brancas) em cada população e as distâncias geográficas (Km) (células de cor cinza com letras em negrito) entre as populações no Brasil. As células vermelhas exibem valores  $\theta$  que indicam estruturação moderada e as células pretas os valores  $\theta$  entre populações com as maiores distâncias geográficas.

	Km	BRAS	CACH	MRVT	IGARA	JAPUI	VRQI 3	VRQI 2	VRQI 1	RECIF	PALEG
$\theta$	FAND	934	304,5	11,5	2166,5	12	26	24	22	2146	822,5
BRAS	<b>0,0167</b>	BRAS	700,5	924	1661	926,6	908	910	912	1647	1620,5
CACH	<b>0,0299</b>	<b>0,0166</b>	CACH	300,5	1870	304,5	281	284	287	1850,5	1222,5
MRVT	<b>0,0355</b>	<b>0,0202</b>	<b>0,0431</b>	MRVT	2165	4	19,5	16,5	13,5	2144	825,5
IGARA	<b>0,0174</b>	<b>0,015</b>	<b>0,0429</b>	<b>0,0418</b>	IGARA	2169	2148	2151	2154	24	2989
JAPUI	<b>0,0204</b>	<b>0,021</b>	<b>0,0243</b>	<b>0,0359</b>	<b>0,0421</b>	JAPUI	23,5	20,5	17,5	2148	820,5
VRQI 3	<b>0,0277</b>	<b>0,0134</b>	<b>0,0352</b>	<b>0,02</b>	<b>0,0229</b>	<b>0,0299</b>	VRQI 3	2,5	5	2125	844
VRQI 2	<b>0,0253</b>	<b>0,0206</b>	<b>0,0295</b>	<b>0,0193</b>	<b>0,0409</b>	<b>0,0301</b>	<b>0,0193</b>	VRQI 2	2,5	2128	841
VRQI 1	<b>0,0121</b>	<b>0,0122</b>	<b>0,0281</b>	<b>0,015</b>	<b>0,0245</b>	<b>0,0225</b>	<b>0,0224</b>	<b>0,0155</b>	VRQI 1	2131	838
RECIF	<b>0,053</b>	<b>0,0473</b>	<b>0,0419</b>	<b>0,0627</b>	<b>0,0491</b>	<b>0,0537</b>	<b>0,0549</b>	<b>0,067</b>	<b>0,0556</b>	RECIF	2968,5
PALEG	<b>0,0151</b>	<b>0,0046</b>	<b>0,0226</b>	<b>0,0288</b>	<b>0,0108</b>	<b>0,0171</b>	<b>0,0146</b>	<b>0,0176</b>	<b>0,0149</b>	<b>0,0387</b>	PALEG

### 3.1.4 Regiões

O valor de  $\theta$ , para todas as populações foi de 0,0143 (IC95% = 0,0089 — 0,0195), valor muito baixo e inferior aos encontrados nas comparações em micro escala. As comparações entre agrupamentos regionais de populações mostraram diferenças genéticas menores em relação às encontradas individualmente para cada população no Brasil (Tabela 8).

Tabela 8. Matriz de correlação contendo os valores  $\theta$  (células de cor cinza com letras em negrito) e as distâncias geográficas (Km) entre as regiões.

	Km	CACH	RECIF	SANTOS	PALEG
$\theta$	BRAS	700,5	1654	916,12	1620,5
CACH	0,0166	CACH	1860,25	291,4	1222,5
RECIF	0,0145	0,0322	RECIF	2146	2978,75
SANTOS	0,0071	0,0215	0,0191	SANTOS	830,7
PALEG	0,0046	0,0226	0,0085	0,0079	PALEG

Não foram encontradas correlações entre as distâncias genéticas e geográficas, de acordo com teste de Mantel (1967) (valor “p” para os dois lados da curva =  $0,4334 > 0,05$  e  $0,5824 < 0,95$ ), indicando que não ocorreu isolamento por distância.

Considerando todos os agrupamentos e populações, o coeficiente de endogamia tendeu a zero ( $F_{IS} = 0,0099$ ) mas dentro do intervalo de confiança (IC95% =  $-0,0131$  —  $0,0291$ ). BRAS e CACH apresentam tendências para  $F_{IS}$  negativos ao contrário dos demais (Figura 19).

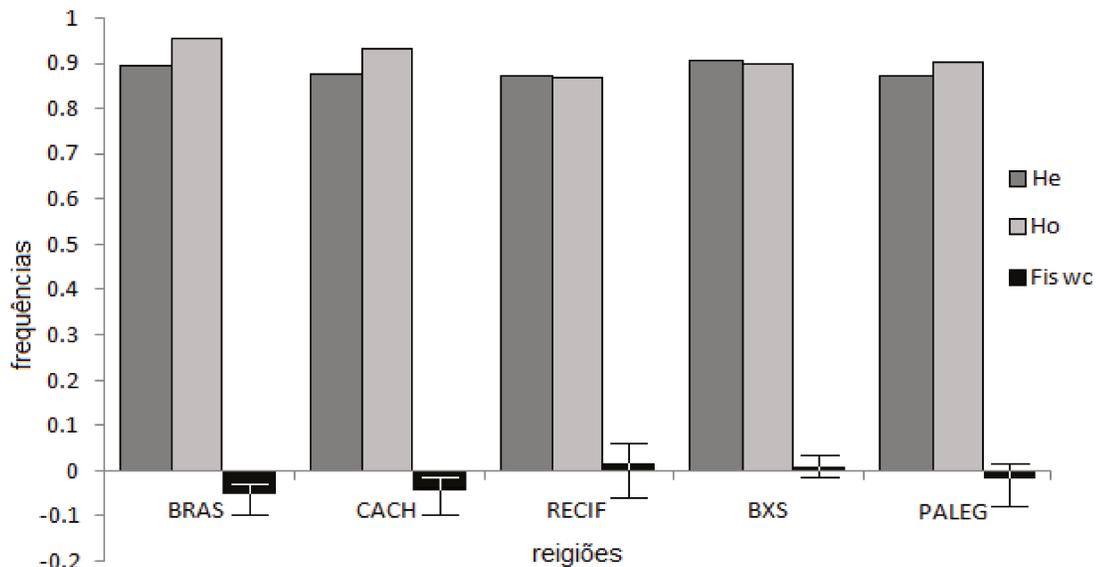


Figura 19. Heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), observada ( $H_o$ ) e  $F_{IS}$  (com intervalo de confiança 95%) nos dois agrupamentos regionais (Baixada Santista – BXS; Recife – RECIF) e nas três populações que não formam agrupamentos (Brasília – BRAS, Carmo da Cachoeira – CACH e Porto Alegre – PALEG).

Com relação a média de alelos por loco, destaca-se o agrupamento BXS que apresenta o maior número de alelos ( $A$ -total), assim como de alelos raros e exclusivos, em relação aos demais agrupamentos e populações (Teste G-Williams = 26,9;  $p = 0,0007$ ) (Figura 20).

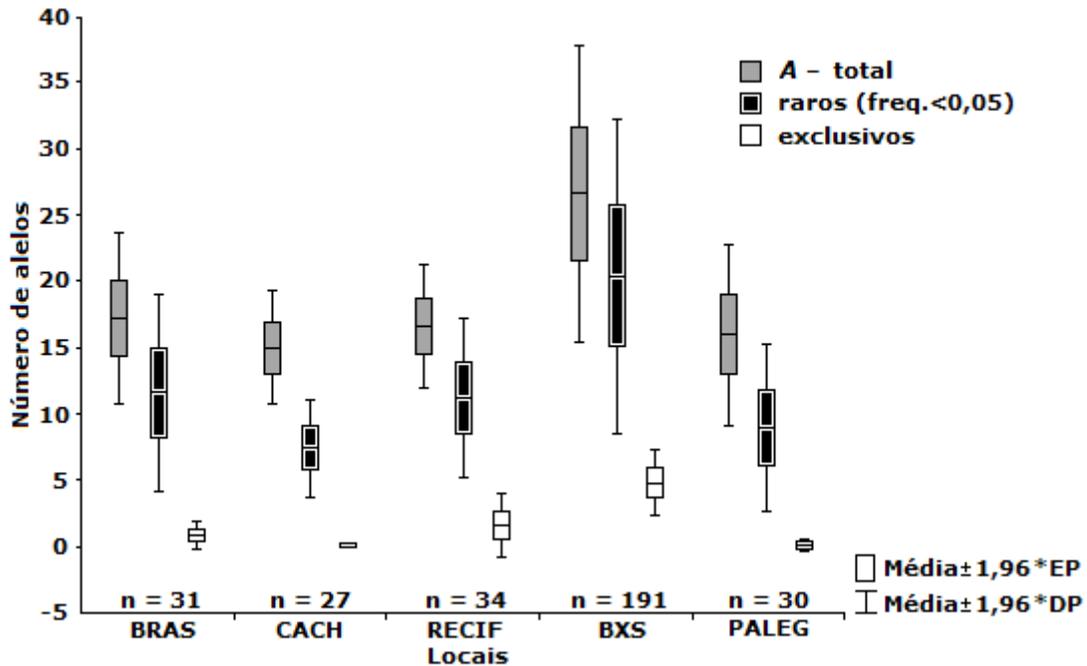


Figura 20. Média, desvio padrão (DP) e erro padrão (EP) do número de alelos por loco, considerando o total de alelos (*A-total*), número de alelos raros (frequências < 0,05) e de alelos exclusivos, e o tamanho das amostras (n) nos sítios Brasília, DF (BRAS), Carmo da Cachoeira, MG (CACH), Porto Alegre, RS (PALEG) e nas regiões do Recife, PE (RECIF) e da Baixada Santista (BXS).

### 3.2 Análises temporais

As populações do MRVT não apresentaram diferenças significativas quanto aos números de alelos entre as amostras de 2004 e 2006 (Figura 21). Mesmo considerando proporções dos números de alelos raros e exclusivos em relação ao *A-total*, não foram observadas diferenças significativas entre os dois períodos (Teste-G Williams = 0,18;  $p = 0,91$ ).

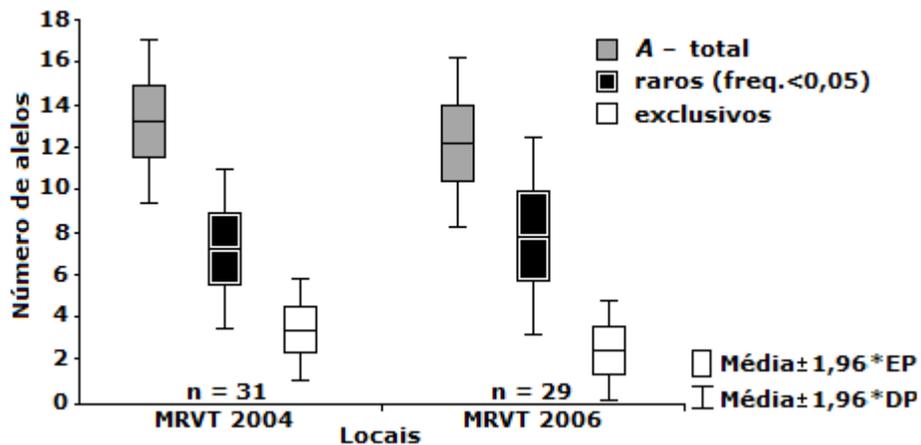


Figura 21. Média, desvio padrão (DP) e erro padrão (EP) do número de alelos por loco, considerando o total de alelos (*A-total*), número de alelos raros (frequências < 0,05) e de alelos exclusivos, e o tamanho das amostras (n), pertencentes a dois períodos, nos anos de 2004 e 2006, no Morro do Voturuá, São Vicente, SP.

As heterozigosidades médias esperada ( $H_e$ ) e observada  $H_o$  não foram significativamente diferentes entre os dois anos estudados (Figura 22). O coeficiente de endogamia  $F_{IS}$  em 2004 foi 0,00403 (IC 95% = 0,0718 — - 0,0494) e em 2006 o coeficiente de endogamia foi negativo ( $F_{IS} = -0,16005$  e IC 95% = -0,2531 — -0,1097), indicando aumento de heterozigosidade em relação ao ano anterior (Figura 22). O valor  $\theta$  entre os dois momentos foi de 0,051 (IC 95% = 0,0235 — 0,083), que segundo os critérios de Wright (1978) aponta para uma pequena porém significativa diferenciação genética entre elas.

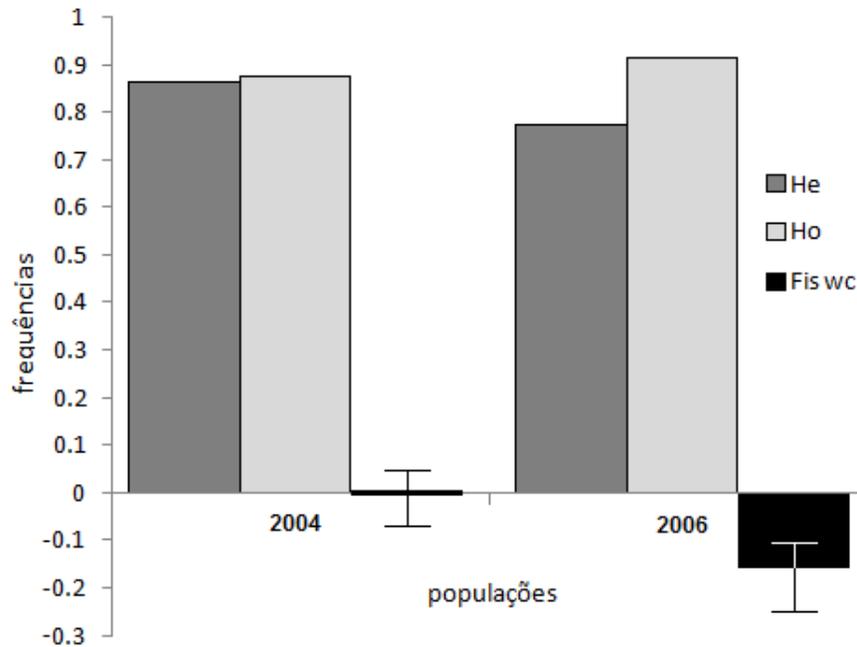


Figura 22. Heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e coeficiente de endogamia, com IC 95% e 10000 Bootstraps, para duas amostras temporais, nos períodos de 2004 e 2006 no Morro do Voturuá, São Vicente, SP.

### 3.3 Padrões de cores

As proporções dos números de alelos foram semelhantes entre os agrupamentos de cores (Teste-G Williams = 4,9;  $p < 0,55$ ) sendo que o padrão vermelho “V” não apresentou alelos exclusivos (Figura 23).

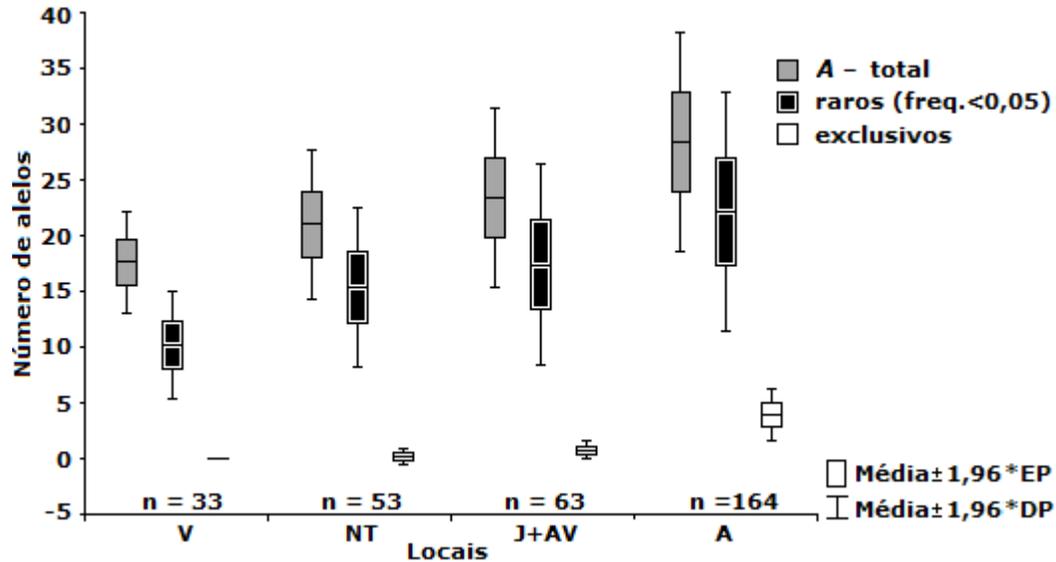


Figura 23. Média, desvio padrão (DP) e erro padrão (EP) do número de alelos por loco, considerando o total de alelos (*A-total*), alelos raros (frequências < 0,05), alelos exclusivos, e o tamanho das amostras (*n*), entre os padrões de colorações das asas anteriores (negro NT – ausência de ponto cubital; amarelo A – ponto cubital amarelo; vermelho V – ponto cubital vermelho; amarelo-vermelho AV – ponto cubital amarelo com vermelho; J – junção da grande mácula vermelha com o ponto cubital e linha amarela) encontrados em todos os sítios de estudo.

Os indicadores de variabilidade genética (*He* e *Ho*) de todos os padrões de coloração foram altos e semelhantes e os valores de  $F_{IS}$  não foram significativos (Figura 24).

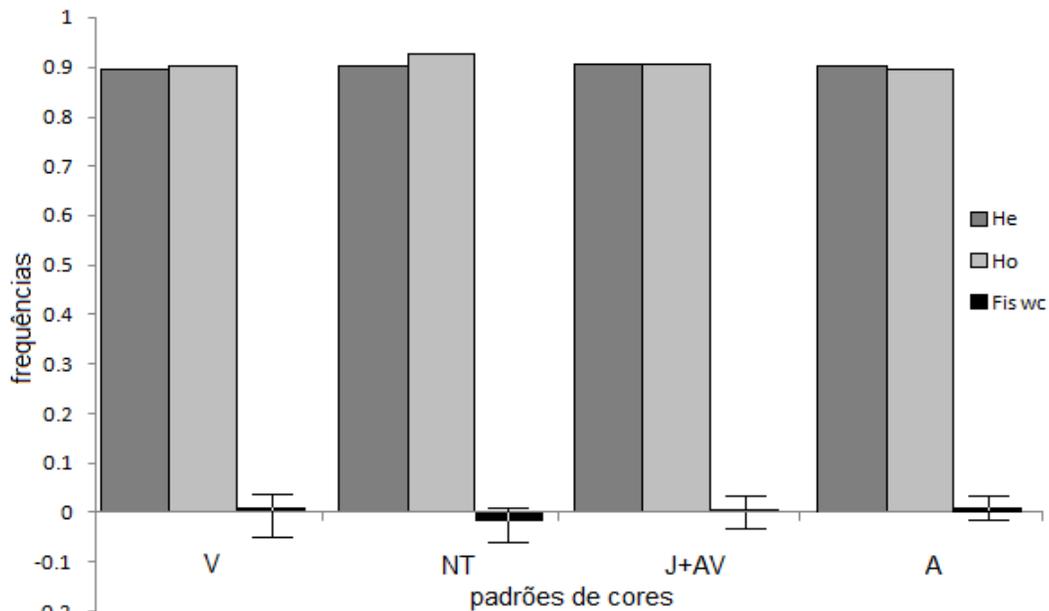


Figura 24. Frequências das heterozigosidades esperadas (*He*), heterozigosidades observadas (*Ho*) e índices de endogamia (*Fis* de Weir & Cockerham) com intervalo de confiança de 95%, para cada um dos padrões de coloração (V=vermelho, NT=negro, A=amarelo, J+AV= Junção das manchas+amarelo com vermelho).

Os valores de  $\theta$  par a par foram muito baixos, com valores inferiores a 0,4% (Tabela 9), aproximadamente dez vezes mais baixos do que os  $\theta$  encontrados entre populações de diferentes regiões do Brasil.

Tabela 9. Matriz de correlação entre os padrões de coloração (V=vermelho, NT=negro, A=amarelo, J+AV= Junção+amarelo com vermelho) com os Índices de fixação  $\theta$  de Weir Cockerham (1984).

$\theta$	A			
V	0,00173	V		
NT	0,00112	0,00122	NT	
J+AV	0,00092	0,00045	0,00321	J+AV

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Macroescala

#### 4.1.1. Especialização alimentar, estruturação genética e dispersão

De acordo os resultados encontrados, os padrões de uso de plantas hospedeiras por *Heliconius erato phyllis* parecem não estar relacionados às diferenças genéticas entre populações. Os diferentes padrões de associações com hospedeiras provavelmente estão sendo causados pelas condições ecológicas ao longo da sua distribuição, pois borboletas empregam estratégias adaptativas apropriadas para cada ambiente (Benson 1978; Gibbs & Van Dyck 2009; Wiklund & Friberg 2009). Segundo Benson (1978) a especialização pode ocorrer devido à maior competição, disponibilidade e estabilidade dos recursos nas regiões próximas ao Equador. O comportamento generalista dessa subespécie pode ser influenciado pela alta variabilidade genética, permitindo respostas específicas para cada conjunto de fatores locais (disponibilidade, toxidez e competição por recursos).

A ampla distribuição de *H. erato phyllis* pode ser atribuída à sua plasticidade no uso de espécies de *Passiflora*, pois suas larvas podem explorar *Passiflora edulis* (subespontânea) e desse modo podem suportar algum grau de deterioração dos seus habitats. Em pequenos fragmentos próximos a áreas urbanas, cultivos humanos podem ser mais uma opção para populações durante períodos de baixa disponibilidade das hospedeiras nativas. Plantas

alternativas aumentam as possibilidades de fluxo gênico entre populações, desse modo alguns insetos fitófagos nativos expandem sua ocupação. Provavelmente, o uso de várias espécies hospedeiras com ampla distribuição geográfica promove a manutenção de populações grandes e amplamente distribuídas, contribuindo para a manutenção da variabilidade genética intrapopulacional e do fluxo gênico interpopulacional.

Além da capacidade de usar plantas alternativas, *H. erato phyllis* possui vida longa. No MRVT o tempo de permanência de um indivíduo na população pode superar 125 dias, enquanto borboletas Acraeinae, vivem em média apenas sete dias (Francini 1989; Ramos e Freitas 1999). A longevidade aumenta as chances de colonização de novas áreas ou de alcançar fragmentos distantes. Mesmo em escala continental, as populações de *H. erato phyllis* apresentaram resultados típicos de espécies de grande mobilidade, como alta diversidade e baixa estruturação genética populacional.

O isolamento por distância em espécies com grande vagilidade geralmente ocorre em escalas continentais ao contrário de populações de indivíduos com baixa capacidade de dispersão (Krauss *et al.* 2004). A falta de diferenciação entre populações continentais observada com os marcadores microsatélites provavelmente se deve a altos fluxos gênicos (Zakharov & Hellmann 2008). A manutenção desse fluxo pode tornar as populações de *H. erato phyllis*, mesmo de diferentes climas e biomas do Brasil, uma população em situação de panmixia.

#### **4.1.2. Variabilidade e diversidade genéticas e os efeitos da fragmentação**

O isolamento de pequenas populações em fragmentos tende a aumentar os riscos de extinções por redução da diversidade genética em longo prazo, devido à endogamia e consequente queda na aptidão populacional (Krauss *et al.* 2004; Benedick *et al.* 2007). Essas características não foram observadas em *H. erato phyllis* mesmo em pequenas áreas como BRAS (0,11Km<sup>2</sup>), onde a diversidade genética e o número de alelos se mantiveram sem efeito aparente de deriva genética.

Mudanças sazonais ou microclimáticas em áreas inóspitas podem reduzir o isolamento. Esses ciclos episódicos influenciam a dispersão em paisagens fragmentadas e desempenham um papel crucial para a viabilidade das populações. A matriz inóspita tem muitas implicações para a demografia e estrutura genética das populações favorecendo apenas os indivíduos mais vágéis (Blaum & Wichann 2007). *Heliconius erato phyllis* é capaz de contornar matrizes urbanas

densas desde que ocorram recursos florais; em algumas ocasiões a subespécie pode ser vista em parques e jardins nas cidades (Brown 1979). Além da sua longevidade e capacidade de vôo, outros fatores ainda podem favorecer a migração dessa subespécie, como a diminuição de recursos alimentares, de parceiros sexuais e perda de habitat. Esses fatores foram observados por Nêve e coautores (2008) em outras borboletas Nymphalidae. Florestas no entorno das cidades e a presença de parques urbanos ainda podem funcionar como corredores ou *stepping stones* diminuindo os custos de dispersão.

#### **4.1.3. Regiões em escala continental**

O agrupamento de populações em raios de 30 km revelou distâncias genéticas 10 vezes menores do que as comparações envolvendo apenas populações separadas. A região BXS, formada por seis populações, reuniu a maior riqueza de alelos. As coletas nessa região cobriram áreas próximas a matas contínuas ou grandes fragmentos interconectados. Entretanto não podemos afirmar que esses fatores foram responsáveis para a ocorrência de um maior número de alelos, pois este pode ser um mero efeito do maior tamanho amostral. De qualquer modo as comparações entre os sítios permaneceram sem apontar isolamento por distância geográfica.

#### **4.2. Escala regional – fragmentação e ação dos ventos**

O MRVT não apresentou alelos exclusivos; este sítio encontra-se no centro de uma matriz urbana sem conexão com a Serra do Mar com duas possibilidades de atingir fragmentos próximos: 1- voar 1,6 km a sudoeste, em meio urbano, até o Morro dos Barbosas (MB); 2- voar 1 km a sul até a Ilha Porchat; o sítio JAPUÍ fica a 270 m do MB e 600 m da Ilha Porchat (Figura 25). A borboleta pode dispersar através de micro habitats como quintais urbanos, mas vôos sobre grandes corpos d'água ou contra ventos predominantes alteram significativamente seu comportamento, sobretudo as frequências do batimento das asas (Dudley & Srygley 1994; Srygley *et al.* 1996; Srygley 2007). O fato de serem borboletas diurnas e a predominância dos ventos diurnos serem sul e leste (do mar para o continente) com deslocamentos na direção noroeste (Santos 1965), as possibilidades de dispersão são pequenas no sentido MRVT → JAPUÍ (Figura 25 e 26A).

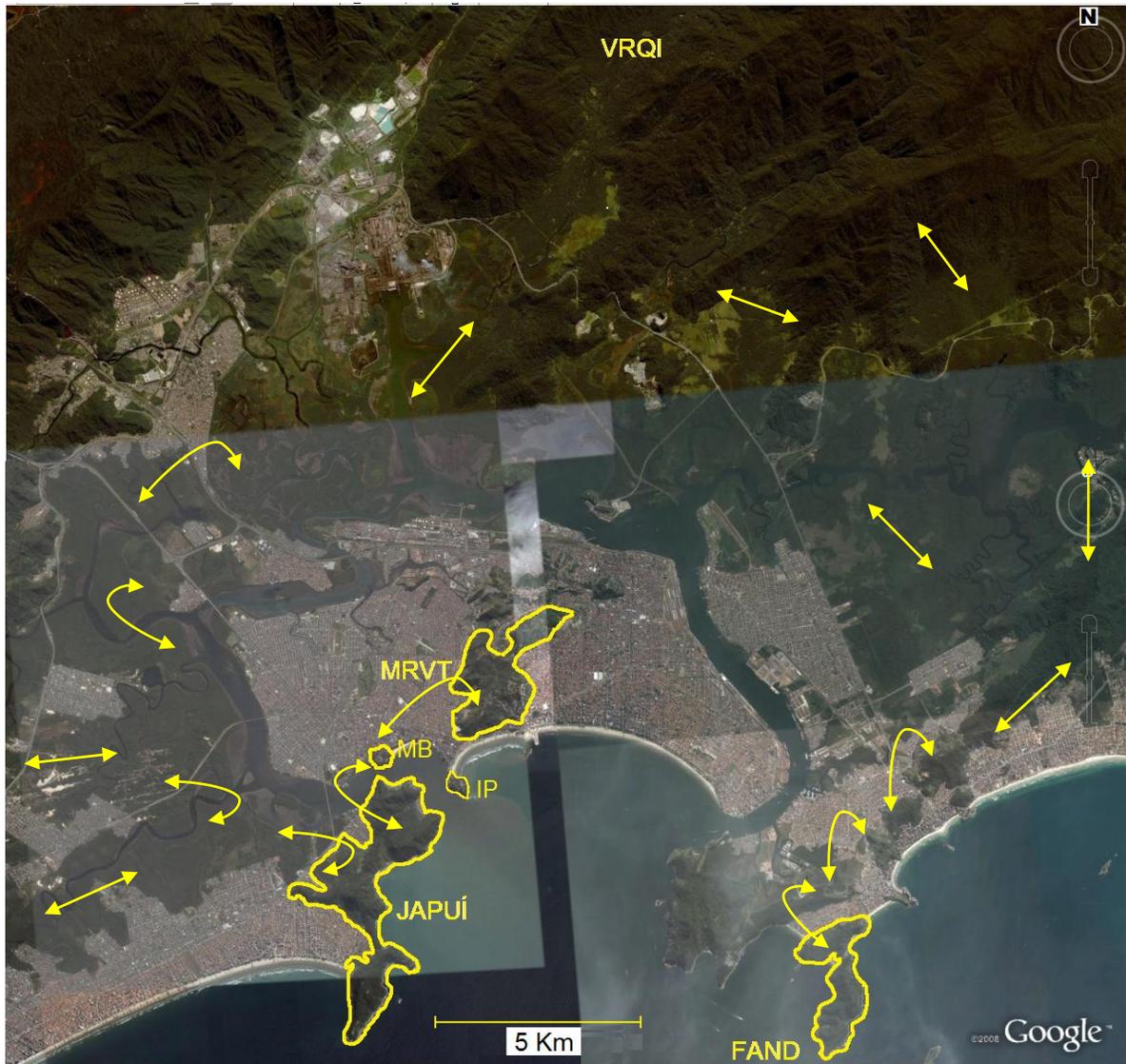


Figura 25. Áreas florestadas e fragmentos da Baixada Santista (FAND – Forte dos Andradas; MRVT – Morro do Voturuá; JAPUÍ – Xixová-Japuí; MB – Morro dos Barbosas; IP - Ilha Porchat e VRQI – Vale do rio Quilombo), em coloração escura. As setas indicam possíveis rotas de dispersão entre as populações.

O JAPUÍ está situado a Sul-Sudoeste do MRVT e migrantes partindo do JAPUÍ são naturalmente afastados pela ação dos ventos em direção a Serra do Mar. Entretanto, a dinâmica dos ventos sofre alterações sazonais ou diárias, como calmarias, mudanças de direção e velocidade (Santos 1965; WEATHER UNDERGROUND 2009) possibilitando ciclos esporádicos ou sazonais (Figura 26 B e C). A conexão entre JAPUÍ e Serra do Mar é estabelecida por áreas de mangue e restinga, cujas bordas apresentam plantas com flores e *Passiflora jileki* Wawra, muito utilizada por *H. erato phyllis*. Desse modo a borboleta pode colonizar temporariamente esses locais antes de alcançar áreas de floresta ombrófila. O FAND

está a 392 m de um grande fragmento e a partir desse ponto, uma série de morros formam um corredor em meio urbano, ligando FAND à Serra do Mar. O corredor apresenta três interrupções devido à passagem de ruas, com distâncias que variam de 12 a 58m (Figura 25). Entretanto essas distâncias podem ser facilmente superadas por *Heliconius erato phyllis*, que devido à sua boa capacidade visual (Mallet & Gilbert 1995), pode reconhecer um fragmento há mais de 150m e direcionarem-se para a mancha (Dover & Settele 2009). A conectividade FAND-VRQI se deve aos grandes fragmentos e ao corredor (Laurance 2008) (Figura 25), o que explicaria as pequenas diferenças genéticas entre os dois locais.

*Heliconius beskei*, fenotipicamente muito semelhante a *H. erato phyllis*, é encontrada durante o verão em topos da Serra do Mar (Brown 1992); nos meses mais frios as populações atingem as partes baixas do VRQI (Benson, comunicação pessoal). Em abril de 1994 e durante julho de 2000, foram capturados *H. beskei* no JAPUÍ e no MRVT. A presença desses indivíduos nos morros da Baixada mostra a possibilidade de deslocamentos sazonais entre pontos distantes, mesmo separados por matriz urbana. A diferença genética encontrada em *H. erato phyllis*, entre VRQI e MRVT ( $\theta = 1,1\%$ ), é a menor entre todos os fragmentos da Baixada, apesar desse morro ser cercado por área urbanizada. O norte do MRVT está a 3 Km da área de mata mais próxima ao continente, separado por área urbana, porto, estuário e manguezal. Os resultados indicam que ventos fortes podem deslocar indivíduos do MRVT em direção a Serra do Mar, ou o contrário (Figura 25 e 26).

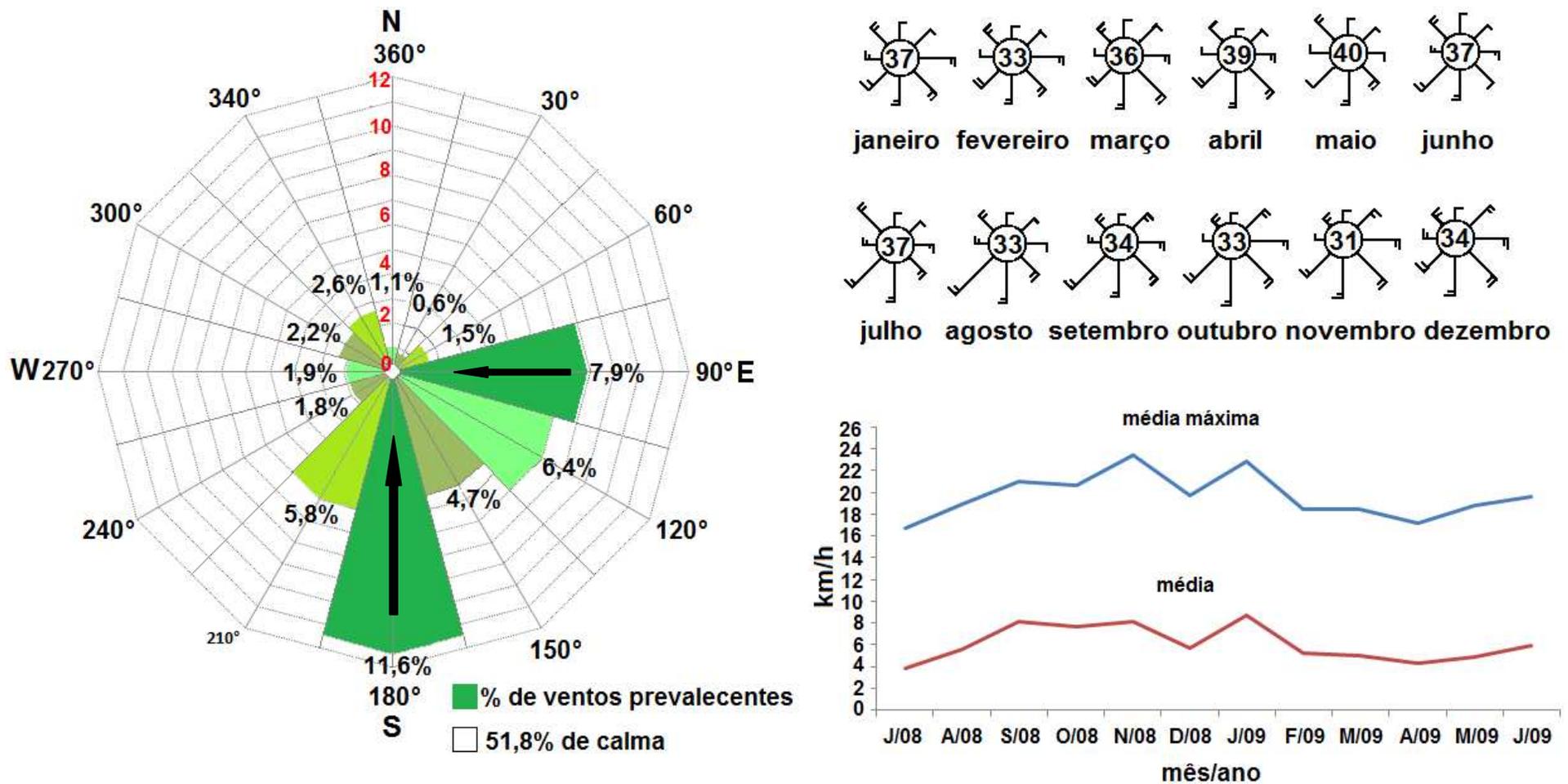


Figura 21. Ventos da região de Santos, SP. A - Anemograma destacando o percentual e direcionamento dos ventos, sobretudo dos prevaletentes (flechas pretas) Sul e Leste e o domínio da calma (51,8%) adaptado de Santos (1965) obtido nos anos de 1957-1961. B - Dinâmicas dos ventos ao longo dos meses com o percentual de calma ao centro, vetores representando freqüência (tamanho), direções e intensidade ( $\bar{r} = 10$  nós;  $r = 5$  nós). O sudoeste é o vento prevaletente durante o inverno e início da primavera especialmente em agosto, o noroeste também se destaca nessa mesma época, nos demais meses o vento sul predomina (Santos 1965). C - Médias das máximas e médias da velocidade (Km/h) dos ventos ao longo dos meses de jul/08 a jun/09 (WEATHER UNDERGROUND 2009).

### 4.3. Microescala

Os três setores do VRQI diferem em relação à disponibilidade de recursos para adulto, grau de insolação e aproximação com a serra. O VRQI 1 apresentou grande atividade de adultos, muitos recursos florais, boa incidência solar e cobertura florestal nas proximidades. Próximo à encosta o VRQI 2 é muito sombreado e úmido, com plantas hospedeiras e poucos recursos florais. Nesse setor a população foi menor, os indivíduos avistados geralmente estavam vagando lentamente. O VRQI 3 apresentou características intermediárias aos dois setores iniciais, com áreas ensolaradas contendo flores, mas úmidas devido as proximidades com a mata e encosta. O monitoramento populacional mostra deslocamentos de indivíduos entre setores vizinhos (observações Ramos), e *H. sara apseudes* também foi visto migrando do setor 1 para o setor 3 (observações T. S. Filho 2008).

Muitas vezes as distâncias genéticas entre as populações se devem a mudanças na distribuição das plantas hospedeiras (Oliver 2006). A diversidade genética é maior em antigos pontos de ocorrência de hospedeiras comparados àqueles de áreas recentemente colonizadas por essas plantas (Hewitt 1996). Entretanto essas observações para grande escala não foram detectadas aqui no Brasil. Em pequena escala somente algumas fêmeas foram vistas em locais sem recursos. A baixa densidade de indivíduos em VRQI 2, aponta para uma zona de intersecção entre os setores 1 e 3, oferecendo plantas hospedeiras para os dois pontos extremos.

Ao contrário do que discutem Krauss e coautores (2005), as plantas hospedeiras não foram o principal fator para a determinação da densidade populacional, mas sim os recursos florais. Portanto, plantas hospedeiras isoladas não garantem a abundância de borboletas, essas requerem néctar, refúgios e micro-climas específicos (Dover & Settele 2009). É importante salientar que hospedeiras são fundamentais na fixação de populações e podem servir como ponto de partida para novas áreas. As populações do VRQI não apresentaram deficiências de heterozigotos e mantiveram fluxo gênico entre os setores, impossibilitando qualquer estruturação genética apesar das pequenas diferenças locais.

### 4.4. Escala temporal – MRVT 2004 e 2006

A queda no número de plantas hospedeiras ao longo desses anos provocou declínio do tamanho populacional. Entretanto, de acordo com o grande número de alelos encontrados nos *loci* estudados, não foi observada redução significativa no número de alelos entre os períodos. A

diferenciação genética temporal ( $\theta = 0,051$ ; IC95% = 0,0235 — 0,083) pode indicar uma dinâmica de substituição de alelos em MRVT a curto prazo.

A permeabilidade sazonal da matriz pode ter influência, mas a disponibilidade de recursos nos fragmentos parece desempenhar um papel preponderante para a manutenção das populações e provavelmente dos níveis de variabilidade e estruturação entre elas. O estabelecimento de migrantes (colonização) parece depender da disponibilidade de recursos local.

Os resultados indicam que a população MRVT sofreu declínio e efeito gargalo, seguidos de rápida recolonização. Esses resultados apontam, também, para uma situação de intenso intercâmbio entre as populações da subespécie como um todo, o que, além de manter a baixa estruturação populacional pode contribuir para a manutenção da alta variabilidade genética.

#### **4.5. Colorações e diferenças genéticas**

Os indivíduos das diversas populações do Brasil agrupados em quatro categorias de padrões de coloração, não apresentaram diferenças significativas entre os valores de  $\theta$  par a par. Se considerarmos que muitas populações possuem todos os padrões alares, os agrupamentos formados por indivíduos provenientes de diferentes populações causaram homogeneização das amostras.

#### **4.6. Fragmentos**

O número de alelos e os níveis de heterozigosidade não apresentaram correlação com as áreas dos fragmentos. Alguns fatores podem ter contribuído: 1- A conectividade com fragmentos próximos; 2- Diferenças na disponibilidade de recursos entre os sítios podem distorcer essa correlação, alguns locais podem suportar mais ou menos indivíduos independente de sua área.

Dados sobre conservação mostram que grandes áreas abarcam comunidades maiores de borboletas (Polus *et al.* 2007). Áreas desse tipo são mais fáceis de serem alcançadas por migrantes, existe também a possibilidade de núcleos livres de efeitos de borda e de mais recursos. Por outro lado habitats lineares são mais fáceis de serem atingidos por imigrantes, mas estão sujeitos a grandes impactos do efeito de borda, se bem utilizados podem desempenhar o papel de corredores (Primack, e Rodrigues 2001; Dover & Settele 2009), como os morros da cidade do Guarujá, SP.

Em borboletas a presença de poucos coespecíficos ou recursos, estimula a migração (Nève *et al.* 2008); muitas fêmeas após botarem 2/3 de seus ovos, alteram seu comportamento de residente para migratório, dispersando pela matriz (Dover & Settele 2009). Portanto, grandes habitats de boa qualidade são preferíveis a pequenos habitats, mas uma coleção heterogênea de pequenos fragmentos sob uma grande variação de condições ambientais pode apresentar maior riqueza de espécies do que apenas um bloco de área equivalente.

## 5. CONCLUSÃO

*Heliconius erato phyllis* é uma subespécie de ampla distribuição geográfica com grande diversidade e variabilidade genética, provavelmente sofrendo seleção em favor do heterozigoto. Seus baixos níveis de isolamento indicam panmixia: são borboletas de excelente capacidade de dispersão por diferentes regiões climáticas e formações florestais, são capazes de colonizar pequenos fragmentos sem sofrer deriva genética ou de ocupar temporariamente essas áreas antes de dispersarem. Os acasalamentos provavelmente ocorrem de forma aleatória dentro da população sem preferências por subgrupos. A falta de estruturação genética entre as populações dessa subespécie reforça a idéia de que os níveis de especialização sobre plantas hospedeiras ocorrem devido a respostas comportamentais desencadeadas por conjuntos de fatores locais.

A perda de plantas hospedeiras ao longo do tempo pode alterar a estruturação das populações de forma moderada. A disponibilidade de recursos é responsável pelos níveis de estruturação, pois possibilitam colonização e manutenção de futuras gerações. Portanto a manutenção de plantas hospedeiras e flores, mesmo em fragmentos, próximos ou ligados por corredores, são essenciais para manter o fluxo entre populações, sobretudo urbanas.

Serão necessários novos estudos que permitam quantificar a disponibilidade de recursos e testar suas correlações com a variabilidade e diversidade das populações. Os microssatélites poderão ser usados para testar os níveis de estruturação entre subespécies de *Heliconius erato* ou entre populações isoladas em ilhas, com objetivo de estabelecer uma escala de diferenciação entre elas.

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. Recursos alimentares

As populações de *H. erato phyllis* alimentam-se principalmente dos seguintes recursos florais (Ramos e Freitas 1999): 1- *Bidens pilosa* L. (Asteraceae); 2- *Lantana camara* L. (Verbenaceae), sobretudo as variedades vermelhas com amarelo ou brancas, embora as híbridas sirvam como recurso em áreas urbanas; 3- *Tithonia speciosa* Hook ex Gris; 4- *Rubus rosaefolius* Smith (Rosaceae) fornecer flores e frutos no inverno; 5- *Stachytarpheta polyura* L. (Verbenaceae); 6- *Asclepias curassvica* L. (Asclepiadaceae); 7- *Emilia sonchifolia* D.C. (Asteraceae); 8- *Epidendrum fulgens* Brongn. (Orchidaceae); 9- *Gurania* sp. (Cucurbitaceae); 10- *Impatiens walleriana* Hook. f. (Balsaminaceae); 11- *Heliconia* sp. (Musaceae); 12- Asteraceae *Mikania lundiana* D.C., *Trixis antimenorrhoea* Mart. Ex. Baker; 13- *Eupatorium laevigatum* D.C..

A principal dificuldade para manter as populações ocorre nos períodos de seca ou de invernos rigorosos quando os recursos ficam menos disponíveis. Portanto essas alternativas reduzem as pressões sobre as populações adultas, principalmente em pequenos fragmentos.

A manutenção de árvores de grande porte é importante para a criação de um microclima local. A complexidade estrutural da vegetação propicia abrigos (poleiros), locais para coorte, sombra para plantas hospedeiras, larvas e adultos. Árvores ainda atuam como quebra-ventos diminuindo a velocidade e zonas de turbulências (Gliessman 2005), evitando arrasto de indivíduos para longas distâncias.

Existe uma correlação positiva entre a abundância de plantas hospedeiras e borboletas especialistas, ou diversidade de hospedeiras e espécies generalistas (Dover & Settele 2009). A presença de plantas hospedeiras é muito importante para manutenção do ciclo de vida e permite a sobreposição das gerações considerando-se que adultos de *H. erato* podem sobreviver mais de 100 dias e efetuar mais de um acasalamento durante a vida. A subespécie *phyllis* pode utilizar como hospedeira diversas plantas do gênero *Passiflora*: *P. caerulea* L. Marítimo, *P. elegans* Masters, *P. suberosa* Linnaeus, *P. truncata* Regel, *P. alata* Dryand, *P. jileki* Wawra, *P. capsularis* L., *P. misera* Kunth, *P. miersii* Masters, *P. amethystine* Mikan, *P. sidifolia* M. Roem,

*P. organensis* Gardner, *P. caerulea* L., *Passiflora tetrastylis* Vitta, inclusive e até *P. edulis* Sims (maracujá comum) como hospedeira alternativa.

Os *H. erato phyllis* da BXS são capazes de usar *P. edulis*, introduzidas no cultivo do maracujá, como hospedeiras alternativas. Além disso, flores em casas e jardins urbanos são visitadas por essa “subespécie” (Brown 1979). Características como essas podem ampliar a área de vida de uma espécie e mesmo que não seja possível transpor uma matriz urbana, a segunda geração a partir de uma oviposição pode atingir locais teoricamente isolados (Krauss *et al.* 2005).

## 2. Conectividade

A presença de passiflora *P. jileki* nas bordas do mangue e na restinga ajuda as populações da subespécie *H. erato phyllis* a se manterem temporariamente nessas regiões e se expandirem para áreas próximas. Presença de charcos e matas ciliares também contribuem para presença de plantas hospedeiras. Rios e riachos parecem atuar como vias expressas, ligando fragmentos a bolsões de recursos. Isso foi observado principalmente no MRVT, CACH e BRAS, cujas paisagens fragmentadas e a presença de riachos, evidenciaram esses deslocamentos ao longo do dia.

Eventualmente podemos observar borboletas voando através de campo aberto ou matrizes urbanas densas, mas essa baixa frequência de observações sugere que esses tipos de dispersões são muito custosos. Corredores de árvores fornecem sombra e diminuem os riscos de predação em locais abertos. Entretanto isso varia de acordo com o comportamento e fisiologia do lepidóptero, é o caso de borboletas cujas atividades necessitam de temperaturas altas. Áreas abertas e ensolaradas estimulam o vôo desses indivíduos e aumentam sua velocidade de dispersão entre fragmentos, ex.: *Dryas iulia*, *Dione juno juno*, *Agraulis vanillae*, *Danaus plexipus* e vários gêneros de Pieridae.

A matriz urbana também pode conter recursos para algumas borboletas ou até ser utilizada como habitat provisório. A presença de habitats sub-ótimos como quintais, terrenos e jardins que contenham maracujás e flores, ou fragmentos com distâncias inferiores a 400m, podem funcionar como *stepping stones* ajudando na dispersão (Dover & Settele 2009).

## CONCLUSÕES GERAIS

### 1. O clima:

- a- Climas estáveis, úmidos e quentes tendem a apresentar indivíduos com maiores CAA.
- b- O clima parece influenciar no crescimento das plantas hospedeiras na sua qualidade nutricional e no desempenho larval.

### 2. As populações de *Heliconius erato phyllis* apresentam:

- a- Alta diversidade e variabilidade genética com seleção em favor do heterozigoto.
- b- Grande capacidade de dispersão.
- c- Baixos níveis de isolamento e estruturação genética.
- d- Panmixia.
- e- Capacidade de ocupar ou colonizar pequenos fragmentos e manter a variabilidade alta sem efeitos aparentes de deriva.

### 3. Recursos:

- a- A perda pode alterar temporariamente a estrutura genética da população de forma moderada.
- b- Contribuem para conectividade de fragmentos e manutenção das populações urbanas.
- c- A falta de estruturação genética entre as populações suporta a teoria de que os níveis de especialização sobre hospedeiras ocorrem devido a plasticidade comportamental de *H. erato phyllis*, que se altera de acordo com a disponibilidade de plantas locais.

### 4. Raios:

- a- O nº de raios parece sofrer influência de fatores climáticos, fisiológicos e genéticos.
- b- Interação entre temperatura e tamanho dos indivíduos pode criar combinações discordantes da correlação positiva entre CAA x RR.

### 5. Os padrões de coloração das asas:

Parece sofrer seleção diferencial entre regiões, independente da falta de estruturação revelada por microsatélites.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Serão necessários testes envolvendo cruzamentos e criações em ambiente controlado para detectar variações no número de raios e nas cores das asas, considerando-se variáveis climáticas e hereditariedade.

Os marcadores microssatélites poderão ser usados em futuras comparações entre os níveis de diversidade e estruturação genética das subespécies de *H. erato* ou em populações isoladas em ilhas oceânicas. Esses estudos podem fornecer parâmetros para união ou separação das subespécies e podem ajudar em novas construções de modelos evolutivos para seus padrões de coloração.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcock, J. 2005. *Animal Behavior: An Evolutionary Approach*. 8<sup>th</sup> ed. 564pp.
- Araújo, A. M. 1980. Estudos genéticos e ecológicos em *Heliconius erato* (Lepidoptera, Nymphalidae). *Actas do IV Congresso Latinoamericano de Genética*, 2: 199-206.
- Araújo, A. M. de. & K. Saalfeld. 1981. Studies on the genetics and ecology of *Heliconius erato* (Lepidoptera, Nymphalidae): Demography of a natural population. *Revista Brasileira de Biologia*, 41 (4): 855-860.
- Ayres M., M. Ayres JR., D. L. Ayres e A. S. dos Santos. 2007. BioEstat 5.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas, 291pp.
- Baigts, C. R. B. 1992. Una nueva subespecie de *Heliconius erato* (Linnaeu, 1764) (Lepidoptera: Nymphalidae, Heliconiinae). *SHILAP Revista de Lepidopterologia*, 20 (78): 181-187.
- Barbosa, V. S., I. R. Leal, L. Iannuzzi e J. A. Cortez. 2005. Ecology, Behavior and Bionomy. Distribution Pattern of Herbivorous Insects in a Remnant of Brazilian Atlantic Forest. *Neotropical Entomology*, 34(5):701-71.
- Baur, R., M. Haribal, J. A. A. Renwick & E. Städler. 1998. Contact chemoreception related to host selection and oviposition behaviour in the monarch butterfly, *Danaus plexippus*. *Physiological Entomology*, 23: (1) 7-19.
- Beldade, P. & Brakefield, P. M. 2002. The genetics and evo-devo of butterfly wing patterns. *Nature Reviews Genetics*, 3, 442-452.
- Beldade, P., Brakefield, P. M. & Long, A. D. 2005. Generating phenotypic variation: prospects from “evo-devo” research on *Bicyclus anynana* wing patterns. *Evolution & Development* 7, 101-107.
- Beldade, P., Koops, K. & Brakefield, P. M. 2002. Developmental constraints versus flexibility in morphological evolution. *Nature*, 416: 844-847.
- Belkhir K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste & F. Bonhomme. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Benedick, S., T. A. White, J. B. Searle, K. C. Hamer, N. Mustaffa, C Vun Khen, M. Mohamed, M. Schilthuizen and J. K. Hill. 2007. Impacts of habitat fragmentation on genetic diversity in a tropical forest butterfly on Borneo. *Journal of Tropical Ecology*, 23: 623-634.
- Benson, W. W. 1972. Natural selection for mullerian mimicry in *Heliconius erato* in Costa Rica. *Science*, 176:936-939.
- Benson, W. W. 1978. Resource partitioning in passion vine butterflies. *Evolution*, 32:493-518.
- Benson, W. W., K. S. Brown, & L. E. Gilbert. 1976. Coevolution of plant and herbivores: passion flower butterflies. *Evolution*, 29:659-680.
- Bernacci L. C., F. A. Vitta, Y. V. Bakker. 2003. Passifloraceae. In: Wanderley M. G. L., Sheperd G. J., Giulietti A. M., Melhem T. S., editors. *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*, Volume 3. São Paulo (Brazil): FAPESP Rima. p. 247-274.
- Bernays, E. A. & R. F. Chapman. 1994. *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall, New York, NY. 312 pp.
- Berwaerts, K., H. Van Dyck, E. Vints and E. Matthysen. 2001. Effect of manipulated wing characteristics and basking posture on thermal properties of the butterfly *Pararge aegeria* (L.). *Journal of Zoology*, 255:261-267.
- Bethann, L. & K. S. Oberhauser. 2004. Compensatory Feeding in *Danaus plexippus* (Lepidoptera: Nymphalidae) in Response to Variation in Host Plant Quality. *Environmental Entomology*, 33(4): 1062-1069.
- Blaum, N. & M.C. Wichann. 2007. Short-term transformation of matrix into hospitable habitat facilitates gene flow and mitigates fragmentation. *Journal of Animal Ecology*.76:1116–1127.
- Borror, D., C. Triplehorn and N. Johnson. 2004. *An introduction to the study of insects*. pp. 875.

- Bowers, M. D., I. L. Brown and D. Wheye. 1985. Bird predation as a selective agent in a butterfly population. *Evolution*, 39(1): 93-103.
- Brakefield, P. M. & Frankino, W. A. 2007. Polyphenisms in Lepidoptera: multidisciplinary approaches to studies of evolution. In D. W. Whitman & T. N. Ananthakrishnan (eds.) Phenotypic Plasticity in Insects. Mechanisms and Consequences. Plymouth, UK: Science Publishers Inc., pp. 121-151.
- Brakefield, P. M. & N. Reitsma. 1991. Phenotypic plasticity, seasonal climate and the population biology of *Bicyclus* butterflies (Satyridae) in Malawi. *Ecological Entomology*.
- Brakefield, P. M. 2006. Evo-devo and constraints on selection. *Trends in Ecology and Evolution* 21, 362-368.
- Brakefield, P. M. 2008. Prospects of evo-devo for linking pattern and process in the evolution of morphospace. In: Minelli, A. & G. Fusco (eds.). *Evolving pathways: key themes in evolutionary developmental biology*, 62-79. Cambridge University Press, New York, USA.
- Brakefield, P. M., J. Gates, D. Keys, F. Kesbeke, P. J. Wijngaarden, A. Montelro, V. French and S. B. Carroll. 1996. Development, plasticity and evolution of butterfly eyespot patterns. *Nature* 384, 236-242.
- Brandão, A. O., C. M. Souza, J. G. Ribeiro, M. Sales. 2007. Desmatamento e estradas não-oficiais da Amazônia. In: Anais XIII Simposio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Abril, pp. 2357-2364.
- Braschler, B & J. K. Hill. 2007. Role of larval host plants in the climate-driven range expansion of the butterfly *Polygona c-album*. *Journal of Animal Ecology*. 76: 415-423.
- Breuker, C. J. & Brakefield, P. M. 2002. Female choice depends on size but not symmetry of dorsal eyespots in the butterfly *Bicyclus anynana*. *Proceedings of the Royal Society of London B* 269, 1233-1239.
- Breuker, C. J., M. Gibbs, H. Van Dyck, P. M. Brakefield, C. P. Klingenberg and S. Van Dongen. 2007. Integration of wings and their eyespots in the speckled wood butterfly *Pararge aegeria*. *Journal of Experimental Zoology (MOL DEV EVOL)*, 308B:454-463.
- Brower, L. P. 1984. Chemical defence in butterflies. Pp. 109-134, in: *The biology of the butterflies*. 1a. Edição (Editores: Vane-Wright, R.I.; Ackery, P.R.). Academic Press, London.
- Brown, K. S. Jr. 1975. Geographical patterns of evolution in Neotropical Lepidoptera. Systematics and derivation of known and new Heliconiini (Nymphalidae: Nymphalinae). *Journal of Entomology series B-Taxonomy & Systematics*, 44(3): 201-242.
- Brown, K. S. Jr. 1979. *Ecologia geográfica e evolução nas florestas neotropicais*. Campinas, Universidade Estadual de Campinas. 256p. (Dissertação de Livre-Docência).
- Brown, K. S. Jr. 1981. The biology of *Heliconius* and related genera. *Annual Review of Entomology*, 26:427-456.
- Brown, K. S. Jr. 1992. Borboletas da Serra do Japí: diversidade, habitats, recursos alimentares e variação temporal, pp. 141-186. Em "História natural da Serra do Japí. Ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil". Organizadora L.P.C. Morellato, Editora UNICAMP/FAPESP, Campinas, SP.
- Bush, G.L.; Diehl, S.R. 1982. Host shifts, genetic models of sympatric speciation and the origin of parasitic insect species. In Visser, J.H.; Minks, A.K. (ed.) *5th International Symposium on Insect-Plant Relationships, Wageningen*.
- Carpenter, G. D. H. & E. B. Ford. 1949. *Mimetismo*. Acme Agency, Soc. de Resp. Ltda. Suipacha, Buenos Aires. 141p.
- Cates, R. G. 1981. Host plant predictability and the feeding patterns of monophagous, oligophagous and polyphagous herbivores. *Oecologia (Berl)* 48:319-326.
- Chai, P. & R. B. Srygley. 1990. Predation and the flight, morphology and temperature of Neotropical rain-forest butterflies. *American Naturalist*, 135:748-765.
- Chai, P. 1986. Responses of jacamars to butterflies. *Biological Journal of Linnaeu Society*. 29:161-189.
- Chapuis, M.P., and A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 24(3): 621-631.
- Corel Corporation. 2003. CorelDRAW (R) Graphics Suite - Version 12.0. All rights reserved.

- Creste, S., A. Tulmann-Neto & A. Figueira. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19: 299-306.
- Santos, E. O. 1965. Características climáticas. Cap. IV. 95-125. In: A Baixada Santista: Aspectos Geográficos. Vol. I – As bases físicas. Editor: Azevedo, A. Editora Edusp. Butantã, São Paulo, Brasil. 178 p.
- Dover, J. & J. Settele. 2009. The influences of landscape structure on butterfly distribution and movement: a review. *Journal of Insect Conservation*, 13 (1): 3-27.
- Dudley, R. & R. B. Srygley. 1994. Flight physiology of neo tropical butterflies: allometry of airspeeds during natural free flight. *Journal of Experimental Biology*, 191: 125-139.
- Dunlap-Pianka, H., C. L. Boggs & L. E. Gilbert, 1977. Ovarian dynamics in heliconiine butterflies: programmed senescence versus eternal youth. *Science* 197: 487-490.
- Estrada, C. & C. D. Jiggins. 2008. Interspecific sexual attraction because of convergence in warning colouration: is there a conflict between natural and sexual selection in mimetic species? *Journal of Evolutionary Biology*, 21: 749–760.
- Fahrig, L. 2003. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34: 487-515.
- Flanagan, N. S., M. J. Blum, A. Davison, M. Alamo, R. Albarrán, K. Faulhaber, E. Peterson & W. O. McMillan. 2002. Characterization of microsatellite loci in neotropical *Heliconius* butterflies. *Molecular Ecology Notes*, 2:398-401.
- Fordyce J. A., C. C. Nice, M. L. Forister and A. M. Shapiro. 2002. The significance of wing pattern diversity in the Lycaenidae: mate discrimination by two recently diverged species. *Journal of Evolutionary Biology*, 15: 871-879.
- Forsman, A. & S. Merilaita. 2003. Fearful symmetry? Intra-individual comparisons of asymmetry in cryptic vs. signalling colour patterns in butterflies. *Evolutionary Ecology*, 17: 491-507.
- Francini, R. B. 1989. Biologia e ecologia das borboletas *Actinote* (Lepidoptera, Nymphalidae, Acraeinae) na transição subtropical no sudeste do Brasil. Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Frankino, W. A., B. J. Zwaan, D. L. Stern, & P. M. Brakefield. 2007. Internal and external constraints in the evolution of allometries among morphological traits in a butterfly. *Evolution*, 61:2958-2970.
- Frisch, J. D. & C. D. Frisch. 2005. Aves brasileiras e plantas que as atraem. Ed. Dalgas Ecoltec – Ecologia Técnica Ltda. 480 pp.
- FUNDAÇÃO S.O.S. MATA ATLÂNTICA & INPE. 2003. Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica. Relatório Final. 46 pp.
- Futuyma, D. J. 2005. Evolution. Sinauer Associates, INC. Publishers. Sunderland, Massachusetts, U.S.A. 603 pp.
- Gibbs, M. & H. Van Dyck. 2009. Reproductive plasticity, oviposition site selection, and maternal effects in fragmented landscapes. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 64:1–11.
- Gilbert, L. E. 1975. Ecological consequences of a coevolved mutualism between butterflies and plants. Pp.210-240, in: L. E. Gilbert and P. H. Raven (eds.), *Coevolution of animals and plants*. University of Texas Press, Austin, TX.
- Gliessman, S. R. 2005. Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável. Editora da UFRGS. 3ed. Porto Alegre. 653pp.
- GOOGLE. 2009. Google Earth 5.0. MapLin/Tele Atlas. Europa Technologies. Obtido a partir do URL: <http://earth.google.com.br/>.
- Gotelli, N. J. & A. M. Ellison. 2004. A primer of Ecological Statistics. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts, USA. 510pp.
- Gotthard, K. 2008. Adaptive growth decisions in butterflies. 2008. *BioScience*, 58(3):222-230.
- Habel J. C., M. Meyer and T. Schmitt. 2009. The genetic consequence of differing ecological demands of a generalist and a specialist butterfly species. *Biodiversity and Conservation*, 18:1895-1908.

- Hay-Roe, M. M. & J. Nation. 2007. Spectrum of Cyanide Toxicity and Allocation in *Heliconius erato* and *Passiflora* Host Plants. *Journal of Chemical Ecology*, 33:319-329.
- Hay-Roe, M. M. 2004. Comparative processing of cyanogenic glycosides and a novel cyanide inhibitory enzyme in *Heliconius* butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae: Heliconiinae). Ph.D. dissertation, University of Florida, Gainesville.
- Hay-Roe, M. M. 2008. Races of *Heliconius erato* (NYMPHALIDAE: HELICONIINAE) found on different sides of the Andes show wing size differences. *Florida Entomologist*, 91(4):711-712.
- Hewitt, G. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58: 247-276.
- Hijmans, R. J., S. E. Cameron, J. L. Parra, P. G. Jones and A. Jarvis. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25: 1965-1978.
- Hijmans, R.J. L. Guarino, A. Jarvis, R. O'Brien, P. Mathur, E. Rojas, M. Cruz and I. Barrantes. 2005b. DIVA-GIS 5.4.0.1. Software. Obtido a partir do URL <http://www.diva-gis.org/>
- Holm, S. 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, 6: 65-70.
- IAC-CIIAGRO 2009. Centro integrado de informações agrometeorológicas. Dados obtidos a partir do URL: <http://www.ciiagro.sp.gov.br/>
- Janz, N., S. Nylin, & N. Wedell. 1994. Host plant utilization in the comma butterfly: sources of variation and evolutionary implications. *Oecologia*, 99: 132-140.
- Jeffords, M. R., G. P. Waldbauer and J. G. Sternburg. 1980. Determination of the time of day at which diurnal moths painted to resemble butterflies are attacked by birds. *Evolution*, 34(6):1205-1211.
- Joron, M. & Brakefield, P. M. 2003. Captivity masks inbreeding effects on male mating success in butterflies. *Nature*, 424, 191-194.
- Joron, M. 2005. Polymorphic mimicry, microhabitat use, and sex-specific behavior. *Journal of Evolutionary Biology*, 18: 547-556.
- Joron, M., Jiggins, C. D., Papanicolaou, A. & McMillan, W. O. 2006. *Heliconius* wing patterns: an evo-devo model for understanding phenotypic diversity. *Heredity*, 97: 157-167.
- Ide, JY. 2006. Sexual and seasonal differences in the frequency of beak marks on the wings of two *Lethe* butterflies. *Ecological Research*. 21:453-459.
- Kerpel, M. S. Aspectos ecológicos e comportamentais envolvidos na seleção da planta hospedeira por *Heliconius erato phyllis* (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE). Porto Alegre, UFRGS, 1999. 75p. (Dissertação de mestrado).
- Keyghobadi, N., J. Roland and C. Strobeck. 2005. Genetic differentiation and gene flow among populations of the alpine butterfly, *Parnassius smintheus*, vary with landscape connectivity. *Molecular Ecology*, 14: 1897-1909.
- Keyghobadi, N., K. P. Unger, J. D. Weintraub and D. M. Fonseca. 2006. Remnant populations of the regal fritillary (*Speyeria idalia*) in Pennsylvania: Local genetic structure in a high gene flow species. *Conservation Genetics*, 7:309-313.
- Knapp, S. & J. Mallet. 2003. Refuting Refugia? *Science*, 300: 71-72.
- Krauss, J., I. Steffan-Dewenter, C. B. Müller and T. Tschardt. 2005. Relative importance of resource quantity, isolation and habitat quality for landscape distribution of a monophagous butterfly. *Ecography*, 28: 465-474.
- Krauss, J., T. Schmitt, A. Seitz, I. Steffan-Dewenter and T. Tschardt. 2004. Effects of habitat fragmentation on the genetic structure of the monophagous butterfly *Polyommatus coridon* along its northern range margin. *Molecular Ecology*, 13: 311-320.
- Kuussaari, M., M. Singer & I. Hanski. 2000. Local specialization and landscape-level influence on host use in an herbivorous insect. *Ecology*, 81(8):2177-2187.
- Laurance, W. F. 2008. Theory meets reality: How habitat fragmentation research has transcended island biogeographic theory. *Biological Conservation*, 141: 1731-1744.

- Leitão-Filho, H.F. 1992. A flora arbórea da Serra do Japi. In História Natural da Serra do Japi: Ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil (L.P.C. Morellato, org.). Editora da Unicamp, Campinas, p.40-62.
- Mallet, J. & L. E. Gilbert Jr. 1995. Why are there so many mimicry rings? Correlations between habitat, behaviour and mimicry in *Heliconius* butterflies. *Biological Journal of the Linnean Society*. 55:159-180.
- Mallet, J. & N. H. Barton. 1989. Strong natural selection in a warning-color hybrid zone. *Evolution* 43(2):421-431.
- Mallet, J. 1986. Dispersal and gene flow in a butterfly with home range behavior: *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Oecologia*, 68:210-217.
- Manly, B. J. F. 1985. The statistics of natural selection. Chapman and Hall. London.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27:209-220.
- Mavárez J, C. A. Salazar, E. Bermingham, C. Salcedo, C. D. Jiggins, M. Linares. 2006. Speciation by hybridization in *Heliconius* butterflies. *Nature*, 441: 868–871.
- Miller, L. D. 1969. Nomenclature of wing veins and cells. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 8(2):37-48.
- MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA 2005. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea, Pernambuco. Diagnóstico do município de Igarassú. 22 pp.
- Mitter, C., D. J. Futuyma. 1983. An evolutionary-genetic view of host plant utilization by insects. In: Denno, R.F.; McClure, M.S. (eds.). *Variable plants and herbivores in natural and managed systems*. Academic Press, New York, NY.
- Nève, G., B. Barascud, H. Descimon and M. Baguette. 2008. Gene flow rise with habitat fragmentation in the bog fritillary butterfly (Lepidoptera: Nymphalidae). *BMC Evolutionary Biology*, 8 (84): 1-10.
- Nice, C. C. & J. A. Fordyce. 2006. How caterpillar avoid overheating: Behavioral and phenotypic plasticity of pipevine swallowtail larvae. *Oecologia*, 146:541-548.
- Nijhout, H. F. 1991. The Development and Evolution of Butterfly Wing Patterns. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- Nimer, E. 1972. Climatologia da região sudeste do Brasil. Introdução à climatologia dinâmica. *Revista Brasileira de Geografia*, 34: 3-48.
- Oliveira, D. L. & A. M. Araújo. 1992. Studies on the genetics and ecology of *Heliconius erato* (Lepidoptera; Nymphalidae). IV. Effective size and variability of the red raylets in natural populations. *Revista Brasileira de Genética*, 15(4):789-799.
- Oliver, J. C. 2006. Population genetic effects of human-mediated plant range expansions on native phytophagous insects. *Oikos*, 112 (2):456-463.
- Otaki, J. M. 2007 a. Reversed type of color-pattern modifications of butterfly wings: A physiological mechanism of wing-wide color-pattern determination. *Journal of Insect Physiology*, 53:526–537.
- Otaki, J. M. 2007 b. Stress-Induced Color-Pattern Modifications and Evolution of the Painted Lady Butterflies *Vanessa cardui* and *Vanessa kershawi*. *Zoological Science*, 24: 811–819.
- Otaki, J. M. 2008 a. Physiologically induced color-pattern changes in butterfly wings: Mechanistic and evolutionary implications. *Journal of Insect Physiology*, 54:1099–1112.
- Otaki, J. M. 2008 b. Phenotypic plasticity of wing color patterns revealed by temperature and chemical applications in a nymphalid butterfly *Vanessa indica*. *Journal of Thermal Biology*, 33:128–139.
- Pansera, M. C. G. & A. M. Araújo 1983. Distribution and heritability of the red raylets in *Heliconius erato phyllis* (Lepid.; Nymph.). *Heredity* 51:643-652.
- Périco, E. & Araújo, A. M. 1991. Suitability of host plants (Passifloraceae) and their acceptableness by *Heliconius erato* and *Dryas iulia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Evolución Biológica*, 5: 59-74.
- Papaj, D. R., H. S. Mallory and C. A. Heinz. 2007. Extreme weather change and the dynamics of oviposition behavior in the pipevine swallowtail, *Battus philenor*. *Oecologia*. 152:365-375.
- Peel, M. C., B. L. Finlayson and T. A. McMahon. 2007. Update world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 11:1633-1644.

- Penter, C., E. Pedó, M. E. Fabián e S. M. Hartz. 2008. Inventário Rápido da Fauna de Mamíferos do Morro Santana, Porto Alegre, RS. *Revista Brasileira de Biociências*, 6 (1): 117-125.
- Pigliucci, M., C. J. Murren, C. D. Schlichting. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, 209: 2362–2367.
- Polus, E., S. Vandewoestijne, J. Choult, M. Bague. 2007. Tracking the effects of one century of habitat loss and fragmentation on calcareous grassland butterfly communities. *Biodiversity Conservation*, 16:3423–3436.
- Primack, R. B e E. Rodrigues. 2001. *Biologia da conservação*. Editora Planta, Londrina, PR. 328p.
- Prudic, K. L., J. C. Oliver and M. D. Bowers. 2005. Soil nutrient effects on oviposition preference, larval performance, and chemical defense of a specialist insect herbivore. *Oecologia*, 143:578-587.
- Ramos, R. R. & A. V. L. Freitas 1999. Population biology and wing color variation in *Heliconius erato phyllis* (Nymphalidae). *Journal of the Lepidopterists' Society*, 53(1): 11-21.
- Ramos, R. R. 2003. Seleção de planta hospedeira por *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera, Nymphalidae, Heliconiini), no SE do Brasil. Uso, preferência e desempenho larval. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Ramos, R. R., D. Rodrigues and A. V. L. Freitas. 2009. Positive Relationships between Oviposition and Larval Performance in a *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Nymphalidae: Heliconiinae) population from Southeastern Brazil. Submitted to: *Studies on Neotropical Fauna and Environment*.
- Rausser, M. D. 1978. Search image for leaf shape in a butterfly. *Science* 200: 1071-1073.
- Reed, R. D., W. O. McMillan and L. M. Nagy. 2008. Gene expression underlying adaptive variation in *Heliconius* wing patterns: non-modular regulation of overlapping cinnabar and vermilion prepatterns. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 275:37-45.
- Resh, V. H. & R. T. Cardé. 2003. *Encyclopedia of insects*. Academic Press. Elsevier Science USA. 1266 pp.
- Reynolds, J., B. S. Weir & C. C. Cockerham. 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, 105: 767-779.
- Ridley, M. 2006. *Evolução*. Tradução H. Ferreira, L. Passaglia e R. Fischer. 3ed. Artmed, Porto Alegre-RS. 752 pp.
- Rodrigues, D. & G. R. P. Moreira. 1999. Feeding preference of *Heliconius erato* (Lep.: Nymphalidae) in relation to leaf age and consequences for larval performance. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 53(3): 108-113.
- Rodrigues, D. & G. R. P. Moreira. 2002. Geographical variation in larval host-plant use by *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) and consequences for adult life history. *Brazilian Journal of Biology*, 62(2): 321-332.
- Rodrigues, D. & G. R. P. Moreira. 2004. Seasonal variation in larval hosts plants and consequences for *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) adult body size. *Austral Ecology*. 29: 437-445.
- Rousset, F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145: 1219-1228.
- Schaffer, H. E. & R.R. Sederoff. 1981. Improved estimation of DNA fragment lengths from agarose gels. *Analytical Biochemistry*, 115: 113-122.
- Schoonhoven, L. M.; J. J. A. van Loon and M. Dicke. 2005. *Insect-Plant Biology*. 2<sup>nd</sup> edition. United States by Oxford University Press Inc., NY. 421p.
- Schowalter, T. D. 2006. *Insect Ecology*. Academic Press. Oxford, UK. 572 pp.
- Schulze, E., E. Beck and K. Müller-Hohenstein. 2005. *Plant Ecology*. Springer Berlin, Germany. 702 p.
- Schweiger, O., C. F. Dormann, D. B. and M. Frenzel. 2006. Occurrence pattern of *Pararge aegeria* (Lepidoptera: Nymphalidae) with respect to local habitat suitability, climate and landscape structure. *Landscape Ecology*, 21:989–1001.
- Shapiro, A. M. 1974. Beak-mark frequency as an index of seasonal predation intensity on common butterflies. *American Naturalist*, 108(960):229-232.

- Sheppard, P. M., J. R. G. Turner, K. S. Brown, W. W. Benson and M. C. Singer. 1985. Genetics and evolution of Muellerian mimicry in *Heliconius* butterflies. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences*, 308:433-610.
- Singer, M.C., D. Ng, D. Vasco & C. D. Thomas. 1992. Rapidly evolving associations among oviposition preferences fail to constrain evolution of insect diet. *American Naturalist*, 139: 9-20.
- Sokal, R.R & Rohlf, F.J. 2001. Biometry. 3rd edition, W.H.Freeman and Company. 887pp.
- Solferini, V. N. & D. Selivon. 2000. Genética da Associação de insetos com plantas hospedeiras. *Oecologia Brasiliensis*, 8: 423-436.
- Spencer, K. C. 1988. Chemical mediation of coevolution in the *Passiflora-Heliconius* Interaction, pp 167-240. In K. C. Spencer (ed.), Chemical mediation of coevolution. Academic Press, Inc., San Diego, California.
- Sperling, F. 2003. Determining linkage relationships in lepidoptera. Pp. 457-458, in C. L. Boggs, W. B. Watt and P. R. Ehrlich (eds.), Butterflies. Ecology and evolution taking flight. Chicago UP, USA.
- Srygley, R.B. & Chai, P. 1990. Flight morphology of Neotropical butterflies: palatability and distribution of mass to the thorax and abdomen. *Oecologia*, 84:491-499.
- Srygley, R. B., E. G. Oliveira, R. D. 1996. Wind drift compensation, flyways, and conservation of diurnal, migrant Neotropical Lepidoptera. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 1375 (263): 1351-1357.
- Srygley, R. B. 2007. Evolution of the wave: aerodynamic and aposematic functions of butterfly wing motion. *Proceeding of the Royal Society B*, 274: 913-917.
- Stamp, N. E. & M. D. Bowers. 1990. Variation in food quality and temperature constrain foraging of gregarious caterpillars. *Ecology*, 71:1031-1039.
- StatSoft, Inc. 2008. STATISTICA. Data analysis software system, version 8.0, USA. www.statsoft.com.
- Stevens, M. 2005. The role of eyespots as anti-predator mechanisms, principally demonstrated in the Lepidoptera. *Biological Review*, 80: 573-588.
- Stillwell, R. C. and C. W. Fox. 2009. Geographic variation in body size, sexual size dimorphism and fitness components of a seed beetle: local adaptation versus phenotypic plasticity. *Oikos*, 118: 703-712.
- Takagi, S. & T. Miyashita. 2008. Host Plant Quality Influences Diapause Induction of *Byasa alcinous* (Lepidoptera: Papilionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 101(2): 392-396.
- Tscharntke, T. & R. Brandl. 2004. Plant-insect interactions in fragmented landscapes. *Annual Review of Entomology*, 49:405-430.
- UFRGS. 2003. Comissão de Instalação da Futura Unidade de Conservação da UFRGS. Dossiê Morro Santana. 20 pp.
- Ururahy, J. C., J. E. R. Collares, M. M. Santos & R. A. A. Barreto. 1987. Vegetação. In Projeto RADAMBRASIL. Vol. 32. fls. sf 23-24 (Rio de Janeiro e Vitória). Edit. Ministério das Minas e Energia, Brasília, DF.
- Van Dyck, H. & E. Matthysen. 1998. Thermoregulatory differences between phenotypes in the speckled wood butterfly: hot perchers and cold patrollers? *Oecologia*. 114:326-334.
- Van Dyck, H. & C. Wiklund. 2002. Seasonal butterfly design: morphological plasticity among three developmental pathways relative to sex, flight and thermoregulation. *Journal of Evolution Biology*. 15: 216-225.
- Van Loon, J. J. A. & L. M. Schoonhoven. 1999. Specialist deterrent chemoreceptors enable *Pieris* caterpillars to discriminate between chemically different deterrents. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 91: 29-35.
- Vanzolini, P. E. & E. E. Williams. 1970. South American anoles: The geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zool. S. Paulo* 19:1-298.
- Vanzolini, P. E. 2002. A second note on the geographical differentiation of *Amphisbaena fuliginosa* L., 1758 (Squamata, amphisbaenidae), with a consideration of the forest refuge model of speciation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 74:609-648.

- Watt, W. B. 1968. Adaptive significance of pigment polymorphisms in *Colias* butterflies. I. Variation of melanin pigment in relation to thermoregulation. *Evolution*. 22:437-458.
- WEATHER UNDERGROUND 2009. Disponible a partir de: <http://www.wunderground.com/global/stations/83782.html#History>
- Weir, B. S. & C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.
- Wickler, W. 1968. El mimetismo en las plants y en los animals. Ediciones Guadarrama, S. A. Madrid. 256pp.
- Wiklund, C. & M. Friberg. 2009. The evolutionary ecology of generalization: among-year variation in host plant use and offspring survival in a butterfly. *Ecology*. 90: 3406-3417.
- Wilcox, D., B. Dove, D. McDavid and D. Greer. 2002. Image Tool for Windows v 3.00. The University of Texas Health Science Center in San Antonio All rights reserved.
- Windig, J. J. & P. Lammar. 1999. Evolutionary genetics of seasonal polyphenism in the map butterfly *Araschnia levana* (Nymphalidae: Lepidoptera). *Evolutionary Ecology Research*. 1: 875–894.
- Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. Volume 4. Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.
- Zakharov, E. V. and J. J. Hellmann. 2008. Genetic differentiation across a latitudinal gradient in two co-occurring butterfly species: revealing population differences in a context of climate change. *Molecular Ecology*. 17: 189-208.
- Zijlstra, W. G., Steigenga, M. J., Koch, P. B., Zwaan, B. J. & Brakefield, P. M. 2004. Butterfly selected lines explore the hormonal basis of interactions between life histories and morphology. *American Naturalist*, 163, E76–E87.