



LUCAS AUGUSTO KAMINSKI

HISTÓRIA NATURAL E MORFOLOGIA DOS ESTÁGIOS IMATUROS DE *Theopethestias* HEWITSON, 1860 (LEPIDOPTERA, RIODINIDAE) COM ÊNFASE NA MIRMECOFILIA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de concentração: Biologia Comparada

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

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PORTO ALEGRE

2006

HISTÓRIA NATURAL E MORFOLOGIA DOS ESTÁGIOS IMATUROS DE *Theope
thestias* HEWITSON, 1860 (LEPIDOPTERA, RIODINIDAE) COM ÊNFASE NA
MIRMECOFILIA.

LUCAS AUGUSTO KAMINSKI

Aprovada em 03 / 03 / 2006

Profa. Dra. Betina Blochtein (PUC-RS)

Profa. Dra. Helena P. Romanowski (UFRGS)

Prof. Dr. Marcelo Duarte (MZUSP)

“(...) riodinid butterflies. This extraordinary group of butterflies melds all of the characteristics of a high tropical diversity with extreme rarity - the something that, in my view, is distinctly and tragically the essence of Neotropical organisms”.

Philip J. DeVries (1997)

Dedicado às larvas, formigas e canelas...

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Prof. Gilson R.P. Moreira pela excelente orientação ao longo destes anos e pela confiança no desenvolvimento desta dissertação.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelo ensino gratuito e de qualidade. Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, em especial à Geórgia Machado, pela amizade e valiosa assistência prestada aos alunos do programa. À CAPES pela concessão de bolsa de mestrado.

Aos colegas do Laboratório de Morfologia e Comportamento de Insetos da UFRGS: Antonio Paim, Danessa Boligon, Daniela Rodrigues, Elisete Barp, Josielma de Macedo, Mauricio Tavares, Mônica Acioli, Solange Kerpel, Rafael Dell’Erba e Vidica Bianchi pela agradável convivência, ensinamentos e discussões. Em especial aos meus queridos co-orientados Ana Carolina Aymone e Denis S. da Silva.

À Profa. Helena P. Romanowski (UFRGS) por todas as oportunidades que eu tive enquanto membro do Projeto “Borboletas do Rio Grande do Sul”. Da mesma forma, aos integrantes do Laboratório de Bioecologia de Insetos, em especial ao Adriano Cavalleri, Alexandra Schantz, Ana L. Paz, Fabiana de Camargo, Gerson Buss, Maria O. Marchiori, Melissa Teixeira, Milton Mendonça e Silvia Pinent. Em especial aos lepidopterólogos Cristiano A. Iserhard e Eduardo C. Teixeira, pela amizade e companheirismo desde as primeiras saídas de campo.

Ao Prof. Fábio C. Abdalla (UNESP - Rio Claro), pela orientação sensata e pela oportunidade de desenvolver um estágio sobre técnicas histológicas. Ao Laboratório de Histologia da UNESP - Rio Claro, pela acolhida e apoio na realização das análises histológicas e histoquímicas. Em especial, à Thaís Fernandes e Tatiana Souza pela hospitalidade e amizade durante o período em que estive em Rio Claro.

Ao Laboratório de Histologia da PUC-RS, em especial à Camila Gonçalves, pelo auxílio na realização em parte das análises histológicas. À Cassandra Monteiro (UFRGS) pela ajuda na preparação dos fixadores.

À Profa. Rosy Isaias (UFMG) pela execução e interpretação dos cortes histológicos da folha.

Aos Professores Carlos R. Brandão (MZUSP) e Elena Diehl (UNISINOS) pelo auxílio na identificação das formigas.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS, especialmente a Moema Vieira e Mirian dos Santos, pelo auxílio na preparação das amostras e micrografias.

Ao Prof. José F. Amato (UFRGS), pela amizade, e por ter se mostrado sempre atencioso e disposto a ajudar na realização das fotos com a máquina digital. Da mesma forma, ao Cristiano F. Schwertner.

Ao amigo Jorge S. Bizarro (UFPR), pela constante troca de informações sobre imaturos de borboletas, pela agradável convivência e auxílio durante o curto período em que estive em Curitiba e, principalmente, pelas informações concernentes à biologia de *Theope thestias* no estado do Paraná.

Dentre as diversas pessoas que auxiliaram nas coletas de campo, gostaria de agradecer em especial a Alexandra Bächtold (UNIVILLE), pela hospitalidade e auxílio durante as coletas realizadas em Joinville. Ao Sebastian Sendoya (UNICAMP) pelo apoio durante as coletas em Itirapina. À Gislene Gonçalves (UFRGS) e Empresa de Consultoria Ambiental Biolaw, pelo apoio logístico e auxílio na realização das coletas em Terra de Areia. Ao Cristiano Iserhard, Ernesto Schmidt e Denis S. da Silva, pelo auxílio durante as coletas em Maquiné.

Aos Professores André V.L. Freitas (UNICAMP) e Marcelo Duarte (MZUSP), pela amizade, conselhos e conversas lepidopterológicas. Em especial ao Marcelo, pela

disponibilização de sua biblioteca e envio de material bibliográfico fundamental para o desenvolvimento desta Dissertação.

À Carla Penz (University of New Orleans), pelo incentivo no estudo dos Riodinidae, principalmente pelas discussões enriquecedoras sobre mirmecofilia que acrescentaram importantes informações a esta dissertação. Da mesma forma aos diversos pesquisadores que colaboraram com o incentivo, discussões e envio de material bibliográfico, em especial: Alan Heath (University of Cape Town), Curtis Callaghan (MNRJ), Christian Brévignon, Daniel Janzen (University of Pennsylvania), Jason Hall (Smithsonian Institution), Julian Donahue (Natural History Museum of Los Angeles), Kleber Del-Claro (UFU), Konrad Fiedler (Universität Wien), Naomi Pierce (Harvard University), Paulo S. Oliveira (UNICAMP), Ricardo Monteiro (UFRJ) e Robert Robbins (Smithsonian Institution).

Aos meus familiares que nunca julgaram as minhas excentricidades, pelo contrario, sempre apoiaram. Em especial: aos meus queridos avós, irmãos, sobrinhos, a minha mãe Dóris S. Teixeira, que me ensinou o gosto pelas artes e ciências naturais, ao meu pai Luiz C. Vergara, por ter sempre incentivado os meus estudos.

A Hosana Piccardi, pela compreensão, amor e cumplicidade.

A todos, meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	1
Os estágios imaturos de Riodinidae	2
O gênero <i>Theope</i>	4
Referências	6
CAPÍTULO 2 HISTÓRIA NATURAL E MORFOLOGIA DOS ESTÁGIOS IMATUROS DE <i>Theope thestias</i> HEWITSON, 1860 (LEPIDOPTERA, RIODINIDAE, RIODININAE, NYMPHIDIINI)	15
Resumo	16
Palavras-chave	16
Introdução	16
Material e Métodos	20
Coleta de material	20
Criação dos estágios imaturos	22
Caracterização do dano na folha	22
Estatística	22
Análises morfológicas	22
Terminologia	23
Resultados	23
História natural	23
Descrição dos estágios imaturos	29
Discussão	49
Plantas hospedeiras e mirmecofilia	49
Morfologia	51
Agradecimentos	54
Referências	54

CAPÍTULO 3	ESTUDO MORFOLÓGICO E HISTOQUÍMICO DAS CERDAS BALONIFORMES E ÓRGÃOS MIRMECOFÍLICOS DAS LARVAS DE <i>Theope thestias</i> HEWITSON, 1860 (LEPIDOPTERA: RIODINIDAE)	63
	Resumo	64
	Palavras-chave	64
	Introdução	64
	Material e Métodos	68
	Coleta de material	68
	Microscopia eletrônica de varredura	68
	Microscopia de luz	70
	Resultados e Discussão	70
	Cerdas baloniformes	70
	Papilas vibratórias	75
	Órgãos nectários tentaculares	75
	Órgãos tentaculares anteriores e glândula cervical	80
	Órgãos perfurados em forma de cúpula	81
	Agradecimentos	81
	Referências	82
CAPÍTULO 4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
	Referências	89
ANEXOS	91
	NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA ZOOTAXA	91
	NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA ZOOMORPHOLOGY	94

RESUMO

Neste estudo são descritos e ilustrados pela primeira vez aspectos da biologia e morfologia dos estágios imaturos de *Theope thestias* Hewitson, 1860 (Lepidoptera: Riodinidae). Os registros obtidos com relação à utilização das plantas hospedeiras (oligofagia em Lauraceae) e formigas atendentes (mirmecofilia com *Camponotus* Mayr, 1861) são discutidos no contexto da evolução da mirmecofilia em *Theope* Doubleday, 1847. A ultraestrutura coriônica externa, a quetotaxia primária e ultraestrutura tegumentar externa das larvas e das pupas são descritas e comparadas com as de outras espécies de Riodinidae. As cerdas baloniformes e órgãos mirmecofílicos das larvas são descritos quanto à ultraestrutura tegumentar externa e anatomia interna, através de microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz. A porção glandular das cerdas baloniformes é descrita pela primeira vez. É proposta uma nomenclatura para as diferentes porções apresentada pelos órgãos nectários tentaculares de Riodinidae. As estruturas descritas são discutidas quanto à função na interação com as formigas com base no conhecimento atual. O posicionamento dos órgãos perfurados em forma de cúpula é discutido quanto à sua provável importância na mirmecofilia.

ABSTRACT

In the present study, information is provided for the first time about biology and morphology of the immature stages of *Theope thestias* Hewitson 1860 (Lepidoptera: Riodinidae). Records concerning host plants (Lauraceae oligophagy) and tending ants (*Camponotus* Mayr, 1861 myrmecophily) are discussed from the *Theope* Doubleday, 1847 myrmecophily evolutionary perspective. Chorionic external ultra structure, larval primary chaetotaxy, and tegument external ultra structure of both larva and pupa, are described and compared within Riodinidae. Balloon setae and other ant-organs are internally described, based upon light and scanning electron microscopy. The glandular nature of the balloon setae is documented for the first time. A nomenclature is proposed for characterizing the different sections of riodine's tentacle nectary organs. Glandular descriptions are discussed from their functional perspective regarding the larva - ant interaction. Position of perforated cupola organs is also discussed in relation to their importance in such an interaction.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

A região Neotropical é privilegiada com relação à riqueza de espécies de borboletas quando comparada a outras regiões biogeográficas (Heppner 1991, Robbins 1993). Dentre as famílias de borboletas neotropicais, destacam-se os Lycaenidae e Riodinidae, que constituem cerca de 30% da fauna de borboletas em qualquer sítio dos neotrópicos (Brown & Freitas 1999). O *status* taxonômico destes dois grupos tem sido bastante discutido quanto à classificação em nível de família ou subfamília (ver Eliot 1973, Harvey 1987a, Robbins 1988, DeVries 1991a, Martin & Pashley 1992). Trabalhos recentes, com marcadores moleculares, têm corroborado o posicionamento de Riodinidae como grupo irmão de Lycaenidae (Campbell *et al.* 2000, Campbell & Pierce 2003, Wahlberg *et al.* 2005). Motivo pelo qual se adotou o *status* de família para Riodinidae no presente trabalho.

Os Riodinidae são conspícuos pela grande variação morfológica (d’Abrera 1994), suas populações encontram-se localizadas, em microhábitats “ideais”, sendo raras temporal e espacialmente, mesmo quando amplamente distribuídas (Bates 1859, Callaghan 1978, Harvey 1987a, Brown 1992). Fatores como abertura do dossel e estrutura da vegetação, podem influenciar a preferência por um dado habitat (Alonso 2005). Além disso, parece haver uma estratificação vertical, pois algumas espécies passam grande parte da sua vida adulta nas copas das árvores, descendo ocasionalmente para áreas de clareiras, sendo raramente avistadas (DeVries 1997).

A família Riodinidae é única em diversos aspectos da biologia dos adultos, incluindo mimetismo, isolamento reprodutivo por *perching behavior*, plasticidade fenotípica, entre outros (*e.g.* Callaghan 1983, d’Abrera 1994, Miller 1996, DeVries 1997, Hall & Willmott 2000, Hall & Harvey 2002ab, Vukusic *et al.* 2002, Chaves 2004,

Hall 2005). O conhecimento a cerca dos riodinídeos pode ser útil para desvendar aspectos chave da biologia evolutiva em áreas tropicais, entretanto, tem sido historicamente o grupo de borboletas menos estudado (Harvey 1987a, Hall & Harvey 2001, Hall *et al.* 2004).

Os estágios imaturos de Riodinidae

Riodinidae é a família de borboletas menos conhecida com relação aos estágios imaturos, para os quais foram descritos 13-15% das espécies (Hall *et al.* 2004). As poucas espécies conhecidas demonstram uma destacada diversidade de padrões de hábitos de vida (DeVries *et al.* 1994). As larvas podem ser gregárias, semigregárias ou solitárias (Callaghan 1986). As larvas de muitas espécies se especializaram em itens alimentares variados. As espécies do gênero *Eurybia* Illiger, por exemplo, são especializadas em botões e flores de Marantaceae e Zingiberaceae (Horvitz & Schemske 1984, Horvitz *et al.* 1987, DeVries 1997). Espécies do gênero *Sarota* Westwood são especialistas em epífitas (DeVries 1988a, Hall 1998). As do gênero *Detritivora* Hall & Harvey apresentam alimentação especializada em serrapilheira (Hall & Harvey 2002c). A entomofagia, bastante difundida em algumas subfamílias de Lycaenidae (ver Cottrell 1984, Pierce 1995), também é citada para os gêneros *Setabis* Doubleday e *Alesa* Doubleday em Riodinidae (DeVries *et al.* 1994, DeVries & Penz 2000). Existem suspeitas de que devam existir espécies cleptobiontes em formigueiros (DeVries 1997). A alimentação nos nectários extraflorais das plantas é comum entre os Riodinidae (DeVries & Baker 1989, DeVries *et al.* 1994, DeVries 1997). Não obstante à diversidade de estilos de vida, as larvas podem ser divididas em dois grupos: mirmecóxenas (sem interações com formigas) e mirmecófilas (com interações com formigas) (ver Fiedler 1991, Pierce *et al.* 2002).

Em geral, as larvas não mirmecófilas apresentam cerdas e escolos mais desenvolvidos, com possível função defensiva (Harvey 1987b, DeVries 1992). A associação com formigas em Lepidoptera é conhecida apenas para Lycaenidae e Riodinidae (Fiedler 1991). A mirmecofilia requer adaptações morfológicas e comportamentais específicas para conviver com as formigas (Pierce *et al.* 2002). Existem duas hipóteses sobre a origem da mirmecofilia (revisitos por Malicky 1970). A primeira, denominada “mutualística”, sugere que as formigas protegem as larvas contra predadores em troca de secreções produzidas por órgãos especializados. A segunda, denominada “apaziguadora”, considera que os órgãos especializados serviriam para promover o apaziguamento das formigas, evitando os ataques. Vários autores têm discutido teoricamente sobre a contribuição do mutualismo e do apaziguamento na evolução dos órgãos larvais especializados nas interações com as formigas (Malicky 1970, Pierce & Mead 1981, Fiedler & Maschwitz 1988, Fiedler 1991, DeVries 1991c). No entanto, as duas hipóteses não são excludentes, sendo muito difícil de separá-las (Cottrell 1984, Pierce *et al.* 2002).

Nas larvas de Riodinidae são conhecidos cinco tipos de órgãos especializados na interação com as formigas (DeVries 1988b, 1997, DeVries *et al.* 2004), os quais são relacionados a seguir:

1) Órgãos perfurados em forma de cúpula (PCOs) - pequenas especializações da epiderme distribuídas pelo tegumento, com provável função de apaziguamento das formigas (Malicky 1970, DeVries 1988b);

2) Papilas vibratórias (VP) - par de cerdas modificadas situadas na placa protorácica, provavelmente associada à comunicação vibracional com as formigas (DeVries 1990, 1991b);

3) Órgãos nectários tentaculares (TNOs) - par de glândulas eversíveis presentes dorsalmente no oitavo segmento abdominal, que secreta um líquido rico em aminoácidos do qual as formigas se alimentam (Ross 1964, DeVries 1988b, DeVries & Baker 1989);

4) Órgãos tentaculares anteriores (ATOs) - par de órgãos eversíveis situados no terceiro segmento torácico, supostamente responsável pela comunicação química entre larvas e formigas (Ross 1966, DeVries 1988b);

5) Glândula cervical (CG) - glândula eversível situada ventralmente no protórax, provavelmente associada à disseminação de semioquímicos (DeVries *et al.* 2004, L. Kaminski dados inéditos).

O gênero *Theope*

Theope Doubleday, 1847 é o gênero mais diverso de riodinídeos mirmecófilos. Atualmente são reconhecidas 69 espécies (Callaghan & Lamas 2004). Os adultos são muitas vezes confundidos com Lycaenidae devido à coloração azulada na face dorsal, contrastando com a coloração pálida da face ventral (DeVries 1997). O gênero é pouco coletado e representado nas coleções. Muitas espécies são conhecidas apenas pela descrição original (Brown 1993, d'Abbrera 1994, DeVries 1997, Hall 1999).

Os estágios imaturos são conhecidos para apenas 12% das espécies, sendo que não existe nenhum ciclo de vida completo publicado (Hall 1999, Hall 2002). A primeira descrição de imaturos foi feita por Guppy (1904) e posteriormente por Kirkpatrick (1954), para espécies associadas ao cacau (*Theobroma cacao*), em Trinidad. Recentemente, foram publicados novos dados sobre os estágios imaturos (Harvey 1987a, DeVries *et al.* 1994, DeVries 1997). Das espécies cujas larvas já foram descritas, todas são mirmecófilas, associados à subfamília Dolichoderinae (Formicidae) (DeVries

et al. 1994, DeVries 1997, Hall 1999). DeVries & Poinar (1997) descrevem um fóssil em âmbar datado entre 15-25 milhões de anos de uma possível larva de *Theope* com adaptações à mirmecofilia. A principal característica das larvas de *Theope* notada por Guppy (1904) é a presença de uma coroa de cerdas infladas presentes no protórax (*balloon setae*). Segundo DeVries (1997), estas estruturas estariam relacionadas à mirmecofilia, exercendo uma função análoga aos ATOs. A recente descoberta de *balloon setae* em gêneros não mirmecófilos de Riodinidae proporcionou um novo debate com relação à evolução e função destas estruturas (Hall *et al.* 2004, Cock & Hall 2004).

Theope thestias Hewitson, 1860 se distribui amplamente na região neotropical, sendo a espécie com ocorrência mais austral (Hall 1999). Apesar de ser uma das espécies de *Theope* mais abundantes em coleções (Hall 1999), há localidades em que a espécie é considerada rara (Brown 1992). No Rio Grande do Sul, Biezanko *et al.* (1978) citam como escassa e local com base em espécimes coletados próximos à Pelotas, em meados do século passado (Krüger & Silva 2003). Em dez anos de levantamentos intensivos em vários locais do Rio Grande do Sul, realizados pelo projeto “Borboletas do Rio Grande do Sul” do Laboratório de Bioecologia de Insetos da UFRGS, registraram-se apenas dois indivíduos de *T. thestias* (Romanowski *et al.* 2003, Paz 2005). Pouco se sabe sobre a biologia desta espécie, sendo que os estágios imaturos são totalmente desconhecidos.

Hall (2002) propôs uma filogenia para o gênero *Theope* e gêneros afins utilizando somente morfologia do adulto, devido à falta de informação sobre os demais estágios. Tendo em vista que o conhecimento dos estágios imaturos tem se mostrado de grande importância na identificação e/ou sistemática filogenética de Lepidoptera (Kitching 1985, Miller 1991, Penz 1999, Freitas & Brown 2004), o objetivo deste estudo é

ampliar o conhecimento sobre a história natural e morfologia de Riodinidae, bem como, fornecer a primeira descrição completa de um ciclo de vida para o gênero *Theope*.

O presente projeto foi motivado pela descoberta de um grande número de larvas e formigas em simbiose, localizadas em uma árvore de Canela-amarela (*Nectandra oppositifolia* Nees) ao lado do prédio do Departamento de Zoologia UFRGS, no verão de 2003. A partir de larvas criadas foi possível identificar a borboleta como sendo *T. thestias*. A revisão da literatura disponível sobre o gênero proporcionou a detecção de que alguns aspectos da morfologia e do comportamento observados em *T. thestias* diferiam do descrito para outras espécies de *Theope*, principalmente, quanto às formigas atendentes e plantas hospedeiras. A análise dos estágios imaturos em microscopia eletrônica de varredura pode proporcionar maiores avanços no entendimento das interações simbióticas, bem como, as relações filogenéticas entre os gêneros de Riodinidae.

No primeiro artigo (Capítulo 2), descreve-se e discute-se aspectos da história natural e da morfologia dos estágios imaturos de *T. thestias*. No segundo (Capítulo 3), são descritos a ultraestrutura tegumentar externa e a anatomia interna das cerdas baloniformes e dos órgãos mirmecofílicos das larvas de *T. thestias*.

Referências

- Alonso, R.A.S. (2005) *Análise espaço-temporal de uma comunidade de Riodininae (Lepidoptera: Lycaenidae) no Parque Estadual de Vassununga, Gleba Pé de Gigante (SP)*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, viii + 94p.
- Bates, H.W. (1859) Notes on the south american butterflies. *Transactions of the Entomological Society of London*, 2, 1-11.

- Biezanko, C.M.; Mielke, O.H.H. & Wedderhoff, A. (1978) Contribuição ao estudo faunístico dos Riodinidae do Rio Grande do Sul, Brasil (Lepidoptera). *Acta Biológica Paranaense*, 7, 7-22.
- Brown, K.S. (1992) Borboletas da Serra do Japí: diversidade, hábitos, recursos alimentares e variação temporal. In: Morellato, L.P.C. (Ed.), *História natural da Serra do Japí: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil*. Editora da UNICAMP/FAPESP, Campinas, pp. 142-187.
- Brown, K.S. (1993) Neotropical Lycaenidae: an overview. *Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission*, 8, 45-61.
- Brown, K.S. & Freitas, A.V.L. (1999) Lepidoptera. In: Brandão, C.R.F. & Cancellato, E.M. (Eds.). *Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil. Invertebrados Terrestres*. FAPESP, São Paulo, pp. 225-243.
- Callaghan, C.J. (1978) Studies on restinga butterflies. II. Notes on the population structure of *Menander felsina* (Riodinidae). *Journal of the Lepidopterists' Society*, 32, 37-48.
- Callaghan, C.J. (1983) A study of isolating mechanisms among Neotropical butterflies of the subfamily Riodininae. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 21, 159-176.
- Callaghan, C.J. (1986) Notes on the biology of *Stalachtis susanna* (Lycaenidae: Riodininae) with a discussion of riodinine larval strategies. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 24, 258-263.
- Callaghan, C.J. & Lamas G. (2004) Riodinidae. In: Lamas, G. (ed.), *Checklist: Part 4A. Hesperioidea - Papilionoidea*. In: Heppner, J.B. (ed.), *Atlas of Neotropical Lepidoptera. Volume 5A*. Association for Tropical Lepidoptera, Scientific Publishers, Gainesville, pp. 141-170.

- Campbell, D.L.; Brower, A.V.Z. & Pierce, N.E. (2000) Molecular evolution of the wingless gene and its implications for the phylogenetic placement of the butterfly family Riodinidae (Lepidoptera: Papilionoidea). *Molecular Biology and Evolution*, 17, 684-696.
- Campbell, D.L. & Pierce, N.E. (2003) Phylogenetic relationships of the Riodinidae: implications for the evolution of ant association. In: Boggs, C.L.; Watt, W.B. & Ehrlich, P.R. (Eds.), *Butterflies: ecology and evolution taking flight*. University of Chicago, Chicago, pp. 395-408.
- Chaves, G.W. (2004) *Ecologia de agrupamentos e interações agonísticas na borboleta Charis cadytis (Riodinidae)*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, xiv + 104p.
- Cock, M.J.W. & Hall, J.P.W. (2004) Immature stages of *Calydna venusta morio* (Riodinidae) from Trinidad. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 58, 51-53.
- Cottrell, C.B. (1984) Aphytophagy in butterflies: its relationship to myrmecophily. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 79, 1-57.
- d'Abbrera, B. (1994) *Butterflies of the Neotropical region, part VI, Riodinidae*. Hill House, Victoria, pp. 880-1096.
- DeVries, P.J. (1988a) The use of epiphylls as larval hostplants by the neotropical riodinid butterfly, *Sarota gyas*. *Journal of Natural History*, 22, 1447-1450.
- DeVries, P.J. (1988b) The larval ant-organs of *Thisbe irenea* (Lepidoptera: Riodinidae) and their effects upon attending ants. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 94, 379-393.
- DeVries, P.J. (1990) Enhancement of symbioses between butterfly caterpillars and ants by vibrational communication. *Science*, 248, 1104-1106.

- DeVries, P.J. (1991a) Evolutionary and ecological patterns in myrmecophilous riodinid butterflies. *In*: Huxley, C.R. & Cutler, D.F. (Eds.), *Ant-plant interactions*. Oxford University, Oxford, pp. 143-156.
- DeVries, P.J. (1991b) Call production by myrmecophilous riodinid and lycaenid butterfly caterpillars (Lepidoptera): morphological, acoustical, functional, and evolutionary patterns. *American Museum Novitates*, 3025, 1-23.
- DeVries, P.J. (1991c). Mutualism between *Thisbe irenea* butterflies and ants, and the role of the ant ecology in the evolution of larval-ant associations. *Biological Journal of the Linnean Society*, 43, 179-195.
- DeVries, P.J. (1992) Singing caterpillars, ants and symbiosis. *Scientific American*, 267, 56-62.
- DeVries, P.J. (1997) *The butterflies of Costa Rica and their natural history II: Riodinidae*. Princeton University, Princeton, xxv + 228p.
- DeVries, P.J. & Baker, I. (1989) Butterfly exploitation of an ant-plant mutualism: adding insult to herbivory. *Journal of the New York Entomological Society*, 97, 332-340.
- DeVries, P.J.; Chacon, I.A. & Murray, D. (1994) Toward a better understanding of host use biodiversity in riodinid butterflies (Lepidoptera). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 31, 103-126.
- DeVries, P.J. & Poinar, G.O. (1997) Ancient butterfly - ant symbiosis: direct evidence from Dominican amber. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 264, 1137-1140.
- DeVries, P.J. & Penz, C.M. (2000) Entomophagy, behavior, and elongated thoracic legs in the myrmecophilous neotropical butterfly *Alesa amesis* (Riodinidae). *Biotropica*, 32, 712-721.

- DeVries, P.J.; Cabral, B.C. & Penz, C.M. (2004) The early stages of *Apodemia paucipuncta* (Riodinidae): myrmecophily, a new ant-organ and consequences for classification. *Milwaukee Public Museum Contributions to Biology and Geology*, 102, 1-13.
- Fiedler, K. (1991) Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the Lycaenidae (Insecta: Lepidoptera: Papilionoidea). *Bonner Zoologische Monographien*, 31, 1-210.
- Fiedler, K. & Maschwitz, U. (1988) Funcional analisis of the myrmecophilous relationship between ants (Hymenoptera: Formicidae) and lycaenids (Lepidoptera: Lycaenidae). II. Lycaenid larvae as trophobiotic partners of ants – a quantitative approach. *Oecologia*, 75, 204-206.
- Freitas, A.V.L. & Brown, K.S. (2004) Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidoptera). *Systematic Biology*, 53, 363-383.
- Eliot, J.N. (1973) The higher classification of the Lycaenidae (Lepidoptera): a tentative arrangement. *Bulletin of the British Museum of Natural History (Entomology)*, 28, 371-505.
- Guppy, P.J.L. (1904) Notes on the habits and early stages of some Trinidad butterflies. *Transactions of the Entomological Society of London*, 1904, 225-228.
- Hall, J.P.W. (1998) A review of the genus *Sarota* (Lepidoptera: Riodinidae). *Tropical Lepidoptera*, 9 (supplement 1), 1-21.
- Hall, J.P.W. (1999) *A revision of the genus Theope: its systematics and biology (Lepidoptera: Riodinidae: Nymphidiini)*. Scientific Publishers, Gainesville, viii + 127p.
- Hall, J.P.W. (2002) Phylogeny of the riodinid butterfly subtribe Theopeina (Lepidoptera: Riodinidae: Nymphidiini). *Systematic Entomology*, 27, 139-167.

- Hall, J.P.W. (2005) Montane speciation patterns in *Ithomiola* butterflies (Lepidoptera: Riodinidae): are they consistently moving up in the world? *Proceedings of the Royal Society of London B*, 272, 2457-2466.
- Hall, J.P.W. & Harvey, D.J. (2001) A phylogenetic analysis of the Neotropical riodinid butterfly genera *Juditha*, *Lemonias*, *Thisbe* and *Uraneis*, with a revision of *Juditha* (Lepidoptera: Riodinidae: Nymphidiini). *Systematic Entomology*, 26, 453-490.
- Hall, J.P.W. & Harvey, D.J. (2002a) Basal subtribes of the Nymphidiini (Lepidoptera: Riodinidae): phylogeny and myrmecophily. *Cladistics*, 18, 539-569.
- Hall, J.P.W. & Harvey, D.J. (2002b) The phylogeography of Amazonia revisited: new evidence from riodinid butterflies. *Evolution*, 56, 1489-1497.
- Hall, J.P.W. & Harvey, D.J. (2002c) A phylogenetic review of *Charis* and *Calephelis* (Lepidoptera: Riodinidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95, 407-421.
- Hall, J.P.W.; Harvey, D.J. & Janzen, D.H. (2004) Life history of *Calydna sturnula* with review of larval and pupal balloon setae in the Riodinidae (Lepidoptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 97, 310-321.
- Hall, J.P.W. & Willmott, K.R. (2000) Patterns of feeding behaviour in adult male riodinid butterflies and their relationship to morphology and ecology. *Biological Journal of the Linnean Society*, 69, 1-23.
- Harvey, D.J. (1987a) *The higher classification of the Riodinidae (Lepidoptera)*. Ph.D. Dissertation, University of Texas, Austin, vii + 216p.
- Harvey, D.J. (1987b) Riodinidae (Papilionoidea). In: Stehr, F.W. (Ed.), *Immature insects. Vol. 1*. Kendall/Hunt, Dubuque, pp. 446-447.
- Heppner, J.B. (1991) Faunal regions and the diversity of Lepidoptera. *Tropical Lepidoptera*, 2, 1-85.

- Horvitz, C.C. & Schemske, D.W. (1984) Effects of ants and an ant-tended herbivore on seed production of a Neotropical herb. *Ecology*, 65, 1369-1378.
- Horvitz, C.C.; Turnbull, C. & Harvey, D.J. (1987) Biology of immature *Eurybia elvina* (Lepidoptera: Riodinidae) a myrmecophilous metalmark butterfly. *Annals of the Entomological Society of America*, 80, 513-519.
- Kirkpatrick, T.W. (1954) Notes on minor insect pests of cacao in Trinidad. Part 2. Lepidoptera (butterflies and moths). *A Report on Cacao Research*, 1953, 67-72.
- Kitching, I.J. (1985) Early stages and the classification of milkweed butterflies (Lepidoptera: Danainae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 85, 1-97.
- Krüger, C.P. & Silva, E.J.E. (2003) Papilionoidea (Lepidoptera) de Pelotas e seus arredores, Rio Grande do Sul, Brasil. *Entomologia e Vectores*, 10, 31-45.
- Malicky, H. (1970) New aspects on the association between lycaenid larvae (Lycaenidae) and ants (Formicidae, Hymenoptera). *Journal of the Lepidopterists' Society*, 24, 190-202.
- Martin, J.A. & Pashley, D.P. (1992) Molecular systematic analysis of butterfly family and some subfamily relationships (Lepidoptera: Papilionoidea). *Annals of the Entomological Society of America*, 85, 127-135.
- Miller, J.S. (1991) Cladistics and classification of the Notodontidae (Lepidoptera: Noctuoidea) based on larval and adult morphology. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 204, 1-230.
- Miller, J.S. (1996) Phylogeny of the Neotropical moth tribe Josiini (Notodontidae: Dioprinae): a hidden case of müllerian mimicry. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 118, 1-45.
- Paz, A.L. (2005) *Levantamento da diversidade de borboletas (Lepidoptera: Papilionoidea e Hesperioidea) na Serra do Sudeste do Rio Grande do Sul, Brasil.*

- Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, x + 162p.
- Penz, C.M. (1999) Higher level phylogeny for the passion-vine butterflies (Nymphalidae: Heliconiinae) based on early stage and adult morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 127, 277-344.
- Pierce, N.E. (1995) Predatory and parasitic Lepidoptera: carnivores living on plants. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 49, 412-453.
- Pierce, N.E. & Mead, M.A. (1981) Parasitoids as selective agents in the symbiosis between butterfly larvae and ants. *Science*, 211, 1185-1187.
- Pierce, N.E.; Braby, M.F.; Heath, A.; Lohman, D.J.; Mathew, J.; Rand, B.R. & Travassos, M.A. (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Annual Review of Entomology*, 47, 733-771.
- Robbins, R.K. (1988) Comparative morphology of the butterfly foreleg coxa and trochanter (Lepidoptera) and its systematic implications. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 90, 133-154.
- Robbins, R.K. (1993) Comparison of butterfly diversity in the Neotropical and Oriental regions. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 46, 298-300.
- Romanowski, H.P.; Iserhard, C.A.; Marchiori, M.O.; Kaminski, L.A.; Teixeira, E.C.; Camargo, F. & Paz, A.L. (2003) Lista de espécies inventariadas através do projeto "As borboletas do Rio Grande do Sul". In: Bager, A. (Ed.) *Anais do II Simpósio de Áreas Protegidas*. Educat, Pelotas, pp. 02-09.
- Ross, G.N. (1964) Life-history studies on mexican butterflies. III. Early stages of *Anatole rossi*, a new myrmecophilous metalmark. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 3, 81-94.

- Ross, G.N. (1966) Life-history studies on mexican butterflies. IV. The ecology and ethology of *Anatole rossi*, a myrmecophilous metalmark (Lepidoptera: Riodinidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 59, 985-1004.
- Vukusic, P.; Sambles, J.R.; Lawrence, C. R. & Wootton, R. J. (2002) Limited-view iridescence in the butterfly *Ancyluris meliboeus*. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 269, 7-14.
- Wahlberg, N.; Braby, M.F.; Brower, A.V.Z.; de Jong, R.; Lee, M.; Nylin, S.; Pierce, N.E.; Sperling, F.A.H.; Vila, R.; Warren, A.D. & Zakharov, E. (2005) Synergistic effects of combining morphological and molecular data in resolving the phylogeny of butterflies and skippers. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 272, 1577-1586.

CAPÍTULO 2

HISTÓRIA NATURAL E MORFOLOGIA DOS ESTÁGIOS IMATUROS DE *Theope thestias*

HEWITSON, 1860 (LEPIDOPTERA, RIODINIDAE, RIODININAE, NYMPHIDIINI)¹

Lucas A. Kaminski² & Gilson R.P. Moreira²

Artigo a ser submetido para Zootaxa

¹ Contribuição n° ____ do Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

² Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: lucaskaminski@yahoo.com.br e gilson.moreira@ufrgs.br

Resumo

Aspectos da biologia e morfologia dos estágios imaturos de *Theope thestias* Hewitson são descritos e ilustrados pela primeira vez. Os registros obtidos com relação à utilização das plantas hospedeiras (oligofagia em Lauraceae) e formigas atendentes (mirmecofilia com *Camponotus*) são discutidos no contexto da evolução da mirmecofilia em *Theope*. A ultraestrutura coriônica externa, a quetotaxia primária e a ultraestrutura tegumentar externa das larvas e das pupas são descritas e comparadas com outras espécies de Riodinidae.

Palavras chave: *Camponotus*, Formicidae, Lauraceae, mirmecofilia, Neotropical, planta hospedeira, simbiose.

Introdução

Comparada a outras regiões biogeográficas, a região Neotropical possui uma fauna de borboletas bastante rica em número de espécies, (Heppner 1991, Robbins 1993). Entre as famílias de borboletas neotropicais destaca-se Riodinidae, que compreende aproximadamente 1300 espécies, das quais 95% são endêmicas da região (Harvey 1987a, DeVries 1997, Hall 2002, Hall & Harvey 2002, Callaghan & Lamas 2004).

O *status* taxonômico de Riodinidae tem sido bastante discutido nas últimas três décadas. Alguns autores a consideram como uma subfamília de Lycaenidae (ver Eliot 1973, Harvey 1987a, Robbins 1988, DeVries 1991a, Martin & Pashley 1992). No entanto, trabalhos recentes, com marcadores moleculares, têm corroborado o posicionamento de Riodinidae como uma família irmã de Lycaenidae (Campbell *et al.* 2000, Campbell & Pierce, 2003, Wahlberg *et al.* 2005).

Os Riodinidae têm sido historicamente o grupo de borboletas menos estudado (Harvey 1987b, Hall & Harvey 2001, Hall *et al.* 2004). Com relação aos estágios imaturos, existem informações para apenas 13-15% das espécies (Hall *et al.* 2004). Apesar da escassez de informações, é destacada a variedade de padrões de hábitos de vida (DeVries *et al.* 1994). As larvas podem ser gregárias, semigregárias ou solitárias (Callaghan 1986). Quanto à alimentação, são conhecidas larvas especializadas em flores, nectários extraflorais, epífitas, detritívoras, cleptoparasitas ou entomófagas (Bruch 1926, Bourquin 1953, Ross 1964, 1966, Horvitz *et al.* 1987, DeVries 1988a, 1997, DeVries *et al.* 1994, DeVries & Baker 1989, DeVries & Penz 2000, Callaghan 2003). Não obstante à diversidade de estilos de vida, as larvas podem ser classificadas em dois grupos: mirmecóxenas (sem interação com formigas) e mirmecófilas (com relações simbióticas com formigas) (ver Fiedler 1991, Pierce *et al.* 2002).

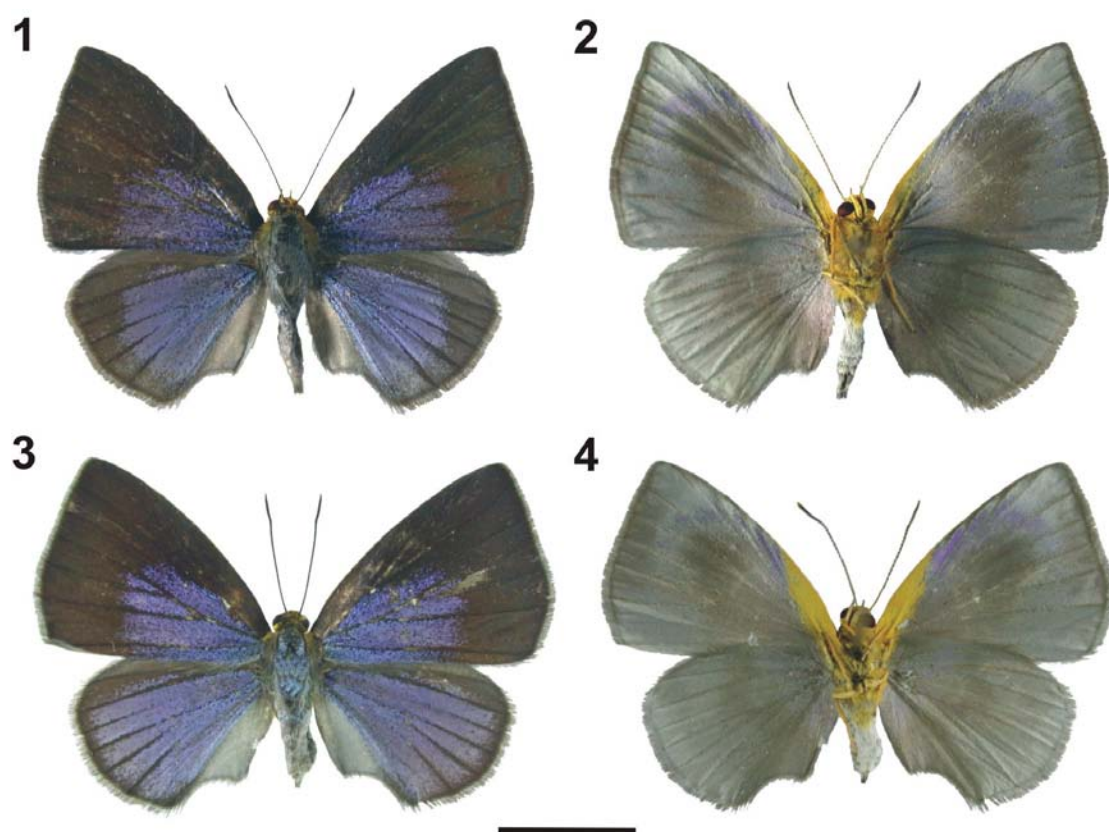
Theope Doubleday, 1847 é amplamente distribuído na região Neotropical, do México central ao sul do Brasil (Hall 1999). Atualmente são reconhecidas 69 espécies (Callaghan & Lamas 2004), representando o gênero mais diverso de riodinídeos mirmecófilos. A maioria das espécies é rara, e muitas são conhecidas apenas pelas descrições originais (Brown 1993, d'Abbrera 1994, DeVries 1997, Hall, 1999).

Quanto aos estágios imaturos de *Theope*, as informações são fragmentadas e restritas a apenas 12% das espécies, não existindo nenhum ciclo de vida completo publicado até o momento (Hall 1999, Hall 2002). A primeira descrição de imaturos foi feita por Guppy (1904) e posteriormente por Kirkpatrick (1954), para larva e pupa de *Theope eudocia* Westwood, 1851 e *Theope foliorum* Bates, 1868, ambas espécies associadas ao cacau (*Theobroma cacao*), em Trinidad. Apenas recentemente foram publicadas novas informações sobre os estágios imaturos de *Theope* (ver Harvey 1987a, DeVries *et al.* 1994, DeVries & Hall 1996, DeVries 1997, Hall *et al.* 2004).

Adicionalmente, DeVries & Poinar (1997) descrevem um fóssil de uma possível larva de *Theope* em âmbar, datado entre 15-25 milhões de anos. As larvas das espécies conhecidas são citadas como mirmecófilas obrigatórias com formigas Dolichoderinae (DeVries *et al.* 1994, DeVries 1997, Hall 1999), com exceção de um registro para Myrmicinae (DeVries & Hall 1996, DeVries 1997). Guppy (1904) caracterizou as larvas de *Theope* pela presença de uma coroa de cerdas infladas localizadas na placa protorácica, denominadas cerdas baloniformes (= *balloon setae*). Segundo DeVries (1997), estas estruturas estariam relacionadas à mirmecofilia. A recente descoberta destas cerdas em gêneros não mirmecófilos de Riodinidae proporcionou um novo debate com relação à evolução e função destas estruturas (Hall *et al.* 2004, Cock & Hall 2004).

Theope thestias Hewitson, 1860 apresenta ampla distribuição geográfica, das Guianas ao sul do Brasil (Hall 1999), sendo a espécie de *Theope* com ocorrência mais austral. O adulto possui coloração predominante azul na face dorsal e cinza, na face ventral, com tonalidades de violeta e uma mancha amarela na base das asas (Figs. 1-4, 19). Os sexos são distinguíveis pela predominância de azul na face dorsal da asa anterior e maior intensidade da mancha amarela ventral na fêmea (Hall 1999). Brévignon & Gallard (1999) registraram um macho em comportamento de *perching* entre 12:00 e 13:00 horas. É considerada rara e citada em flores na Serra do Japí, São Paulo (Brown 1992). Biezanko *et al.* (1978) citam *T. thestias* como escassa e local para região sudeste do Rio Grande do Sul. Nenhuma informação adicional é disponível na literatura sobre a biologia desta espécie, sendo que os estágios imaturos são totalmente desconhecidos.

Hall (2002) propôs uma filogenia para o gênero *Theope* e gêneros afins



FIGURAS 1-4. Adulto de *Theope thestias*. 1, macho em vista dorsal; 2, macho em vista ventral; 3, fêmea em vista dorsal; 4, fêmea em vista ventral. Barra = 0.6 cm.

utilizando somente a morfologia do adulto, devido à falta de informação sobre os demais estágios. Tendo em vista que o conhecimento dos estágios imaturos tem se mostrado de grande importância em estudos filogenéticos de Lepidoptera (*e.g.* Kitching 1985, Miller 1991, Penz 1999, Freitas & Brown 2004), o presente trabalho tem o intuito de ampliar o conhecimento sobre a morfologia e biologia de Riodinidae, bem como, fornecer a primeira descrição completa de um ciclo de vida para o gênero *Theope*.

Material e Métodos

Coleta de material. Estágios imaturos de *T. thestias* foram coletados em diversos locais do sul e sudeste do Brasil (Tabela 1). Os locais, datas de coletas e quantidade de estágios imaturos coletados foram os seguintes: Itirapina, SP, 02.X.2005, (n = 3); Mogi das Cruzes, SP, 13.IV.2006, (n = 2); Curitiba, PR, 01.VI.2005, (n > 10); Joinville, SC, 31.V.2005, (n = 2); Torres, RS, (17.I.2005), (n = 4); Terra de Areia, RS, 11.IV.2003, 27.XII.2004 (n > 20); Maquiné, RS, 26.VI.2004; 24.VI.2005, 26.III.2006 (N >20); Porto Alegre, RS, 25.II.2003, 08.IV.2003, 05.V.2003, (n > 40). A quantidade de imaturos coletados não reflete a abundância local, uma vez que o esforço de coleta foi diferente entre as localidades. Durante as coletas registrou-se a presença ou a ausência de formigas atendendo as larvas por planta hospedeira. Esta informação foi utilizada para verificar se as larvas são preponderantemente atendidas pelas formigas. As formigas associadas foram coletadas, fixadas em etanol a 70%, identificadas e tombadas na coleção do Laboratório de Insetos Sociais, Universidade do Vale dos Sinos (UNISINOS), São Leopoldo, Rio Grande do Sul. As plantas hospedeiras foram herborizadas, identificadas (Rohwer 1986, 1993) e depositadas no Herbário do Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS),

TABELA 1. Registros de plantas hospedeiras e formigas atendentes de *Theope thestias* em diferentes localidades do Sul e Sudeste do Brasil. Fitofisionomias: CSS, cerrado *sensu stricto*; FOD, floresta ombrófila densa; FOM, floresta ombrófila mista.

Localidades	Fitofisionomia / altitude	Plantas hospedeiras	Formigas atendentes
São Paulo			
Itirapina (21°15'S, 47°49'W)	CSS / 900 m	<i>Ocotea pulchella</i> (Lauraceae)	<i>Camponotus crassus</i> Mayr, 1862 <i>Camponotus rufipes</i> Fabricius, 1775
Mogi das Cruzes (23°14'S, 46° 36'W)	FOD / 500 m	<i>Nectandra oppositifolia</i> (Lauraceae)	não registrada
Paraná			
Curitiba (24°58'S, 49°05'W)	FOM / 800 m	<i>Ocotea nutans</i> (Lauraceae) <i>Nectandra grandiflora</i> (Lauraceae)	<i>Camponotus</i> aff. <i>blandus</i> (Smith, 1858) <i>C. rufipes</i>
São José dos Pinhais (25°34'S, 49°10'W)*	FOM / 800 m	<i>O. nutans</i>	não registrada
Santa Catarina			
Joinville (26°19'S, 48°50'W)	FOD / 400 m	<i>N. oppositifolia</i>	não registrada
Rio Grande do Sul			
Terra de Areia (29°30'S; 50°06'W)	FOD / 30 m	<i>N. oppositifolia</i>	<i>Camponotus sericeiventris</i> Guérin, 1838 <i>Camponotus</i> aff. <i>lespesi</i> Forel, 1886 <i>C. rufipes</i>
Torres (29°33'S; 49°72'W)	FOD / 20 m	<i>N. oppositifolia</i>	não registrada
Maquiné (29°35'S, 50°16'W)	FOD / 150 m	<i>N. oppositifolia</i>	<i>C. aff. lespesi</i>
Porto Alegre (30°05'S, 51°10'W)	FOD / 100 m	<i>N. oppositifolia</i>	<i>Camponotus mus</i> Roger, 1863 <i>C. aff. lespesi</i>

* Jorge S.S. Bizarro (Universidade Federal do Paraná, comunicação pessoal).

Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Os estágios imaturos de *T. thestias* foram separados por estágios e fixados em fluido de Dietrich e preservados em etanol a 70%. A cada ecdise as cápsulas cefálicas (exúvias) eram recolhidas e guardadas a seco. Material testemunho dos estágios imaturos de *T. thestias* encontra-se depositado sob o número 135, na coleção do Laboratório de Morfologia e Comportamento de Insetos (LMCI), Departamento de Zoologia, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Criação dos estágios imaturos. Os espécimes (ovos, larvas e pupas) coletados em campo foram levados ao laboratório e criados em câmara climatizada com temperatura controlada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$). Os ovos foram mantidos em placas de Petri com papel filtro umedecido até a eclosão. As larvas foram criadas em recipientes plásticos de 400 ml com folhas da planta hospedeira que eram oferecidas *ad libitum*.

Caracterização do dano na folha. Partes da folha intacta e comida pela larva foram fixadas em F.A.A. (formol 40%: ácido acético glacial: álcool 50%, 5:5:90). Em seguida, o material foi cortado e corado conforme protocolo adotado no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Os cortes foram montados entre lâmina e lamínula e observadas e fotografadas em microscópio Olympus[®] CH30.

Estatística. Os resultados obtidos quanto à presença ou ausência de formigas atendendo as larvas por planta hospedeira foram comparados por meio de teste χ^2 , calculado a partir da frequência esperada de ocorrência ao acaso (Zar 1999).

Análises morfológicas. Os aspectos morfológicos genéricos foram estudados a partir de material fixado. Para a descrição da quetotaxia primária, foram confeccionadas lâminas a partir de exúvias e larvas dissecadas e clarificadas em solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10%. As lâminas foram montadas em gelatina glicerinada e cobertas com lamínula. As medições, observações e ilustrações relativas à morfologia genérica

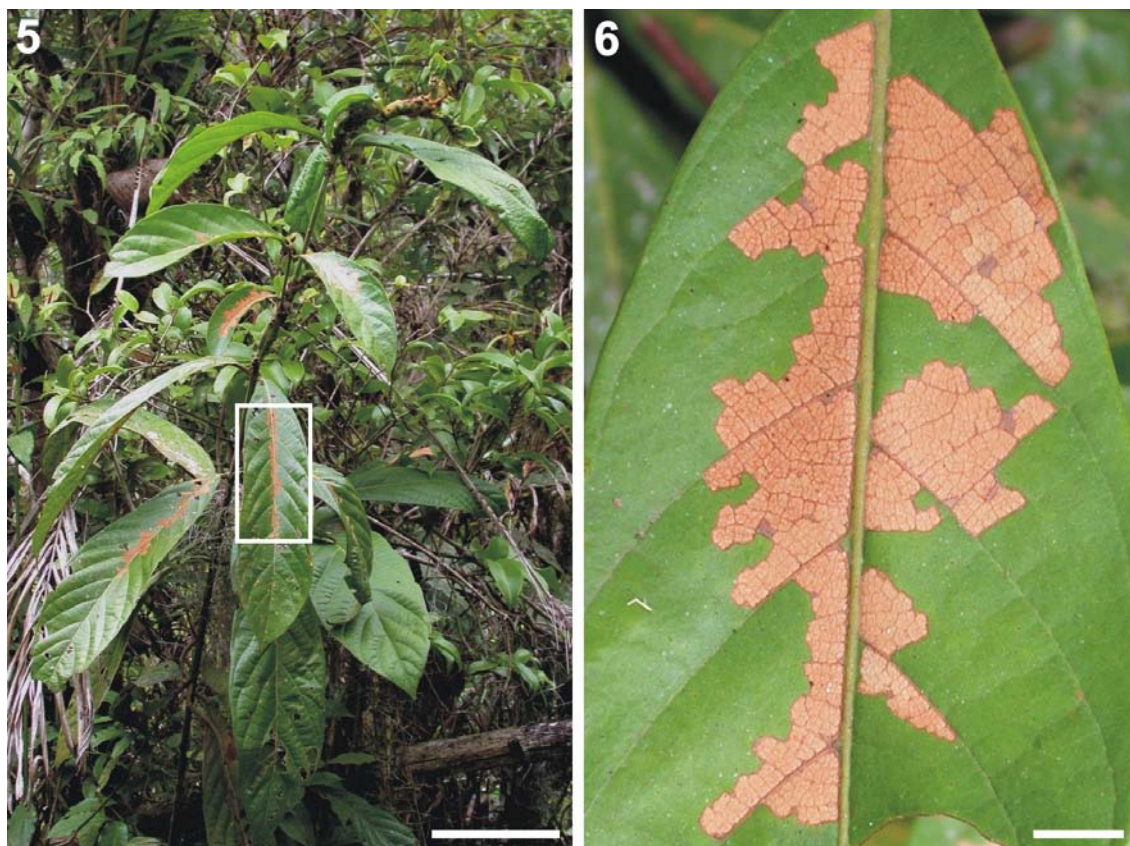
foram efetuadas em uma lupa Spencer[®], com o auxílio de uma escala e/ou grade micrométrica acopladas à ocular. As ilustrações e análises microscópicas foram baseadas na comparação de, no mínimo, cinco exemplares. O padrão de coloração dos estágios imaturos foi registrado *in vivo*, a partir de fotos realizadas com uma câmera fotográfica digital Nikon[®] Coolpix 995. No caso do ovo e ínstaes larvais iniciais, as fotos foram realizadas com a câmera fotográfica acoplada a uma lupa Zeiss[®] Stemi DV4. As amostras destinadas à microscopia eletrônica de varredura foram preparadas de acordo com o seguinte protocolo: desidratação em ponto crítico com aparelho Bal-tec[®] - CPD 030, montagem sobre fita dupla face em suportes metálicos, metalização com ouro em um aparelho Bal-tec[®] – SCD 050. As micrografias foram efetuadas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL[®] JSM-5800.

Terminologia. Para a descrição do estágio de ovo, foi utilizada a nomenclatura proposta por Downey & Allyn (1980, 1981) e Dell’Erba *et al.* (2005). Para a quetotaxia da cápsula cefálica, utilizou-se o sistema proposto por Stehr (1987). As cerdas do labro seguiram a terminologia de Peterson (1962). Para a quetotaxia do tórax e abdômen, adotou-se a nomenclatura de Stehr (1987). Os órgãos perfurados em forma de cúpula (PCOs) foram nomeados de acordo com o sistema de nomenclatura proposto por Ballmer & Pratt (1992) e seguido por Duarte *et al.* (2005). A terminologia utilizada na descrição da pupa foi a de Mosher (1916), Dias (1980) e Duarte *et al.* (2005). Para os órgãos associados à mirmecofilia, utilizou-se a nomenclatura de DeVries (1988b).

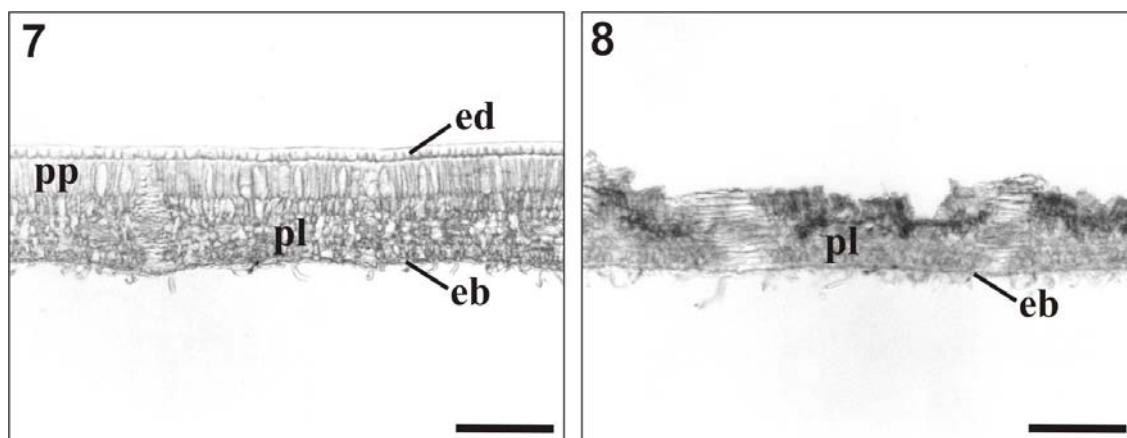
Resultados

História natural

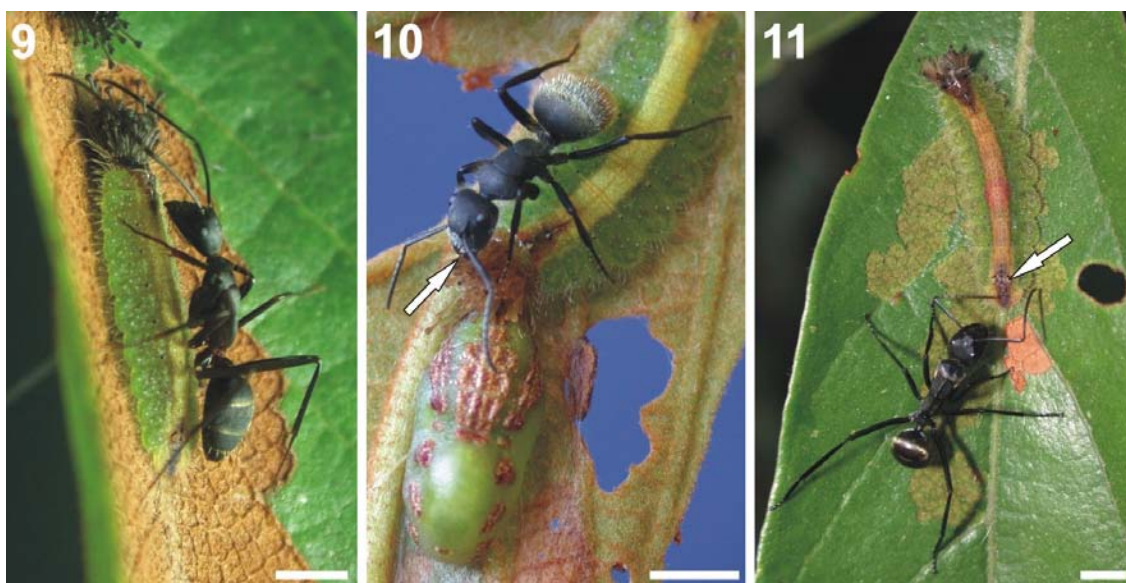
As larvas de *T. thestias* foram coletadas somente sobre espécies de Lauraceae, no sul e sudeste do Brasil, em canelas dos gêneros *Nectandra* Rol. ex Rottb e



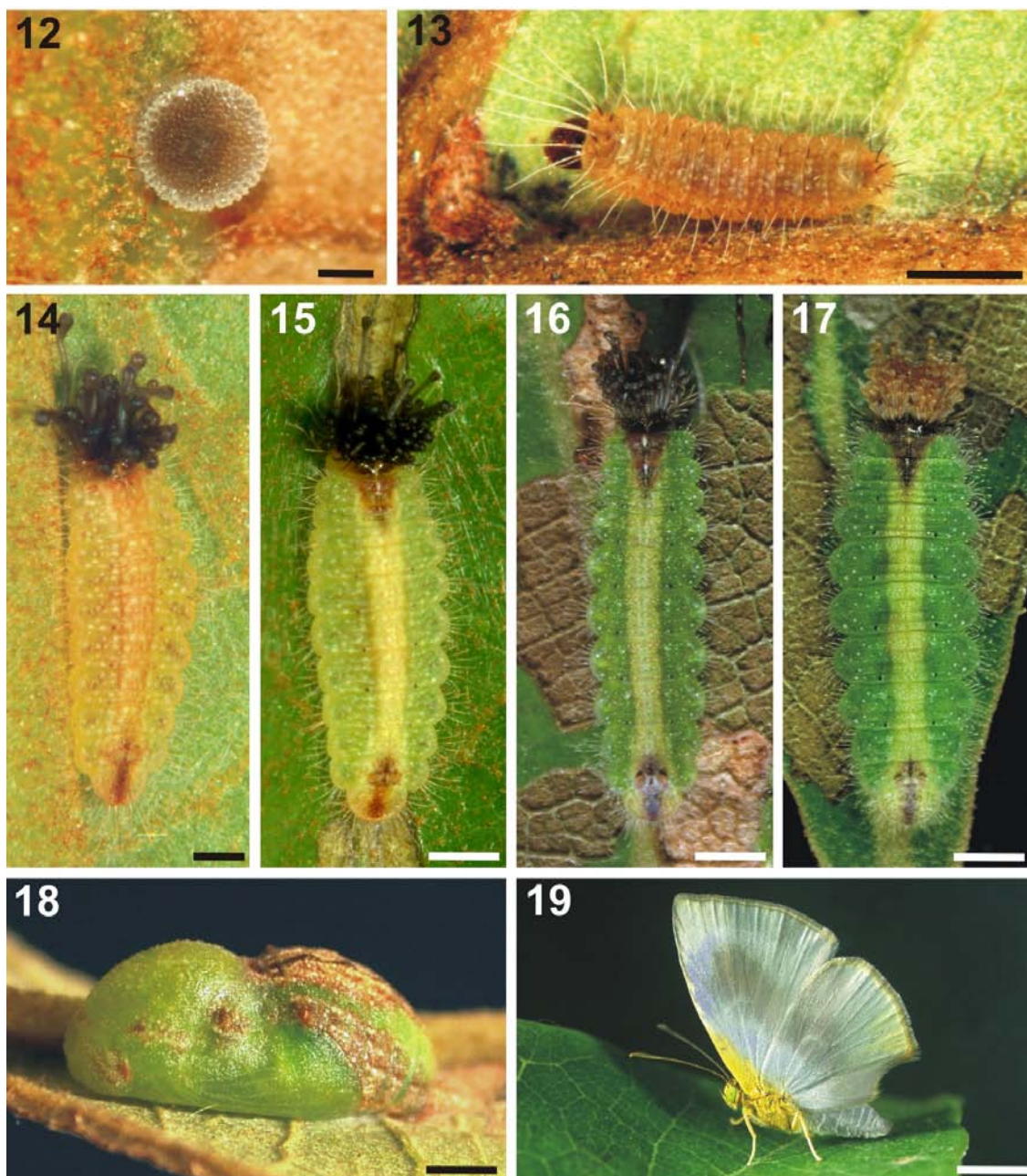
FIGURAS 5-6. Aspecto do dano provocado pela alimentação da larva de *Theopeltia* na face adaxial das folhas de *Nectandra oppositifolia*. 5, vista geral da planta com folhas comidas; 6, detalhe da face adaxial de uma folha comida (retângulo da Fig. 5). Barras = 8 e 2 cm, respectivamente.



FIGURAS 7-8. Caracterização em microscopia de luz do dano provocado pela alimentação da larva de *Theope thestias* em folhas de *Nectandra oppositifolia*. 7, porção foliar intacta; 8, porção foliar comida. **eb**, epiderme abaxial; **ed**, epiderme adaxial; **pl**, parênquima lacunoso; **pp**, parênquima paliçádico. Barras = 100 µm.



FIGURAS 9-11. Estágios imaturos de *Theope thestias* em interações simbióticas com formigas. 9, larva de 4^o ínstar sendo atendida por *Camponotus* aff. *lespesi*; 10, larva de 5^o ínstar e pupa sendo atendida por *Camponotus mus*, seta indica formiga interagindo com as cerdas baloniformes; 11, larva de 5^o ínstar sendo atendida por *Camponotus sericeiventris*, seta indica formiga antenando as glândulas nectaríferas. Barras = 0.2 cm.



FIGURAS 12-19. *Theope thestias*. 12, ovo em vista anterior; 13, larva de 1° ínstar em vista látero-dorsal; 14, larva de 2° ínstar em vista dorsal; 15, larva de 3° ínstar em vista dorsal; 16, larva de 4° ínstar em vista dorsal; 17, larva de 5° ínstar em vista dorsal; 18, pupa em vista lateral; 19, adulto recém emergido. Barras = 0.3; 0.3 e 0.5 mm; 0.1; 0.2; 0.3, 0.2 e 0.4 cm, respectivamente.

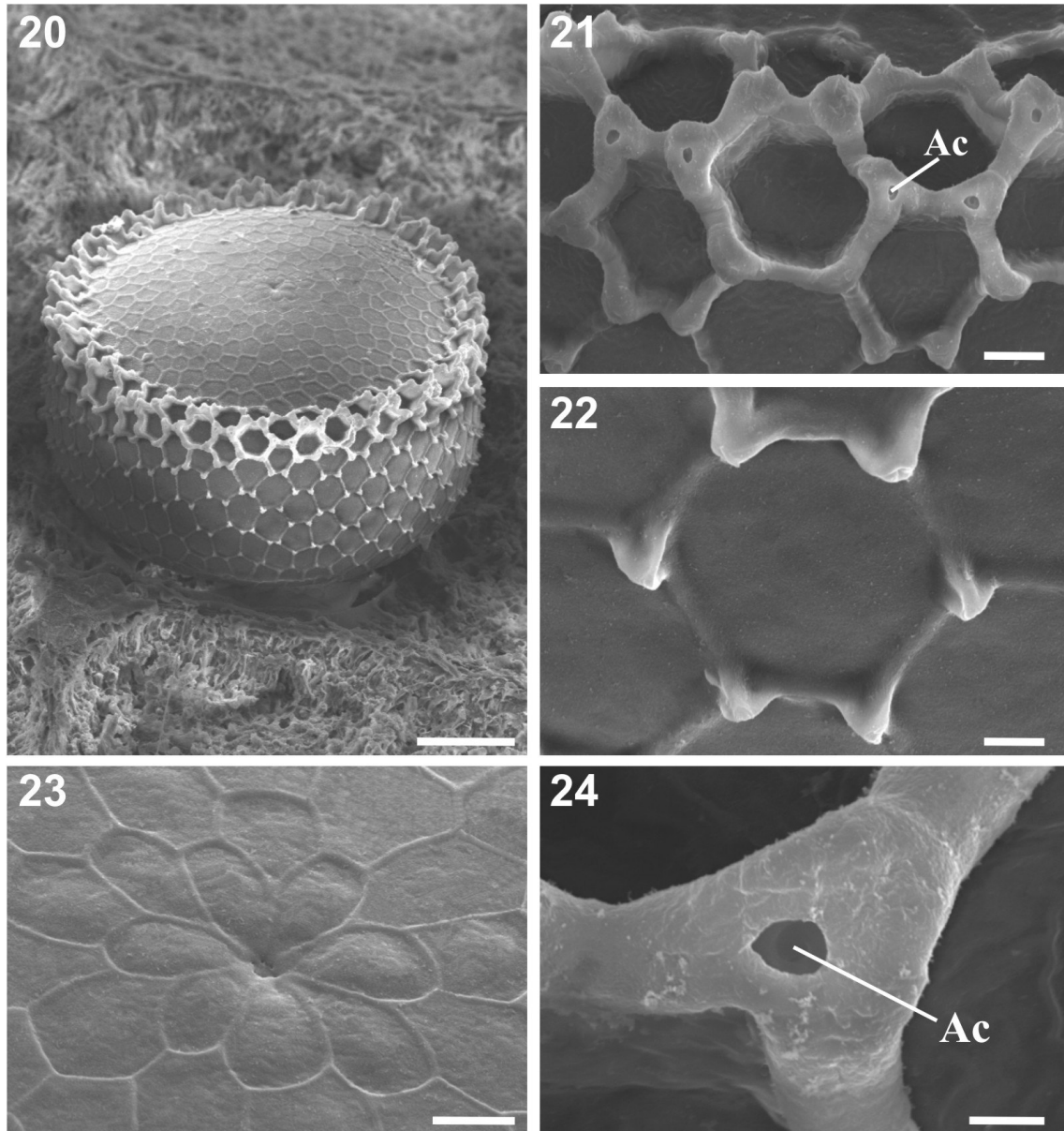
Ocotea Aubl. (Tabela 1). Na Serra Geral, acima de 800 m, as larvas utilizam *Nectandra grandiflora* Nees et Mart. ex Nees e *Ocotea nutans* (Nees). Em altitudes mais baixas (20-500 m), *Nectandra oppositifolia* Nees. No interior de São Paulo, em uma área de Cerrado *sensu stricto*, as larvas foram encontradas utilizando *Ocotea pulchella* Nees et Mart. ex Nees.

As larvas podem ser localizadas em campo através do dano deixado, após a alimentação na face adaxial das folhas (Figs. 5-6). A larva se alimenta apenas da epiderme adaxial e parênquima paliçádico, deixando intactos o parênquima lacunoso e a epiderme abaxial (Figs. 7-8). Os ovos são depositados nas folhas, tanto na face adaxial quanto na face abaxial, geralmente próximo à nervura central ou danos antigos. A fêmea deposita de um a cinco ovos por folha ($n = 10$), sendo que as larvas não se alimentam do cório. O estágio larval compreende cinco ínstars, com mudanças na coloração ao decorrer da ontogênese (Figs. 13-17). As larvas podem ser encontradas isoladas ou em grupos de até cinco indivíduos. A partir do 2º instar, são atendidas por formigas. Nas interações, as formigas tocam constantemente as antenas no corpo das larvas, principalmente nas cerdas baloniformes e órgãos nectários tentaculares (Fig. 9-11). As cerdas baloniformes são antenadas e prensadas pelas mandíbulas das formigas atendedoras, porém não foi detectada mudança de comportamento destas após a interação com a cerda. A larva empupa na própria planta hospedeira, geralmente na base do limbo foliar e próxima a outras larvas e pupas (Fig. 10). A pupa também é atendida por formigas. As larvas são encontradas em campo comumente sem a presença de formigas atendedoras, não havendo diferença estatística entre a presença e a ausência de formigas atendendo as larvas ($\chi^2 = 0.043$, $gl = 1$, $P = 0.835$, $n = 23$). No entanto, todas as formigas atendedoras encontradas com as larvas e pupas de *T. thestias* pertenciam ao gênero *Camponotus* Mayr (Formicinae) (Tabela 1).

Descrição dos estágios imaturos

Ovo (Figs. 12, 20-24). Coloração castanho-clara (Fig. 12). Com medidas (média \pm erro padrão, n = 10) para o diâmetro e altura iguais a 0.648 ± 0.009 mm e 0.240 ± 0.008 mm, respectivamente. Possui formato cilíndrico, com base achatada e ápice plano (Fig. 20). A região micropilar é alargada e situa-se no pólo anterior do ovo (Fig. 20). O ânulo é formado por células com ângulos retos, e a roseta formada por uma fileira de células petaliformes que circundam a abertura das micrópilas, no centro da região micropilar (Fig. 23). O exocório é liso, com carenas que delimitam células heptagonais ou hexagonais na região lateral do ovo (Figs. 21-22). Na porção inferior do ovo, o vértice das carenas é pronunciado (Fig. 22). Na porção superior, as carenas delimitam células heptagonais que apresentam bordas expandidas (Fig. 21), sugerindo a presença de uma câmara de ar internamente ao cório (plástron *sensu* Hinton 1981). No vértice destas carenas expandidas situam-se as aerópilas (Figs. 21, 24).

Primeiro ínstar (Figs. 13, 25-40). Possui coloração geral alaranjada com pequenas manchas esbranquiçadas. Cápsula cefálica castanha. Estão presentes cerdas longas e plumosas, translúcidas e com base castanha (Fig. 13). A cápsula cefálica possui formato oval e disposição hipognata (Fig. 25). Frontoclípeo sem sutura frontoclipeal evidente. O lábro é bilobado e separado do frontoclípeo por uma região membranosa (anteclipeo). Antena inserida em uma região membranosa lisa (antacória), com três artículos projetados lateralmente: primeiro articulo curto e alargado; o segundo comprido e com sensilas e o terceiro bastante reduzido também com sensilas. Apresenta seis estemas de tamanhos aproximados. Os estemas 1-5 estão distribuídos em forma de semicírculo; o estema 6 posiciona-se posterior aos demais (Figs. 26, 31).

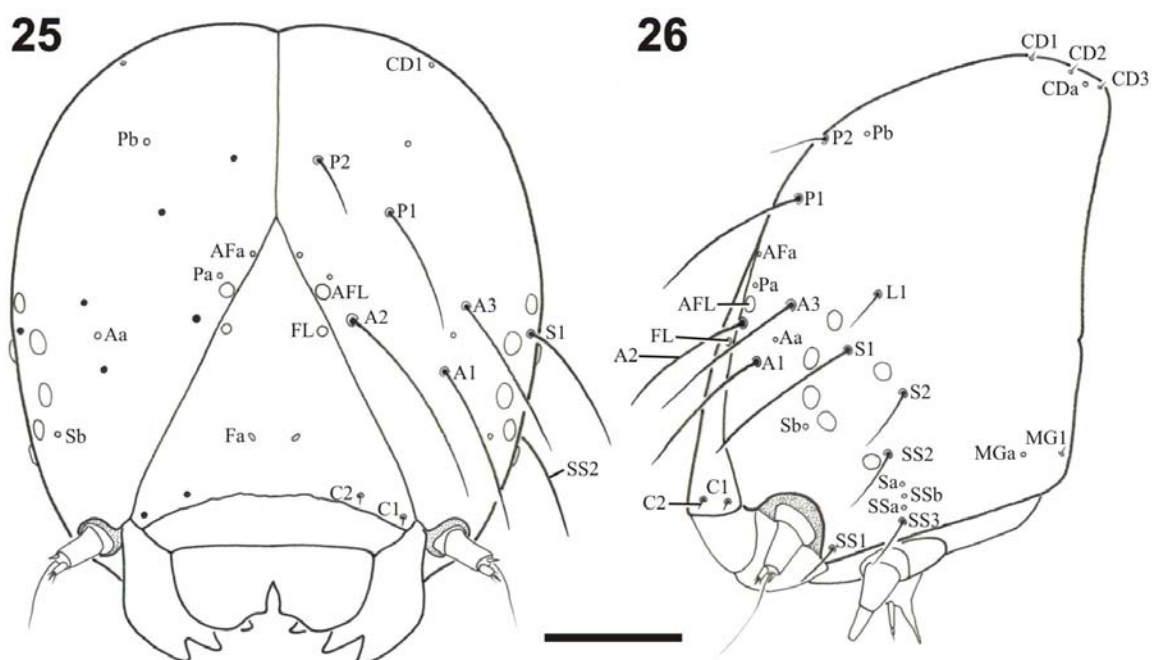


FIGURAS 20-24. Ovo de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. 20, vista lateral; 21, células superiores; 22, célula inferior; 23, região micropilar; 24, aerópila. Ac, aerópila. Barras = 200, 20, 20, 10 e 5 μm , respectivamente.

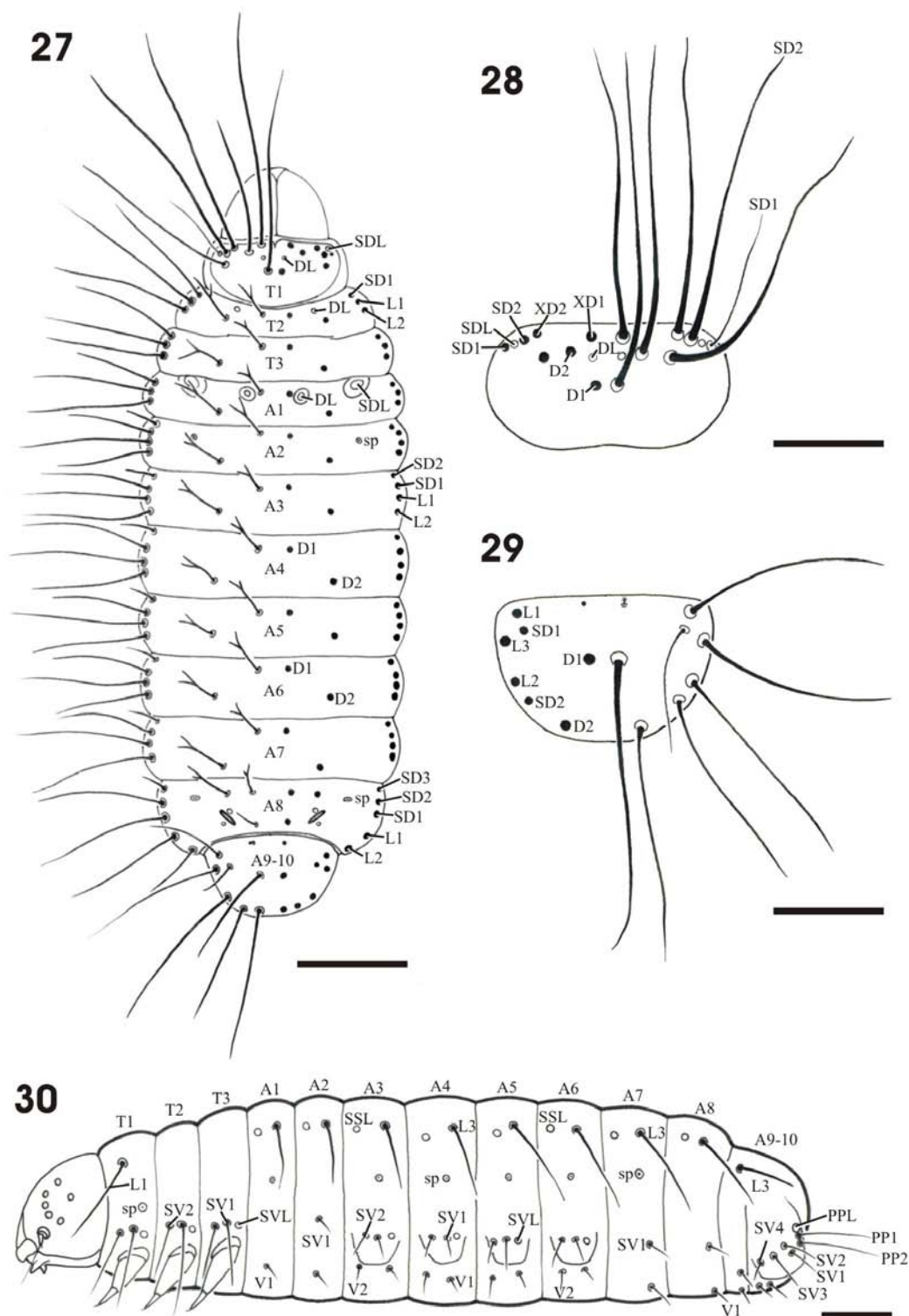
O corpo é achatado dorso-ventralmente com os segmentos bem delimitados em vista dorsal (Fig. 17). O tegumento é coberto por microtríquias que podem ser de dois tipos: curtas e rombudas na região dorsal (Fig. 35), projetadas e afiladas na região látero-ventral (Fig. 36). Os espiráculos são circulares, com o peritrema elevado e com franjas tentaculares encobrendo a abertura (Fig. 37); posicionados em linha na região lateral da larva, com exceção do 2º e 8º segmentos abdominais, onde se encontram deslocados dorsalmente. O espiráculo do protórax e do 8º segmento abdominal são ligeiramente maiores que os demais. As pernas torácicas não diferem entre si quanto ao tamanho. Nas pernas estão presentes diversas cerdas, com destaque para as tarsais (grupo Ts *sensu* Miller 1991), em número de quatro: Ts1, Ts2, Ts3 e Ts4, sendo que a cerda Ts4 apresenta formato de garra. Apesar do primeiro ínstar não ter apresentado associação com formigas, as aberturas do par de órgãos nectários tentaculares já são visíveis no 8º segmento abdominal (Fig. 38). Os larvópodos estão localizados no 3º ao 6º e 10º segmentos abdominais (Fig. 30). Os larvópodos possuem uma “almofada” (= *fleshy pad*) que apresenta a superfície estriada (Fig. 40). Os ganchos dos larvópodos estão dispostos em mesosséries interrompidas, unisseriais e uniordinais.

Quetotaxia cefálica (Figs. 25-26). A cápsula cefálica apresenta 17 pares de cerdas (incluindo microcerdas), dois pares de órgãos perfurados em forma de cúpula (PCOs) e 11 pares de poros. Estes foram agrupadas em 10 grupos de acordo com a posição:

Grupo adfrontal (AF). Estão ausentes as cerdas adfrontais AF1 e AF2 usualmente presentes em Lepidoptera (Stehr 1987). Poro AFa próximo ao ângulo superior do frontoclípeo e dorsal em relação ao órgão perfurado em forma de cúpula AFL.



FIGURAS 25-26. Quetotaxia da cápsula cefálica da larva de 1^o ínstar de *Theopel thestias*. 25, vista frontal (cerdas do lado direito omitidas); 26, vista lateral. A, grupo anterior; AF, grupo adfrontal; C, grupo clipeal; CD, grupo céfalo-dorsal; F, grupo frontal; L, grupo lateral; MG, grupo microgenal; P, grupo póstero-dorsal; S, grupo estematal; SS, grupo subestematal. Barra = 60 μ m.



FIGURAS 27-30. Quetotaxia da larva de 1° ínstar de *Theope thestias*. 27, vista dorsal (cerdas do lado direito omitidas); 28, placa protorácica (cerdas do lado esquerdo omitidas); 29, placa anal (cerdas do lado esquerdo omitidas); 30, vista látero-ventral. A, segmento abdominal; D, grupo dorsal; L, grupo lateral; PP, grupo paraproctal; SD, grupo subdorsal; sp, espiráculo; SS, grupo supraespiracular; SV, grupo subventral; T, segmento torácico; V, grupo ventral. Barras = 250, 100, 100 e 250 μ m, respectivamente.

Grupo anterior (A). Cerdas A1, A2 e A3 semelhantes no comprimento; cerda A2 próxima à área adfrontal. Poro Aa posicionado entre as cerdas A2 e A3.

Grupo clipeal (C). Cerdas C1 e C2 curtas. O poro Ca descrito para diversos Lycaenidae (Wright 1983; Ballmer & Pratt 1992; Duarte *et al.* 2005) está ausente em *T. thestias*.

Grupo céfalo-dorsal (CD *sensu* Duarte *et al.* 2005, =V *sensu* Hinton 1946, =MD *sensu* Stehr 1987). Microcerda CD1 ventral e CD2 central em relação à CD3 que é dorsal. Poro CDa posicionado entre CD2 e CD3.

Grupo frontal (F). Cerda F1 ausente. Poro Fa ventral em relação ao PCO (FL).

Grupo lateral (L). Cerda L1 próximo ao estema 1. Poro La ausente.

Grupo microgenal (MG). Microcerda MG1 posterior ao poro MGa.

Grupo póstero-dorsal (P). Cerda P1 maior e ventral em relação à P2. Poro Pa próximo a AFL. Poro Pb dorsal, formando um triângulo com as cerdas P1 e P2.

Grupo estematal (S). Cerda S1 posicionada entre os estemas 1 e 6. Cerda S2 posterior ao estema 6. Poro Sa ventral em relação ao estema 5, e poro Sb associado ao estema 4.

Grupo subestematal (SS). A cerda SS1 é mais ventral do grupo, próximo à inserção da antena. SS2 associada ao estema 5. SS3 posterior a SS1 e ventral em relação a SS2. Poro SSa ventral em relação a SSb.

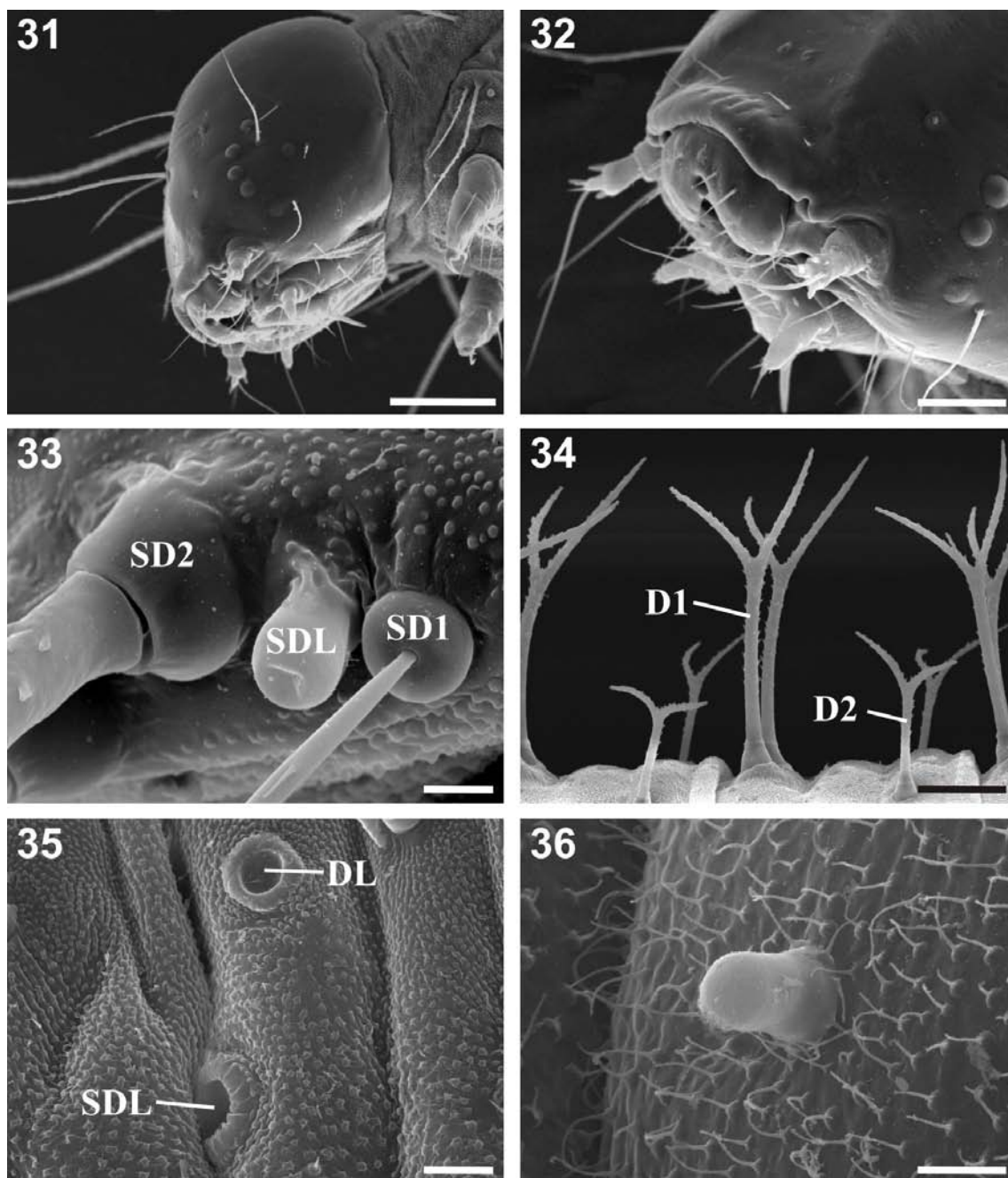
O labro apresenta seis pares de cerdas e um par de poros. As cerdas M1 e M2 estão posicionadas em linha próxima a metade do labro. M3 situa-se próximo à margem do labro, ventral em relação à M1. As cerdas LA1, LA2, LA3 encontram-se na margem do labro. O poro Ma situa-se entre as cerdas M2 e M3. Em cada mandíbula, estão presentes duas cerdas que não foram nominadas.

No corpo, estão presentes 125 pares de cerdas do tipo calaza, exceto a cerda SD1 da placa protorácica a qual encontra-se inserida em uma pinácula (Fig. 33). Apresenta 23 pares de órgãos perfurados em forma de cúpula distribuídos em cinco grupos de acordo com a posição (dorsal DL, subdorsal SDL, supraespiracular SSL, subventral SVL e paraproctal PPL). Poros e microcerdas estão presentes no corpo, mas foram omitidos na descrição da quetotaxia.

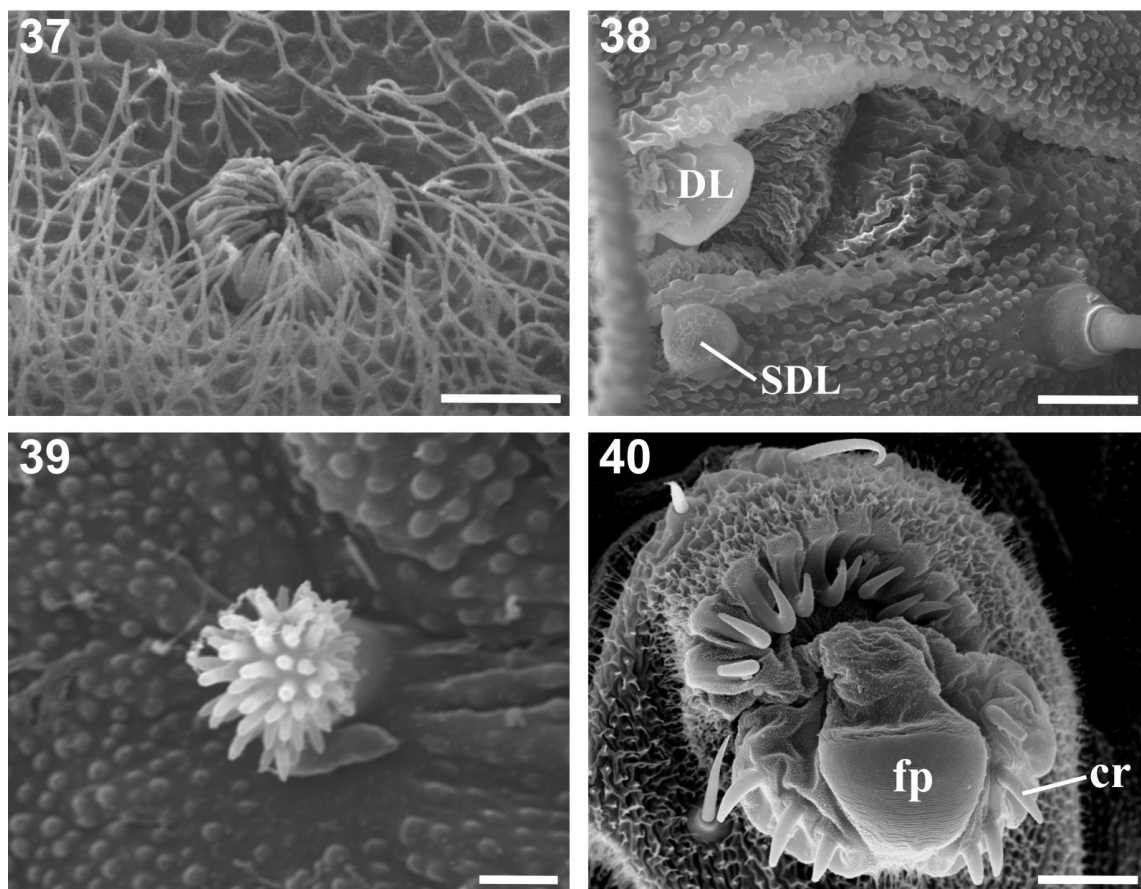
Protórax (Figs. 27-28, 30, 33). 10 pares de cerdas e três pares de PCOs. Na placa protorácica estão presentes as cerdas D1, D2, SD1, SD2, XD1, XD2 e uma cerda indeterminada (Fig. 28), bem como, dois pares de PCOs (DL e SDL). L1 dorsal posicionada entre a placa protorácica e o espiráculo protorácico. Grupo subventral com a cerda SV1 maior que SV2, localizada entre SV2 e SVL. Cerda V1 ventral em relação à perna protorácica.

Meso- e metatórax (Figs. 27, 30). Oito pares de cerdas e dois pares de PCOs. Cerdas D1 e D2 bifurcadas, sendo D1 maior e posicionada dorsalmente em relação à D2. DL entre D1 e D2. Cerdas SD1, L1 e L2 posicionadas em linha na lateral do corpo. Cerda SV1 maior que SV2, e localizada entre SV2 e SVL. Cerda V1 ventral em relação à perna protorácica. O metatórax possui oito pares de cerdas e 1 par de PCO (SVL) e difere do mesotórax pela ausência dos órgãos perfurados (DL).

1º segmento abdominal (Figs. 27, 30, 35). Sete pares de cerdas e dois pares de PCOs. Cerdas dorsais D1 e D2 bifurcadas e localizadas de forma semelhante ao meso e metatórax. Os órgãos perfurados DL e SDL (Fig. 35) possuem aproximadamente 20 µm de largura, e são muito maiores que os demais PCOs que em geral não ultrapassam 5 µm (Figs. 33, 36), além do tamanho, se diferenciam dos demais PCOs por serem côncavos. Cerdas SD1, L1 e L2 alinhadas na lateral do corpo, semelhante ao metatórax.



FIGURAS 31-36. Larva de 1º instar de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. 31, cápsula cefálica em vista látero-ventral; 32, peças bucais em vista antero-lateral; 33, detalhe da placa protorácica mostrando cerdas subdorsais (SD1 e SD2) e um órgão perfurado em forma de cúpula (SDL); 34, cerdas dorsais em vista lateral (D1 e D2); 35, órgãos perfurados em forma de cúpula do 1º segmento abdominal em vista dorsal (DL e SDL); 36, órgão perfurado em forma de cúpula (= SSL) do 4º segmento abdominal. Barras = 100, 50, 10, 50 e 5 μ m, respectivamente.



FIGURAS 37-40. Larva de 1° ínstar de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. 37, espiráculo abdominal; 38, abertura da glândula nectarífera; 39, detalhe da cerda arborescente da placa anal; 40, larvópodo do 5° segmento abdominal em vista ventral. DL, órgão perfurado em forma de cúpula dorsal; cr, ganchos do larvópodo; fp, almofada do larvópodo; SDL, órgão perfurado em forma de cúpula subdorsal. Barras = 5, 15, 5 e 20 μm , respectivamente.

Lateralmente, e ventral à L1 situam-se a cerda L3 e o PCO SSL. Grupo subventral ausente e cerda V1 ventral.

2° e 7° segmentos abdominais (Figs. 27, 30). Ambos segmentos com quetotaxia semelhante, nove pares de cerdas e um par de PCOs. Cerdas dorsais da mesma forma que no 1° segmento abdominal. SD1, L1 e L2 posicionadas em linha na lateral do corpo com a adição da cerda SD2, localizada anterior em relação à SD1. L3 e SSL semelhantes ao 1° segmento abdominal. Grupo subventral com a cerda SV1 curta e dorsal em relação à cerda V1.

3° ao 6° segmentos abdominais (Figs. 27, 30, 34, 40). 11 pares de cerdas e dois pares de PCOs por segmento. Cerdas D1 e D2 bifurcadas, sendo D1 maior e posicionada dorsalmente em relação à D2. PCOs dorsais e subdorsais ausentes. Cerdas SD1, SD2, L1 e L2 alinhadas na lateral do corpo, semelhante ao 2° segmento abdominal. L3 e SSL também semelhantes ao 2° segmento abdominal. Cerdas subventrais SV1 e SV2 inseridas na base do larvópodo, assim como o PCO SVL que se localiza posteriormente à SV1. Cerdas V1 e V2 ventrais em relação ao larvópodo.

8° segmento abdominal (Figs. 27, 30, 38). 10 pares de cerdas e três pares de PCOs. Cerdas D1 e D2 bifurcadas, sendo D1 maior e posicionada dorsalmente em relação à D2. Posterior à D1 está presente uma cerda sem bifurcação cuja homologia não foi definida (Fig. 27). PCOs DL e SDL posicionadas próximas à abertura do TNO (Fig. 38). Cerdas SD1, SD2, L1 e L2 posicionadas em linha na lateral do corpo semelhante ao 7° segmento abdominal, porém com a adição de uma cerda denominada SD3. Cerdas L3, SV1, V1 e o PCO SSL semelhantes ao segmento anterior.

9° e 10° segmentos abdominais (Figs. 27, 29, 30, 39). 19 pares de cerdas e um par de PCOs. Na placa anal, estão presentes as cerdas D1, D2, SD1, SD2, L1, L2, L3 e uma cerda arborescente curta que não foi identificada (Fig. 39). Nono segmento

abdominal com aparentemente três cerdas L3, SV1 e V1. Grupo paraproctal com duas cerdas longas, PP1 e PP2 voltadas para a porção posterior do segmento. Dorsal em relação à cerda PP1 situa-se o PCO PPL. Na base do larvópodo anal estão presentes as cerdas SV1, SV2, SV3 e SV4. Grupo ventral com as cerdas V1 e V2.

Segundo ínstar (Fig. 14). Possui coloração de fundo amarelo alaranjado com uma faixa longitudinal dorsal alaranjada. Cápsula cefálica e placa protorácica de coloração castanha. Dorsalmente, entre o oitavo e o décimo segmento abdominal localiza-se uma mancha de coloração castanho-alaranjada.

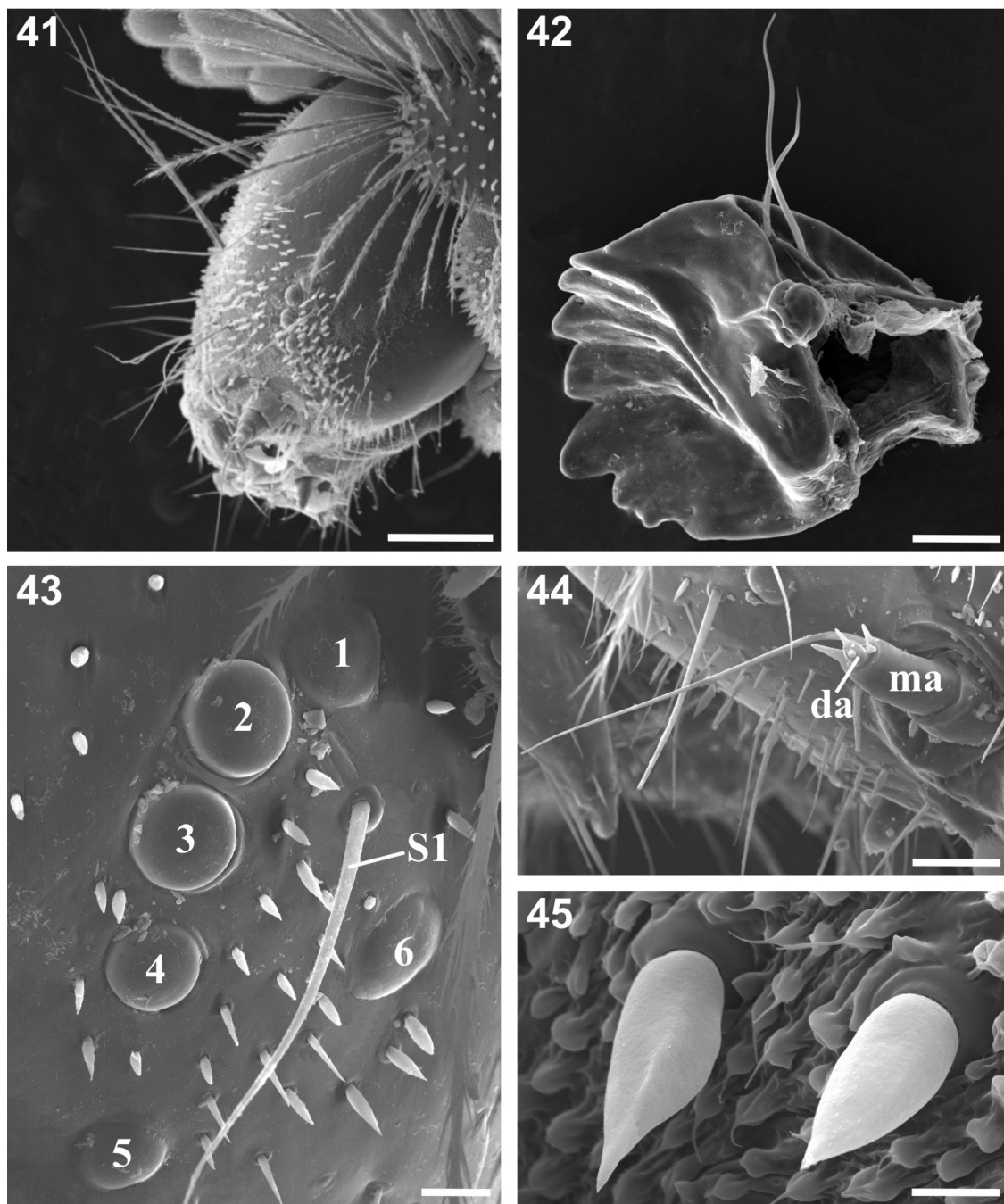
A partir do 2º ínstar, a larva passa por mudanças morfológicas relacionadas ao convívio com as formigas. Os órgãos mirmecofílicos são descritos em detalhe no Capítulo 3. Em relação ao 1º ínstar, surgem diversas cerdas secundárias que tornam a quetotaxia de interpretação complexa. Na placa protorácica encontra-se uma coroa de cerdas baloniformes de coloração castanho-escuro. Inseridas na placa protorácica e encobertas pelas cerdas baloniformes situa-se um par de papilas vibratórias (VP). Lateralmente, estão presentes diversas cerdas longas e plumosas e, no restante do tegumento, as cerdas são curtas. Os TNOs posicionados dorsalmente sobre o 8º segmento abdominal tornam-se funcionais.

Terceiro ínstar (Fig. 15). Tegumento verde claro com manchas esbranquiçadas distribuídas dorsalmente. A faixa longitudinal dorsal apresenta coloração amarelada. Lateralmente à faixa dorsal, do 1º ao 7º segmentos abdominais, estão presentes pequenos pares de manchas castanhas (= regiões corrugadas dorsais; Fig. 50). Dorsalmente, entre o mesotórax e 1º segmento abdominal, encontra-se uma mancha triangular de coloração castanha. Entre o 8º e o 10º segmento abdominal, em vista

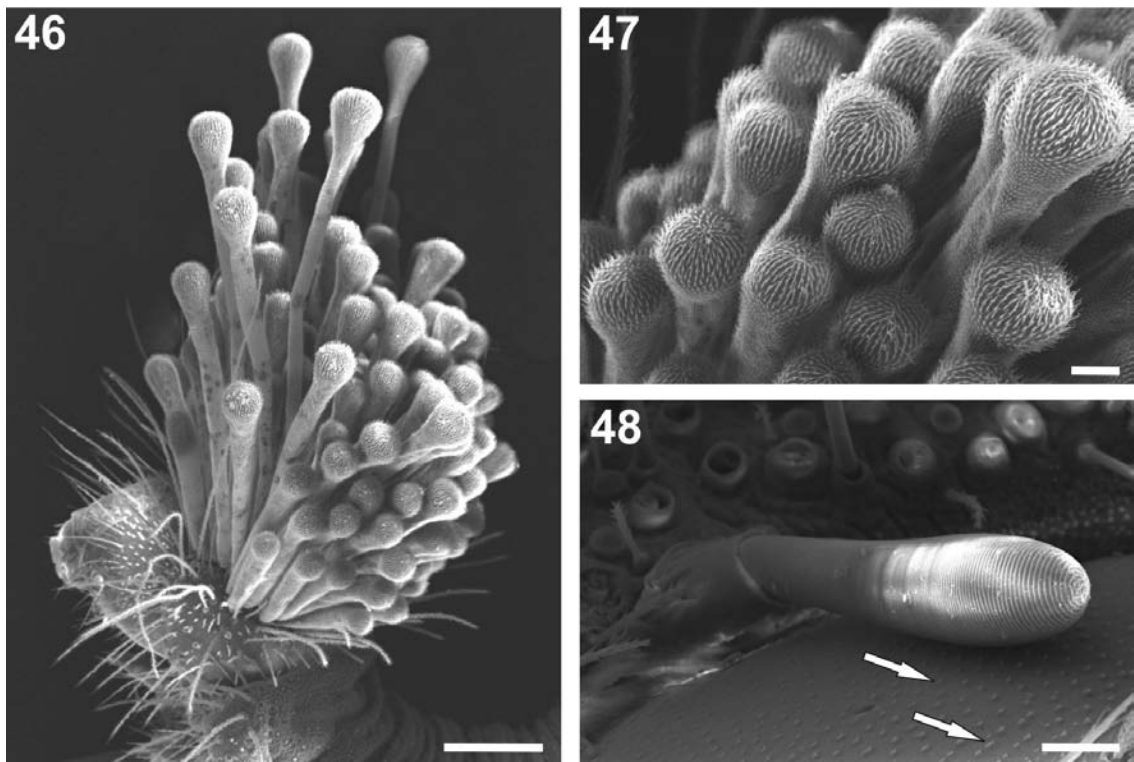
dorsal, está presente uma mancha castanha que envolve os TNOs. Os tentáculos dos TNOs quando evertidos apresentam coloração branca translúcida. A cápsula cefálica é castanho-escuro, estando encoberta dorsalmente pelas cerdas baloniformes. A placa protorácica apresenta coloração castanha escura. As cerdas baloniformes permanecem com coloração castanho-escuro similar ao 2º ínstar. Demais cerdas de coloração branca translúcida.

Quarto ínstar (Figs. 9, 16). Apresenta coloração verde entremeada por manchas esbranquiçadas distribuídas dorsalmente. A faixa longitudinal dorsal adquire coloração amarela pálido. Os pares de manchas dorsais tornam-se enegrecidos. A mancha triangular dorsal entre o mesotórax e 1º segmento abdominal torna-se mais evidente que no ínstar anterior, com coloração castanho escuro. A mancha que envolve os TNOs possui coloração castanho-escuro. Os tentáculos do TNOs permanecem com coloração branco-translúcida. A cápsula cefálica e a placa protorácica apresentam coloração castanho-escuro. As cerdas baloniformes encobrem a cápsula cefálica e permanecem com coloração castanho escuro similar aos ínstars anteriores.

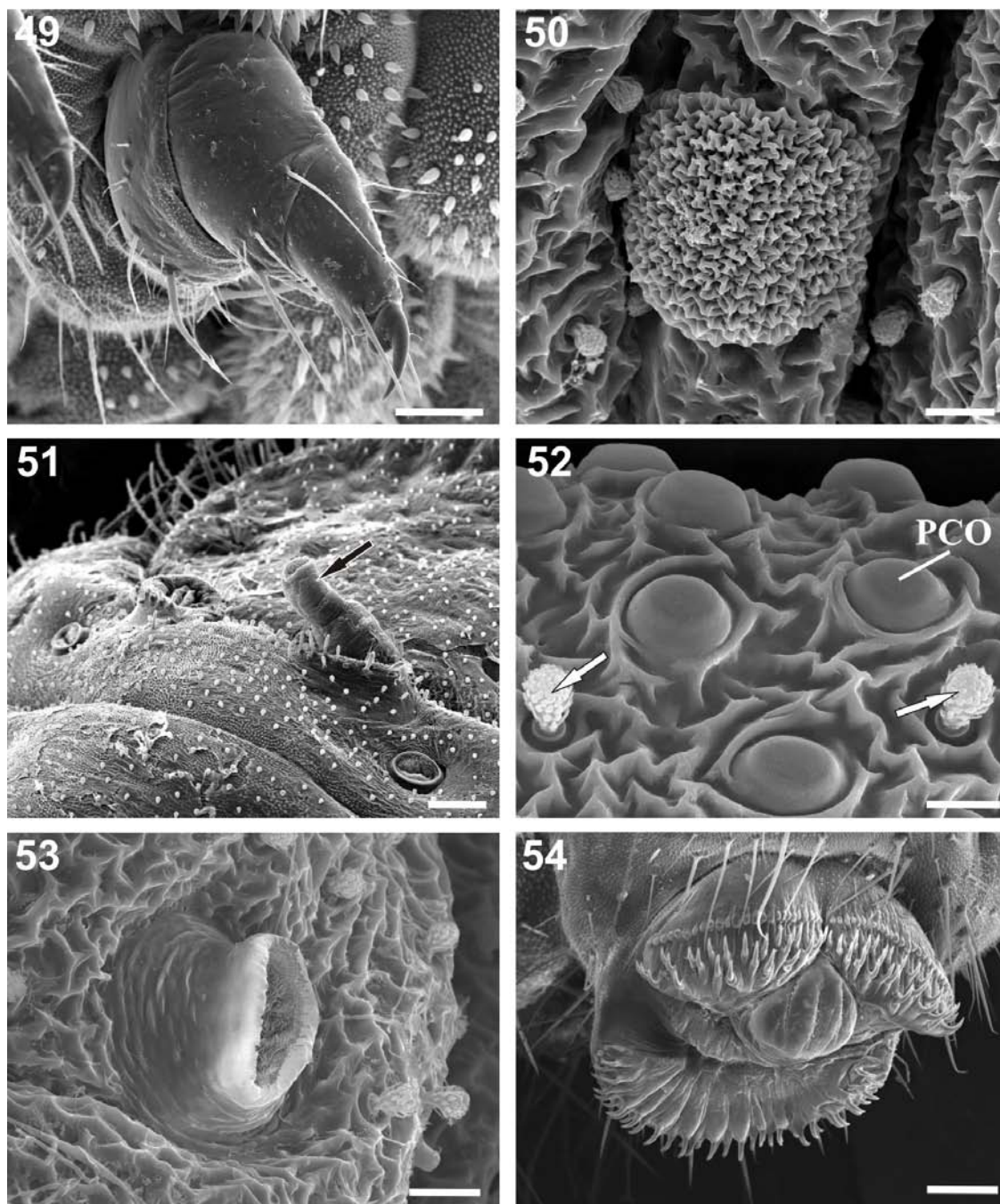
Quinto ínstar (Fig. 10-11, 17, 41-54). Coloração similar ao 4º ínstar, com exceção das cerdas baloniformes que adquirem coloração castanho-clara. A cápsula cefálica é arredondada e hipognata, coberta dorsalmente pelas cerdas baloniformes. Possui superfície lisa com pequenas elevações espiniformes na região céfalo-dorsal. A sutura adfrontal separa o frontoclípeo da área adfrontal que apresenta coloração esbranquiçada. A mandíbula, assim como no 1º ínstar, apresenta duas cerdas longas (Fig. 42). Algumas cerdas primárias da cápsula cefálica são distinguíveis por apresentarem tamanho maior (e.g. cerda S1, Fig. 43). Demais cerdas secundárias da cápsula cefálica são curtas



FIGURAS 41-45. Larva de 5^o ínstar de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. 41, cápsula cefálica em vista lateral; 42, mandíbula em vista posterior; 43, região estematal em vista lateral (estemas numerados de 1 a 6); 44, antena; 45, detalhe das cerdas gotiformes. da, artículo distal; ma, artículo mediano; S1, cerda estematal. Barras = 500, 100, 25, 70 e 10 μ m, respectivamente.



FIGURAS 46-48. Larva de 5^o ínstar de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. 46, placa protorácica mostrando cerdas baloniformes; 47, detalhe das cerdas baloniformes; 48, papila vibratória - note pequenas elevações na superfície da cápsula cefálica (setas). Barras = 500, 100 e 50 μm , respectivamente.



FIGURAS 49-54. Larva de 5° ínstar de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. 49, perna metatorácica em vista lateral; 50, detalhe das regiões corrugadas dorsais; 51, órgão nectário tentacular, com tentáculo esquerdo evertido (seta); 52, agrupamentos de órgãos perfurados em forma de cúpula (PCO) e cerdas arborescentes (setas); 53, espiráculo abdominal; 54, larvópodo do 3° segmento abdominal. Barras = 100, 25, 200, 20, 20 e 100 μm , respectivamente.

e do tipo dendrítica ou gotiforme (Fig. 43, 45). Estão presentes PCOs próximos ao frontoclípeo. A antena é voltada lateralmente com três artículos: proximal alargado, mediano comprido com sensilas (Fig. 44), distal reduzido com sensilas (Fig. 44). Estemas sem facetamento na superfície da lente (Fig. 43), sendo do 1 ao 5, distribuídos em forma de semicírculo; sexto estema levemente maior, posicionado posteriormente aos demais estemas (Fig. 43).

Corpo achatado dorso-ventralmente como nos demais ínstaes. Placa protorácica com um par de papilas vibratórias (VP) que apresentam a superfície espiralada (Fig. 47). O contato das VP com as elevações espiniformes da região céfalo-dorsal é considerado o mecanismo responsável pela comunicação vibracional entre larvas e formigas em Nymphidiini (DeVries 1990, 1991b). As cerdas baloniformes apresentam a superfície coberta por pequenas projeções afiladas (Figs. 46, 47). No corpo, lateralmente e próximo das cerdas baloniformes, estão presentes cerdas longas e plumosas. Na região ventral, próximo das pernas torácicas e dos larvópodos, estão presentes cerdas gotiformes (Fig. 49). Dorso-lateralmente, encontram-se cerdas do tipo arborescente (= *wedge-shaped setae*, *sensu* Hall *et al.* 2004) (Fig. 52). Os órgãos perfurados estão presentes em agrupamentos dorsais no mesotórax (Fig. 52). PCOs adicionais são encontrados, em grande quantidade, próximos às cerdas baloniformes e à abertura dos TNOs. Posicionados na superfície dorsal do tegumento, do 1° ao 7° segmentos abdominais, estão presentes pares de regiões corrugadas elevadas e circulares (Fig. 50). O tegumento é corrugado e coberto por microtríquias. Na superfície dorsal, as microtríquias são menos pronunciadas que na superfície ventral (Fig. 45).

Os espiráculos estão posicionados na região lateral da larva, com exceção no 2° e 8° segmentos abdominais, onde se encontram deslocados para a região dorsal. Os espiráculos são elípticos, sendo o peritrema do 2° segmento abdominal mais elevado

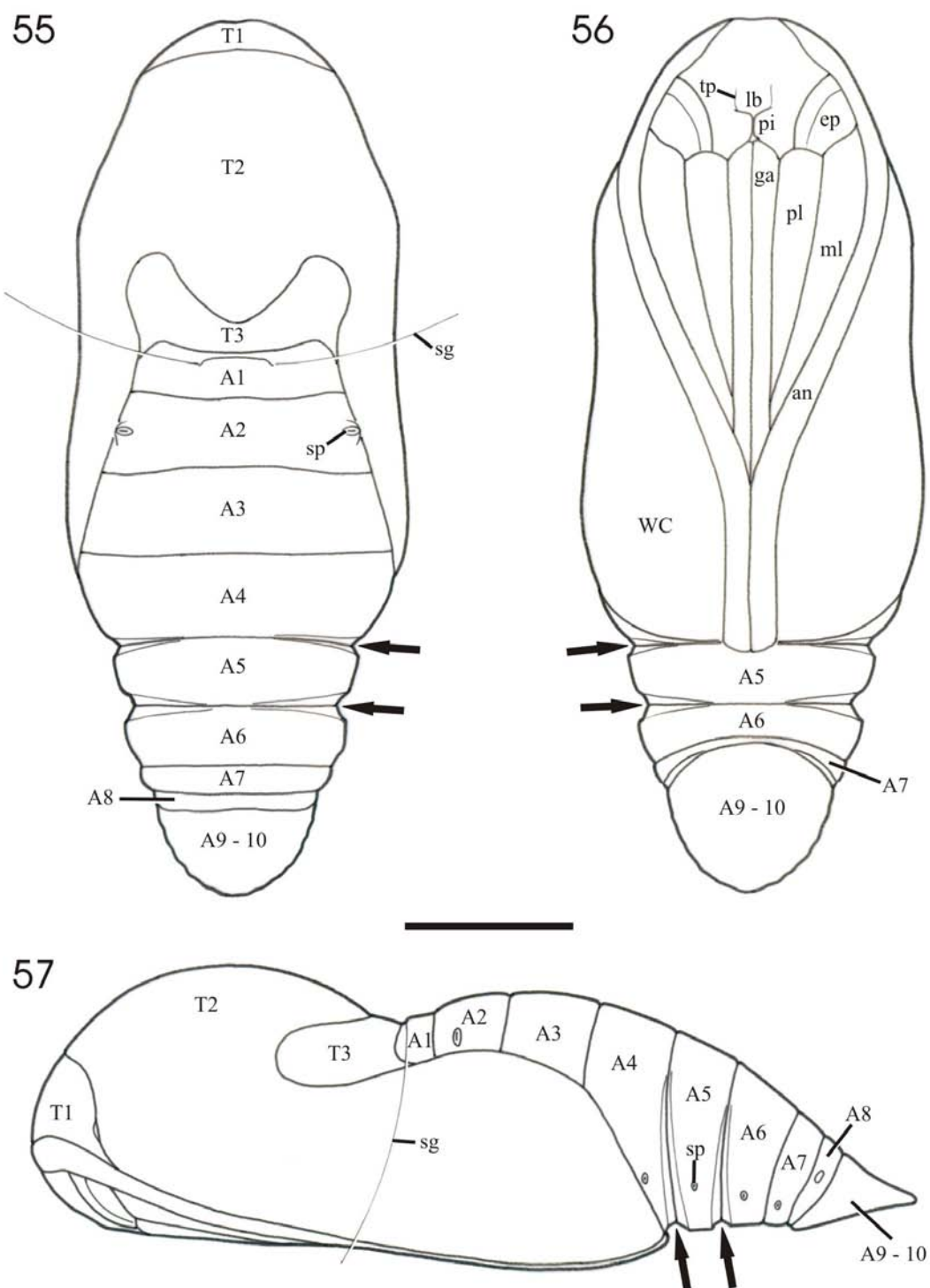
que os demais (Fig. 53). Os espiráculos do protórax e do 8° segmento abdominal são levemente maiores.

As pernas torácicas não diferem entre si quanto ao tamanho (Fig. 49). No 8° segmento abdominal, esta presente a abertura do par de glândulas nectaríferas (TNOs) (Fig. 51). O posicionamento dos larvópodos permanece o mesmo dos demais ínstares. Os larvópodos apresentam uma “almofada” que interrompe as mesosséries, sendo os ganchos distribuídos numa serie triordinal (Fig. 54).

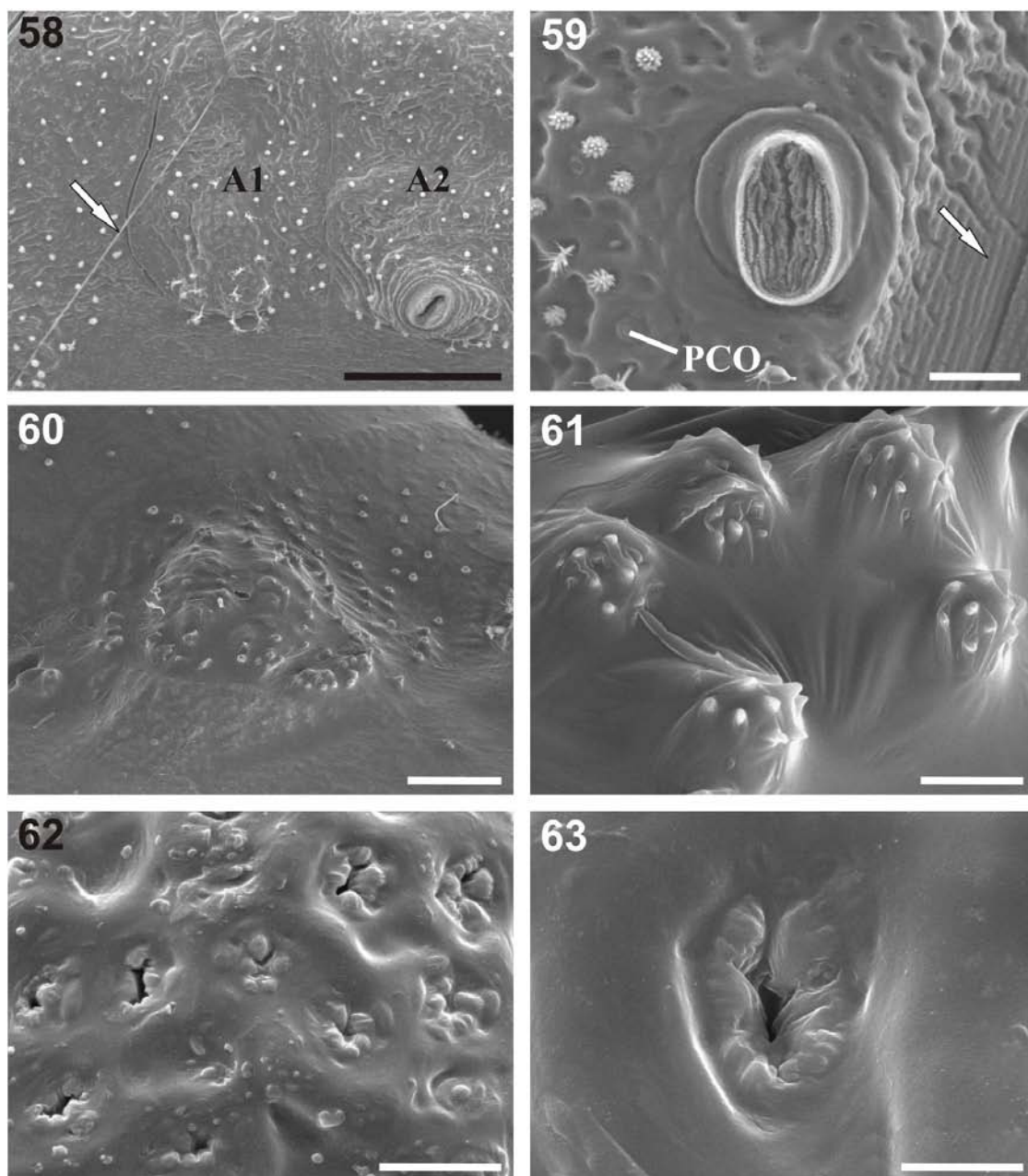
Pupa (Figs. 10, 18, 55-65). Coloração verde clara com áreas castanhas situadas nas regiões supraespiracular e dorsal dos segmentos abdominais (Figs. 10, 18). Nos segmentos torácicos, estão presentes manchas castanhas que correspondem aos tubérculos laterais.

A cabeça possui os apêndices fusionados ventralmente. O vértice é visível em vista anterior, localizando-se entre as antenas, protórax e a sutura epicranial. As antenas se estendem lateralmente ao longo da asa e perna mesotorácica (Fig. 56). A região ocular tem duas áreas distintas: uma áspera, a outra lisa em forma de meia lua. As fóveas tentoriais delimitam uma área que compreende o frontoclípeo, epifaringe e labro, sem suturas evidentes separando-as. Posterior ao labro, encontram-se os pilíferos (Fig. 56). As gáleas estão posicionadas posteriormente em relação aos pilíferos e ocupam cerca de 1/3 do comprimento da pupa.

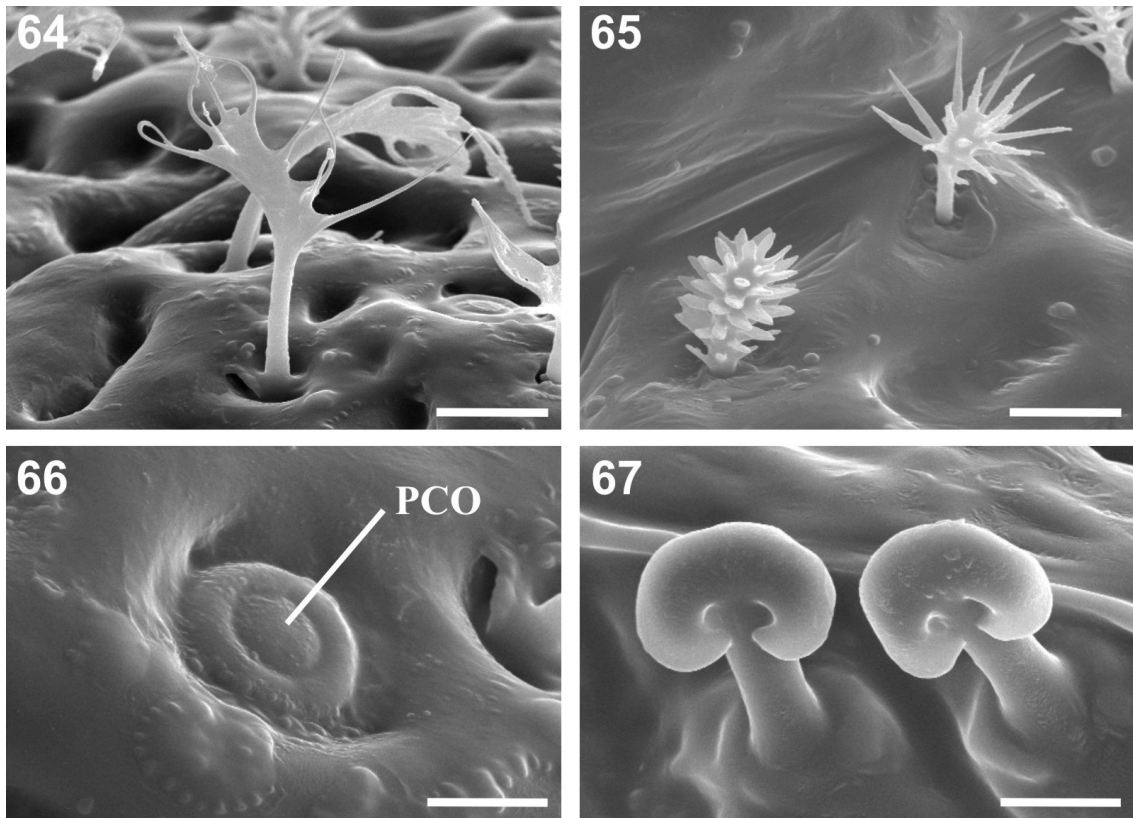
A perna protorácica é um pouco mais curta que a mesotorácica, e a perna metatorácica está encoberta pela asa. A pupa apresenta um fio transversal de sustentação (= *silk gardle*) que passa sobre o primeiro segmento abdominal (Figs. 55, 57-58). O tegumento é liso e sem cerdas na região ventral e nas asas. Na região dorsal,



FIGURAS 55-57. Pupa de *Theope thestias*. 55, vista dorsal; 56, vista ventral; 57, vista lateral, setas indicam prováveis regiões estridulatórias. A, segmento abdominal; an, antena; ep, região ocular; ga, gálea; lb, labro; ml, perna mesotorácica; pi, pilífero; pl, perna protorácica; sg, fio de sustentação da pupa; sp, espiráculo; T, segmento torácico; tp, fóveas do tentório; WC, teca alar. Barra = 1 mm.



FIGURAS 58-63. Pupa de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. 58, vista lateral do 1° e 2° segmentos abdominais com o fio de sustentação da pupa (seta); 59, espiráculo do 5° segmento abdominal, com provável região estridulatória (seta); 60, região glandular do tubérculo metatorácico; 61, detalhe da região glandular; 62, região glandular do tubérculo do 1° segmento abdominal; 63, detalhe da região glandular. A, segmento abdominal; PCO, órgão perfurado em forma de cúpula. Barras = 500, 100, 250, 20, 50 e 20 μm , respectivamente.



FIGURAS 64-67. Pupa de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. 64, detalhe de uma cerda dendrítica achatada longitudinalmente; 65, detalhe de dois tipos de cerdas dendríticas; 66, órgãos perfurados em forma de cúpula (PCO); 67, ganchos do cremáster. Barras = 20, 20, 15 e 18 μm , respectivamente.

se apresenta corrugado. Estão presentes tubérculos pouco pronunciados na região supraespiracular e lateral. No metatórax, o tubérculo lateral possui a superfície com pequenas papilas (Figs. 60-61). No 1º segmento abdominal, estão presentes um par de tubérculos que apresentam diversos orifícios irregulares (Figs. 62-63). No tegumento, geralmente associados aos tubérculos, foram observados órgãos perfurados em forma de cúpula (PCOs, Figs. 59, 66). As cerdas dendríticas estão distribuídas dorsalmente pelo tegumento, podendo apresentar ramificações curtas ou longas (Fig. 65). Cerdas dendríticas achatadas longitudinalmente foram encontradas sempre associadas aos tubérculos (Fig. 64).

Possui 10 segmentos abdominais. Entre o 4º, 5º e 6º segmentos abdominais encontram-se prováveis regiões estridulatórias (Figs. 55-57, 59) (Downey & Allyn, 1973). O 9º e o 10º segmentos estão fusionados formando o cremáster. O cremáster é subtriangular achatado ventralmente com ganchos curtos com extremidade bifurcada (Fig. 67), similar ao descrito para outros Riodinidae (Dias 1980). A abertura do espiráculo mesotorácico encontra-se entre o protórax e mesotórax com formato de fenda. Os espiráculos abdominais apresentam uma disposição semelhante ao observado para as larvas, sendo os do 2º e 8º segmentos abdominais posicionados dorsalmente em relação aos demais espiráculos (Fig. 57). Os demais espiráculos são elípticos (Fig. 59), sendo encobertos pela asa no 3º segmento abdominal.

Discussão

Plantas hospedeiras e mirmecofilia

Como citado por Hall (1999), a partir dos registros de coleção, *T. thestias* é encontrada em diversos tipos de ambientes. A ampla distribuição se deve, provavelmente, a plasticidade na utilização de plantas hospedeiras, variando localmente, conforme

disponibilidade das espécies de Lauraceae. Os registros obtidos de plantas hospedeiras para *T. thestias* sugerem que as larvas são oligófagas em *Nectandra* e *Ocotea*. O tipo de alimentação da larva mostra uma especialização tecidual quanto à epiderme adaxial e ao parênquima paliçádico. Com exceção de um registro fotográfico de uma larva não identificada sobre *Persea* Miller (Hall *et al.* 2004), não existem registros publicados de riodinídeos utilizando Lauraceae. A larva que Hall *et al.* (2004) não identificaram possui várias características, tais como, padrão de coloração, presença de TNOs e tipo de alimentação, que sugerem que ela pertença a *Theope*. Segundo Fiedler (1991), registros de lauráceas como planta hospedeira também são raros em Lycaenidae e podem estar associados a mirmecoxenia secundária.

A oligofagia em *T. thestias*, caso confirmada, contrastará com os demais registros de plantas hospedeiras disponíveis para o gênero *Theope*, os quais apontam uma grande variedade de famílias de plantas hospedeiras utilizadas por estas borboletas (DeVries *et al.* 1994, Hall 1999). Em Riodinidae, a polifagia tem sido associada à mirmecofilia obrigatória. Nesse caso, a seleção da planta hospedeira poderia estar relacionada a estímulos químicos das formigas associadas (DeVries *et al.* 1994, DeVries 1997, Hall & Harvey 2001, DeVries *et al.* 2004, L. Kaminski dados inéditos). Esse padrão de polifagia associada à mirmecofilia obrigatória tem sido sugerido para algumas espécies de *Theope* (DeVries *et al.* 1994, Hall 1999), mas não se aplica para *T. thestias*.

Com exceção de *Theope guillaumei cecropia* DeVries & Hall cujas larvas são citadas interagindo com formigas *Solenopsis* Westwood (Myrmicinae), as informações existentes para outras espécies de *Theope* apontam para uma mirmecofilia obrigatória com formigas da subfamília Dolichoderinae, principalmente do gênero *Azteca* Forel (DeVries *et al.* 1994, DeVries 1997, DeVries & Poinar 1997, Hall 1999). No presente

trabalho, todas as formigas atendentes pertencem ao gênero *Camponotus*. Na revisão feita por Fiedler (2001), *Camponotus* é o gênero mais importante de formigas atendentes das larvas de Lycaenidae, mas ainda não havia sido registrada para *Theope*. Segundo a classificação proposta por Eastwood & Fraser (1999), para os diferentes graus de mirmecofilia em Lycaenidae, *T. thestias* apresenta um grau de associação com as formigas, entre 2 e 4, considerado moderado pelas larvas poderem ser encontradas sem formigas atendentes, mas obrigatória quanto ao gênero de formiga atendente. As Lauraceae dos gêneros *Nectandra* e *Ocotea*, em geral, não apresentam estruturas atrativas às formigas, como por exemplo, nectários extraflorais. Esse fator poderia explicar o fato de as larvas serem encontradas comumente sem formigas atendentes.

O entendimento do padrão de utilização das plantas hospedeiras pelos riodinídeos mirmecófilos requer uma análise conjunta, tanto da planta hospedeira quanto das formigas atendentes (DeVries *et al.* 1994). A possibilidade de haver um grupo de espécies de *Theope* especialistas em Lauraceae e com mirmecofilia facultativa levanta a questão se o mutualismo facultativo é uma condição plesiomórfica ou apomórfica nestas espécies. Nesse sentido, a adição de informações sobre a biologia de outras espécies de *Theope*, analisadas de forma comparativa com auxílio de estudos filogenéticos, pode ser bastante útil para uma melhor compreensão da evolução da mirmecofilia (*e.g.* Rand *et al.* 2000, Als *et al.* 2004, Megens *et al.* 2005).

Morfologia

A região micropilar do ovo de *T. thestias* posicionado no pólo anterior segue o padrão descrito para outras espécies de Riodinidae (Downey & Allyn 1980). Quanto ao formato, cilíndrico achatado com a região micropilar plana é semelhante ao descrito para outras espécies de *Theope* e para outros gêneros de Nymphidiini, como

Hallonympha Penz & DeVries, *Nymphidium* Fabricius e *Menander* Hemming (DeVries 1997, L. Kaminski dados inéditos). A morfologia das carenas e o posicionamento das aerópilas em *T. thestias* diferem do descrito para *Theope virgilius* Fabricius, que apresenta as carenas alargadas e aerópilas tanto na porção inferior quanto na superior (DeVries 1997).

O estudo da quetotaxia é considerado uma ferramenta importante em estudos sistemáticos e filogenéticos em Lepidoptera (Motta 2003). No entanto, tem sido negligenciado na maioria dos trabalhos de descrição dos estágios imaturos de Riodinidae (DeVries 1997). Inexistem trabalhos publicados com quetotaxia detalhada para a família Riodinidae, sendo o presente estudo a primeira descrição deste tipo. A ausência de trabalhos que sirvam para comparação dificultou o estabelecimento de homologias, de tal forma que a quetotaxia proposta para *T. thestias* é provisória, principalmente para alguns grupos de cerdas como o lateral e subdorsal. Algumas comparações iniciais com outros gêneros como *Euselasia* Hübner, *Caria* Hübner e *Synargis* Hübner, mostraram que o estudo da quetotaxia em Riodinidae pode ser bastante promissor, sobretudo quanto à presença, ausência e posicionamento dos PCOs (L. Kaminski dados inéditos).

As larvas de último ínstar de *T. thestias* diferem das outras espécies do gênero, pela coroa de cerdas baloniformes encobrendo completamente a cápsula cefálica, corpo achatado dorso-ventralmente e faixa longitudinal dorsal. *T. guillaumei cecropia* DeVries & Hall, outra espécie do grupo *thestias* cujos estágios imaturos são conhecidos, possui o formato do corpo e faixa longitudinal dorsal semelhante à *T. thestias* (DeVries & Hall 1996, DeVries 1997). A presença de uma mancha de coloração esbranquiçada em forma de Y correspondente à área adfrontal nos ínstares finais parece ser uma característica compartilhada com outras larvas de *Theope* (ver Guppy 1904, DeVries

1997). As cerdas baloniformes de *T. thestias* apresentam a superfície com pequenas projeções afiladas. Tal padrão é diferente do descrito para outras espécies de *Theope*, as quais apresentam projeções em forma de escamas (DeVries, 1997; Hall *et al.* 2004), e semelhante ao descrito para *Calydna* Doubleday (Hall *et al.* 2004).

O posicionamento do espiráculo do 1º segmento abdominal ventral em relação ao do 2º, segue como uma característica diagnóstica entre as larvas de Riodinidae e de Lycaenidae (Harvey 1987b, Stehr & Martinat 1987). A presença de mais de duas cerdas mandibulares é outra característica utilizada para diferenciar Riodinidae (Harvey 1987a, b, Stehr & Martinat 1987). No entanto, a ampliação do número de espécies analisadas tem mostrado a invalidade desta característica como diagnóstica. As larvas de *T. thestias* apresentam apenas duas cerdas mandibulares. Ballmer & Pratt (1988) e Duarte *et al.* (2005) descreveram larvas de Lycaenidae com mais de duas cerdas mandibulares.

Além de serem escassas, as descrições de pupas de *Theope* apresentam poucos detalhes para comparações. No geral, a pupa de *T. thestias* parece ser mais robusta e compacta que as demais pertencentes a *Theope* (ver figuras em DeVries 1997, Janzen & Hallwachs 2005). O espiráculo do 3º segmento abdominal encoberto pela asa tem sido observado para outros Riodininae (Dias 1980, Harvey 1987), mas difere do ilustrado para *Theope bacenis* Schaus por Hall (1999), que não se apresenta encoberto.

A pupa de *T. thestias*, assim como de outros Riodinidae, apresenta diversas estruturas que podem estar envolvidas na interação com formigas. Os tubérculos laterais do metatórax e do 1º segmento abdominal provavelmente são homólogos às glândulas metatorácicas descritas por Ross (1964) e aos agrupamentos de PCOs na região dorsal dos segmentos torácicos observados por Hall & Harvey (2001). As regiões estridulatórias descritas para *T. thestias* também estão presentes em outras espécies do

gênero, mas ainda não existem evidências de que sejam funcionais em Riodinidae (DeVries 1991b).

Agradecimentos

Os autores agradecem a Alexandra Bächtold (UNIVILLE), Gislene Gonçalves (UFRGS) e Sebastian Sendoya (UNICAMP) pelo apoio logístico e auxílio na realização das coletas em Joinville, Terra de Areia e Itirapina, respectivamente. Em especial, ao Jorge Bizarro (UFPR) pelo auxílio nas coletas e compartilhamento de informações referentes à biologia de *T. thestias* no estado do Paraná. À Rosy Isaias (UFMG) pela execução e interpretação dos cortes histológicos da folha. Ao Marcelo Duarte (MZUSP), pelo envio de material bibliográfico e discussões a respeito da quetotaxia. À Carla Penz (University of New Orleans) e Konrad Fiedler (Universität Wien), pelo incentivo e envio de material bibliográfico. À Elena Diehl (UNISINOS) pela identificação das formigas. Ao José F. Amato e Cristiano F. Schwertner (UFRGS), pelo apoio na realização das fotos digitais. Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS, especialmente à Moema Vieira e Mirian dos Santos, pelo auxílio na preparação das amostras. A CAPES pela concessão de bolsa de mestrado a L.A. Kaminski. Este trabalho foi parcialmente financiado pelo CNPq (Proc. n° 478787/2001-4).

Referências

- Als, T.D.; Vila, R.; Kandul, N.P.; Nash, D.R.; Yen, S.-H.; Hsu, Y.-F.; Mignault, A.A.; Boomsma, J.J. & Pierce, N.E. (2004) The evolution of alternative parasitic life histories in large blue butterflies. *Nature*, 432, 386-390.
- Ballmer, G.R. & Pratt, G.F. (1988) A survey of the last instar larvae of the Lycaenidae of California. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 27(1), 1–81.

- Ballmer, G.R. & Pratt, G.F. (1992) *Loranthomitoura*, a new genus of Eumaeini (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae). *Tropical Lepidoptera*, 3, 37-46.
- Biezanko, C.M.; Mielke, O.H.H. & Wedderhoff, A. (1978) Contribuição ao estudo faunístico dos Riodinidae do Rio Grande do Sul, Brasil (Lepidoptera). *Acta Biológica Paranaense*, 7, 7-22.
- Bourquin, F. (1953) Notas sobre la metamórfosis de *Hamearis susanae* Orfila, 1953 com oruga mirmecófila (Lep. Riodin.). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 16, 83-87.
- Brévignon, C. & Gallard, J.-Y. (1999) Inventaire des Riodinidae de Guyane Française VI - Riodinidae: Nymphidiini, Stalachtini. Description de nouveaux taxa - Deuxième partie- (Lepidoptera). *Lambillionea*, 99, 91-100.
- Brown, K.S. (1992) Borboletas da Serra do Japí: diversidade, habitats, recursos alimentares e variação temporal. In: Morellato, L.P.C. (Ed.), *História natural da Serra do Japí: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil*. Editora da UNICAMP/FAPESP, Campinas, pp. 142-187.
- Brown, K.S. (1993) Neotropical Lycaenidae: an overview. *Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission*, 8, 45-61.
- Bruch, C. (1926) Orugas mirmecofilas de *Hamearis epulus signatus* – Stich. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 1, 2-9.
- Callaghan, C.J. (1986) Notes on the biology of *Stalachtis susanna* (Lycaenidae: Riodininae) with a discussion of riodinine larval strategies. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 24, 258-263.
- Callaghan, C.J. (2003) The biology of *Melanis leucophlegma* (Stichel, 1910) (Riodinidae) in western Peru. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 57, 193-196.

- Callaghan, C.J. & Lamas G. (2004) Riodinidae. *In*: Lamas, G. (ed.), *Checklist: Part 4A. Hesperioidea - Papilionoidea*. *In*: Heppner, J.B. (ed.), *Atlas of Neotropical Lepidoptera. Volume 5A*. Association for Tropical Lepidoptera, Scientific Publishers, Gainesville, pp. 141-170.
- Campbell, D.L.; Brower, A.V.Z. & Pierce, N.E. (2000) Molecular evolution of the wingless gene and its implications for the phylogenetic placement of the butterfly family Riodinidae (Lepidoptera: Papilionoidea). *Molecular Biology and Evolution*, 17, 684-696.
- Campbell, D.L. & Pierce, N.E. (2003) Phylogenetic relationships of the Riodinidae: implications for the evolution of ant association. *In*: Boggs, C.L.; Watt, W.B. & Ehrlich, P.R. (Eds.), *Butterflies: ecology and evolution taking flight*. University of Chicago, Chicago, pp. 395-408.
- Cock, M.J.W. & Hall, J.P.W. (2004) Immature stages of *Calydna venusta morio* (Riodinidae) from Trinidad. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 58, 51-53.
- d'Abrera, B. (1994) *Butterflies of the Neotropical region, part VI, Riodinidae*. Hill House, Victoria, pp. 880-1096.
- Dell'Erba, R.; Kaminski, L.A. & Moreira, G.R.P. (2005) O estágio de ovo dos Heliconiini (Lepidoptera, Nymphalidae) do Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, 95, 29-46.
- DeVries, P.J. (1988a) The use of epiphylls as larval hostplants by the neotropical riodinid butterfly, *Sarota gyas*. *Journal of Natural History*, 22, 1447-1450.
- DeVries, P.J. (1988b) The larval ant-organs of *Thisbe irenea* (Lepidoptera: Riodinidae) and their effects upon attending ants. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 94, 379-393.

- DeVries, P.J. (1990) Enhancement of symbioses between butterfly caterpillars and ants by vibrational communication. *Science*, 248, 1104-1106.
- DeVries, P.J. (1991a) Evolutionary and ecological patterns in myrmecophilous riodinid butterflies. In: Huxley, C.R. & Cutler, D.F. (Eds.), *Ant-plant interactions*. Oxford University, Oxford, pp. 143-156.
- DeVries, P.J. (1991b) Call production by myrmecophilous riodinid and lycaenid butterfly caterpillars (Lepidoptera): morphological, acoustical, functional, and evolutionary patterns. *American Museum Novitates*, 3025, 1-23.
- DeVries, P.J. (1997) *The butterflies of Costa Rica and their natural history II: Riodinidae*. Princeton University, Princeton, xxv + 228p.
- DeVries, P.J. & Baker, I. (1989) Butterfly exploitation of an ant-plant mutualism: adding insult to herbivory. *Journal of the New York Entomological Society*, 97, 332-340.
- DeVries, P.J.; Chacon, I.A. & Murray, D. (1994) Toward a better understanding of host use biodiversity in riodinid butterflies (Lepidoptera). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 31, 103-126.
- DeVries, P.J. & Hall, J.P.W. (1996) Two new species of Costa Rican butterflies (Lepidoptera: Riodinidae). *Tropical Lepidoptera*, 7, 87-90.
- DeVries, P.J. & Poinar, G.O. (1997) Ancient butterfly - ant symbiosis: direct evidence from Dominican amber. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 264, 1137-1140.
- DeVries, P.J. & Penz, C.M. (2000) Entomophagy, behavior, and elongated thoracic legs in the myrmecophilous neotropical butterfly *Alesa amesis* (Riodinidae). *Biotropica*, 32, 712-721.

- DeVries, P.J.; Cabral, B.C. & Penz, C.M. (2004) The early stages of *Apodemia paucipuncta* (Riodinidae): myrmecophily, a new ant-organ and consequences for classification. *Milwaukee Public Museum Contributions to Biology and Geology*, 102, 1-13.
- Dias, M.M. (1980) Morfologia da pupa de alguns Riodinidae brasileiros (Lepidoptera). *Revista Brasileira de Entomologia*, 24, 181-191.
- Downey, J.C. & Allyn, A.C. (1973) Butterfly ultrastructure: 1. Sound production and associated abdominal structures in pupae of Lycaenidae and Riodinidae. *Bulletin of the Allyn Museum*, 14, 1-48.
- Downey, J.C. & Allyn, A.C. (1980) Eggs of Riodinidae. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 34, 133-145.
- Downey, J.C. & Allyn, A.C. (1981) Chorionic sculpturing in eggs of Lycaenidae. Part I. *Bulletin of the Allyn Museum*, 61, 1-29.
- Duarte, M.; Robbins, R.K. & Mielke, O.H.H. (2005) Immature stages of *Calycopis caulonia* (Hewitson, 1877) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini), with notes on rearing detritivorous hairstreaks on artificial diet. *Zootaxa*, 1063, 1-31.
- Eastwood, R. & Fraser, A.M. (1999) Associations between lycaenid butterflies and ants in Australia. *Australian Journal of Ecology*, 24, 503-537.
- Eliot, J.N. (1973) The higher classification of the Lycaenidae (Lepidoptera): a tentative arrangement. *Bulletin of the British Museum of Natural History (Entomology)*, 28, 371-505.
- Fiedler, K. (1991) Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the Lycaenidae (Insecta: Lepidoptera: Papilionoidea). *Bonner Zoologische Monographien*, 31, 1-210.

- Fiedler, K. (2001) Ants associated with Lycaeninae butterfly larvae: diversity, ecology and biogeography. *Diversity and Distributions*, 7, 45-60.
- Freitas, A.V.L. & Brown, K.S. (2004) Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidoptera). *Systematic Biology*, 53, 363-383.
- Guppy, P.J.L. (1904) Notes on the habits and early stages of some Trinidad butterflies. *Transactions of the Entomological Society of London*, 1904, 225-228.
- Hall, J.P.W. (1999) *A revision of the genus Theope: its systematics and biology (Lepidoptera: Riodinidae: Nymphidiini)*. Scientific Publishers, Gainesville, viii + 127p.
- Hall, J.P.W. (2002) Phylogeny of the riodinid butterfly subtribe Theopeina (Lepidoptera: Riodinidae: Nymphidiini). *Systematic Entomology*, 27, 139-167.
- Hall, J.P.W. & Harvey, D.J. (2001) A phylogenetic analysis of the Neotropical riodinid butterfly genera *Juditha*, *Lemonias*, *Thisbe* and *Uraneis*, with a revision of *Juditha* (Lepidoptera: Riodinidae: Nymphidiini). *Systematic Entomology*, 26, 453-490.
- Hall, J.P.W. & Harvey, D.J. (2002) Basal subtribes of the Nymphidiini (Lepidoptera: Riodinidae): phylogeny and myrmecophily. *Cladistics*, 18, 539-569.
- Hall, J.P.W.; Harvey, D.J. & Janzen, D.H. (2004) Life history of *Calydna sturnula* with review of larval and pupal balloon setae in the Riodinidae (Lepidoptera). *Annals of the Entomological Society of America*, 97, 310-321.
- Harvey, D.J. (1987a) *The higher classification of the Riodinidae (Lepidoptera)*. Ph.D. Dissertation, University of Texas, Austin, vii + 216p.
- Harvey, D.J. (1987b) Riodinidae (Papilionoidea). In: Stehr, F.W. (Ed.), *Immature insects. Vol. 1*. Kendall/Hunt, Dubuque, pp. 446-447.
- Heppner, J.B. (1991) Faunal regions and the diversity of Lepidoptera. *Tropical Lepidoptera*, 2, 1-85.

- Hinton, H.E. (1946) On the homology and nomenclature of the setae of lepidopterous larvae, with some notes on the phylogeny of the Lepidoptera. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 97, 1–37.
- Hinton, H.E. (1981) *Biology of insect eggs. Vol. 1*. Pergamon, London, 473p.
- Horvitz, C.C.; Turnbull, C. & Harvey, D.J. (1987) Biology of immature *Eurybia elvina* (Lepidoptera: Riodinidae) a myrmecophilous metalmark butterfly. *Annals of the Entomological Society of America*, 80, 513-519.
- Janzen, D.H. & Hallwachs, W. (2005) Dynamic database for an inventory of the macrocaterpillar fauna, and its food plants and parasitoids, of Area de Conservacion Guanacaste (ACG), northwestern Costa Rica. Disponível em <http://janzen.sas.upenn.edu> (14.I.2005).
- Kirkpatrick, T.W. (1954) Notes on minor insect pests of cacao in Trinidad. Part 2. Lepidoptera (butterflies and moths). *A Report on Cacao Research*, 1953, 67-72.
- Kitching, I.J. (1985) Early stages and the classification of milkweed butterflies (Lepidoptera: Danainae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 85, 1-97.
- Martin, J.A. & Pashley, D.P. (1992) Molecular systematic analysis of butterfly family and some subfamily relationships (Lepidoptera: Papilionoidea). *Annals of the Entomological Society of America*, 85, 127-135.
- Megens, H.J.; de Jong, R. & Fiedler, K. (2005) Phylogenetic patterns in larval host plant and ant association of Indo-Australian Arhopalini butterflies (Lycaenidae: Theclinae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 84, 225-241.
- Miller, J.S. (1991) Cladistics and classification of the Notodontidae (Lepidoptera: Noctuoidea) based on larval and adult morphology. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 204, 1-230.

- Mosher, E. (1916) A classification of the Lepidoptera based on characters of the pupa. *Bulletin of the Illinois State Laboratory of Natural History*, 12, 17-159.
- Motta, P.C. (2003) Phylogenetic relationships of Ithomiinae based on first-instar larvae. *In: Boggs, C.L.; Watt, W.B. & Ehrlich, P.R. (Eds.), Butterflies: ecology and evolution taking flight*. University of Chicago, Chicago, pp. 409-429.
- Penz, C.M. (1999) Higher level phylogeny for the passion-vine butterflies (Nymphalidae: Heliconiinae) based on early stage and adult morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 127, 277-344.
- Peterson, A. (1962) *Larvae of insects. An introduction to Nearctic species. Part I Lepidoptera and plant infesting Hymenoptera*. Edwards Brothers Inc. Ann Arbor, 315 pp.
- Pierce, N.E.; Braby, M.F.; Heath, A.; Lohman, D.J.; Mathew, J.; Rand, B.R. & Travassos, M.A. (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Annual Review of Entomology*, 47, 733-771.
- Rand, D.B.; Heath, A.; Suderman, T. & Pierce, N.E. (2000) Phylogeny and life history evolution of the genus *Chrysoritis* within the Aphnaeini (Lepidoptera: Lycaenidae), inferred from mitochondrial cytochrome oxidase I sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17, 85-96.
- Robbins, R.K. (1988) Comparative morphology of the butterfly foreleg coxa and trochanter (Lepidoptera) and its systematic implications. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 90, 133-154.
- Robbins, R.K. (1993) Comparison of butterfly diversity in the Neotropical and Oriental regions. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 46, 298-300.

- Rohwer, J.G. (1986) Prodrömus einer Monographie der Gattung *Ocotea* Aubl. (Lauraceae), sensu lato. *Mitteilungen aus dem Institut für Allgemeine Botanik Hamburg*, 20, 1-278.
- Rohwer, J.G. (1993) Lauraceae: *Nectandra*. *Flora Neotropica*, 60, 1-333.
- Ross, G.N. (1964) Life-history studies on mexican butterflies. III. Early stages of *Anatole rossi*, a new myrmecophilous metalmark. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 3, 81-94.
- Ross, G.N. (1966) Life-history studies on mexican butterflies. IV. The ecology and ethology of *Anatole rossi*, a myrmecophilous metalmark (Lepidoptera: Riodinidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 59, 985-1004.
- Stehr, F.W. (1987) Order Lepidoptera. In: Stehr, F.W. (Ed.), *Immature insects. Vol. I.* Kendall/Hunt, Dubuque, pp. 288-305.
- Stehr, F.W. & Martinat, P.J. (1987) Lepidoptera; Key to families of larvae. In: Stehr, F.W. (Ed.), *Immature insects. Vol. I.* Kendall/Hunt, Dubuque, pp. 306-340.
- Wahlberg, N.; Braby, M.F.; Brower, A.V.Z.; de Jong, R.; Lee, M.; Nylin, S.; Pierce, N.E.; Sperling, F.A.H.; Vila, R.; Warren, A.D. & Zakharov, E. (2005) Synergistic effects of combining morphological and molecular data in resolving the phylogeny of butterflies and skippers. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 272, 1577-1586.
- Wright, D.M. (1983) Life history and morphology of the immature stages of the Bog Copper butterfly *Lycaena epixanthe* (Bsd. & Le C.) (Lepidoptera: Lycaenidae). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 22, 47-100.
- Zar, J. H. (1999) *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Upper Saddle River. 718p.

CAPÍTULO 3

**ESTUDO MORFOLÓGICO E HISTOQUÍMICO DAS CERDAS BALONIFORMES E ÓRGÃOS
MIRMECOFÍLICOS DAS LARVAS DE *Theope thestias* HEWITSON, 1860 (LEPIDOPTERA:
RIODINIDAE)¹**

Lucas A. Kaminski², Fábio C. Abdalla³ & Gilson R.P. Moreira⁴

Artigo a ser submetido para Zoomorphology

¹ Contribuição n° ____ do Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

² Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: lucaskaminski@yahoo.com.br e gilson.moreira@ufrgs.br

³ Departamento de Biologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual Paulista - Rio Claro, Caixa Postal 199, 13506-900 Rio Claro, SP, Brasil.

Resumo

A mirmecofilia mediada por órgãos especializados na interação com as formigas ocorre em apenas duas famílias de Lepidoptera (Lycaenidae e Riodinidae). A morfologia destes órgãos tem sido de grande importância na classificação e evolução dessas famílias, porém ainda é pouco conhecida. Neste trabalho, são descritas e ilustradas pela primeira vez a ultraestrutura tegumentar externa e a anatomia interna das cerdas baloniformes e órgãos mirmecofílicos das larvas de *Theope thestias* (Riodinidae), utilizando microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz. A porção glandular das cerdas baloniformes é descrita pela primeira vez. É proposta uma nomenclatura para as diferentes porções apresentadas pelo órgão nectário tentacular de Riodinidae. As estruturas descritas são discutidas quanto à função na interação com as formigas com base no conhecimento atual. O posicionamento dos órgãos perfurados em forma de cúpula é discutido quanto à sua provável importância na mirmecofilia.

Palavras-chave glândulas exócrinas · Lycaenidae · mirmecofilia · simbiose · trofobiose

Introdução

Diversos grupos de organismos mantêm relações simbióticas com formigas, podendo ser defendidos ou até mesmo alimentados como se fossem membros da própria colônia – esse comportamento é conhecido como mirmecofilia (Hölldobler & Wilson 1990). A mirmecofilia ocorre devido à capacidade dos simbiossitos de mimetizar sinais químicos, morfológicos e/ou comportamentais que são utilizados na comunicação interespecífica entre as formigas (Hölldobler & Wilson 1990; Dettner & Liepert 1994). Tais associações podem variar de facultativas a obrigatórias, e de mutualismo a cleptoparasitismo (Hölldobler & Wilson 1990; Pierce et al. 2002; Orivel et al. 2004).

Em Lepidoptera, as associações com formigas são comumente mutualísticas porque são benéficas para ambas as partes. Para a formiga existe uma recompensa calórica produzida por glândulas especializadas das larvas (Newcomer 1912; DeVries & Baker 1989). Em troca a este recurso, a formiga fornece proteção contra parasitóides e predadores (Pierce & Mead 1981; DeVries 1991b). A associação entre larvas de Lepidoptera e formigas, mediada por órgãos especializados, é amplamente difundida em apenas duas famílias de borboletas (Lycaenidae e Riodinidae *sensu* Eliot, 1973) (revistos por Fiedler 1991; Pierce et al. 2002). Em geral, as larvas não mirmecófilas apresentam cerdas e escolos mais desenvolvidas com função defensiva (Harvey 1987; DeVries 1992).

A mirmecofilia em Lycaenidae e Riodinidae é mediada por órgãos especializados na interação com as formigas (*ant-organs*). Estes órgãos têm um papel significativo na classificação e na compreensão da evolução destas famílias (Harvey 1987; DeVries 1991a; DeVries et al. 2004). Apesar de serem funcionalmente semelhantes, a homologia dos órgãos mirmecofílicos ainda é bastante obscura por estarem localizados em segmentos diferentes nas duas famílias (DeVries 1991a; 1997; Campbell & Pierce 2003). Segundo Campbell & Pierce (2003), uma hipótese alternativa para a falta de concordância no posicionamento dos órgãos pode ter sido a ocorrência de mutações em genes homeóticos. Nesse sentido, um aporte no conhecimento básico sobre a morfologia interna e externa desses órgãos é fundamental para um melhor entendimento da evolução das adaptações morfológicas à mirmecofilia (Malicky 1970; Campbell & Pierce 2003; Penz & DeVries 2006). Existem poucos trabalhos que descrevem a morfologia interna destas estruturas para Lycaenidae (Newcomer 1912; Malicky 1970), sendo que para Riodinidae existe apenas para uma (Ross 1964).

Nos estágios imaturos de Riodinidae são conhecidos cinco tipos de órgãos mirmecofílicos (DeVries 1988; 1997; DeVries et al. 2004): 1) órgãos perfurados em forma de cúpula (PCOs) – pequenas especializações da epiderme distribuídas pelo tegumento, com função de secretar substâncias voláteis provavelmente responsáveis pelo apaziguamento das formigas (Malicky 1970; DeVries 1988); 2) papilas vibratórias (VP) – cerdas situadas na placa protorácica associadas à comunicação vibracional com as formigas (DeVries 1990; 1991c); 3) órgãos nectários tentaculares (TNOs) – par de glândulas eversíveis que se abrem dorsalmente no oitavo segmento abdominal e que produz secreções que servem de alimento para as formigas (Ross 1964; DeVries 1988; DeVries & Baker 1989); 4) órgãos tentaculares anteriores (ATOs) – par de órgãos tentaculares eversíveis situados no terceiro segmento torácico, supostamente responsável por parte da comunicação química das larvas com as formigas (Ross 1966; DeVries 1988); 5) glândula cervical (CG) - glândula eversível situada ventralmente no protórax, provavelmente associada à disseminação de semioquímicos (DeVries et al. 2004; L. Kaminski dados inéditos). Adicionalmente, tem sido discutido o papel de uma coroa de cerdas baloniformes situada na placa protorácica de alguns riodinídeos. Segundo DeVries (1997), estas estruturas estariam relacionadas à mirmecofilia, exercendo uma função análoga aos ATOs. Desta forma, espécies que apresentam cerdas baloniformes possuiriam ATOs não funcionais ou ausentes (Penz & DeVries 2006; C. Penz com. pess.). A ultraestrutura tegumentar destas cerdas é conhecida para poucas espécies (ver Hall et al. 2004), não havendo investigação histológica que descreva a morfologia interna das cerdas baloniformes.

Theope thestias Hewitson, 1860 é um Riodinidae cuja larva apresenta mirmecofilia facultativa com formigas do gênero *Camponotus* Mayr, 1861 (Fig. 1) (ver

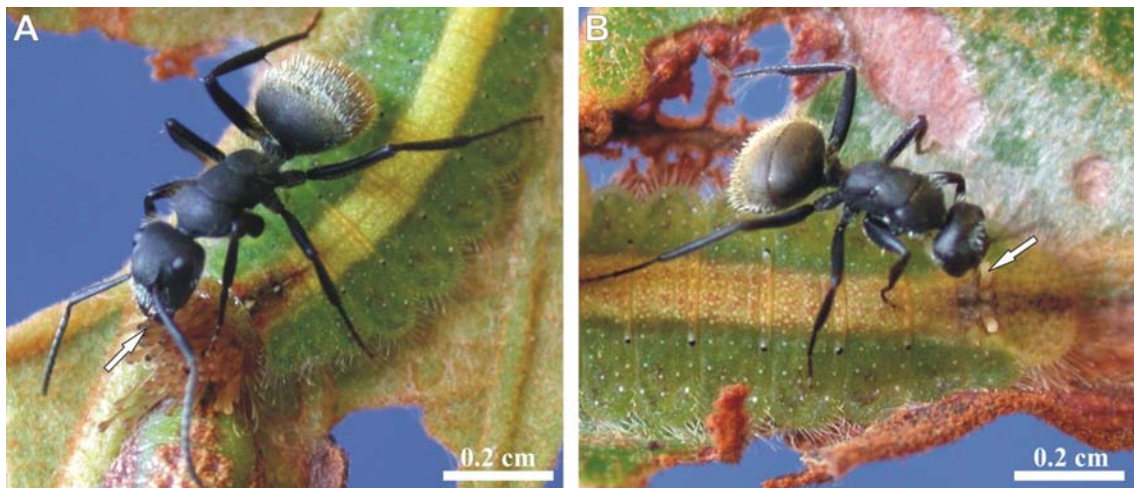


Fig. 1 Larvas de 5^o ínstar de *Theope thestias* em interações simbióticas com formigas *Camponotus mus*. **A** formiga interagindo com as cerdas baloniformes (seta), **B** formiga se alimentando nos órgãos nectários tentaculares (seta)

Capítulo 2). A partir do segundo ínstar surgem cerdas baloniformes nas larvas que aumentam em tamanho e quantidade ao longo da ontogênese. Na interação com as formigas, as cerdas baloniformes são freqüentemente tocadas com as antenas e prensadas pelas mandíbulas das formigas atendentes. O papel dessas estruturas na interação correspondente ainda é desconhecido (Capítulo 2). Observações preliminares indicam a presença de três tipos de órgãos reconhecidamente associados à mirmecofilia (Fig. 2): 1) papilas vibratórias (VP), 2) glândulas nectaríferas (TNOS) e 3) órgãos perfurados em forma de cúpula (PCOs).

O objetivo do presente trabalho é caracterizar, sob o ponto de vista morfológico e histoquímico, as cerdas baloniformes e os órgãos mirmecofílicos das larvas de *T. thestias* e, desta forma, contribuir para o conhecimento das adaptações morfológicas à mirmecofilia em Lepidoptera.

Material e Métodos

Coleta de material. Os espécimes estudados foram coletados nos municípios de Maquiné - RS (29°35'S, 50°16'W), Curitiba - PR (24°58'S, 49°05'W) e Itirapina - SP (21°15'S, 47°49'W), entre dezembro de 2004 e junho de 2005. Os imaturos foram coletados diretamente sobre as plantas hospedeiras, posteriormente transportados ao laboratório e mantidos em potes plásticos com ramos da planta hospedeira.

Microscopia eletrônica de varredura. As análises foram realizadas com larvas de 4° e 5° ínstars fixadas em Dietrich. As observações foram feitas com base na comparação de, no mínimo, 10 espécimes. As amostras foram preparadas de acordo com o seguinte protocolo: desidratação em ponto crítico com aparelho Bal-tec[®] - CPD 030, montagem sobre fita dupla face em suportes metálicos, metalização com ouro em um aparelho

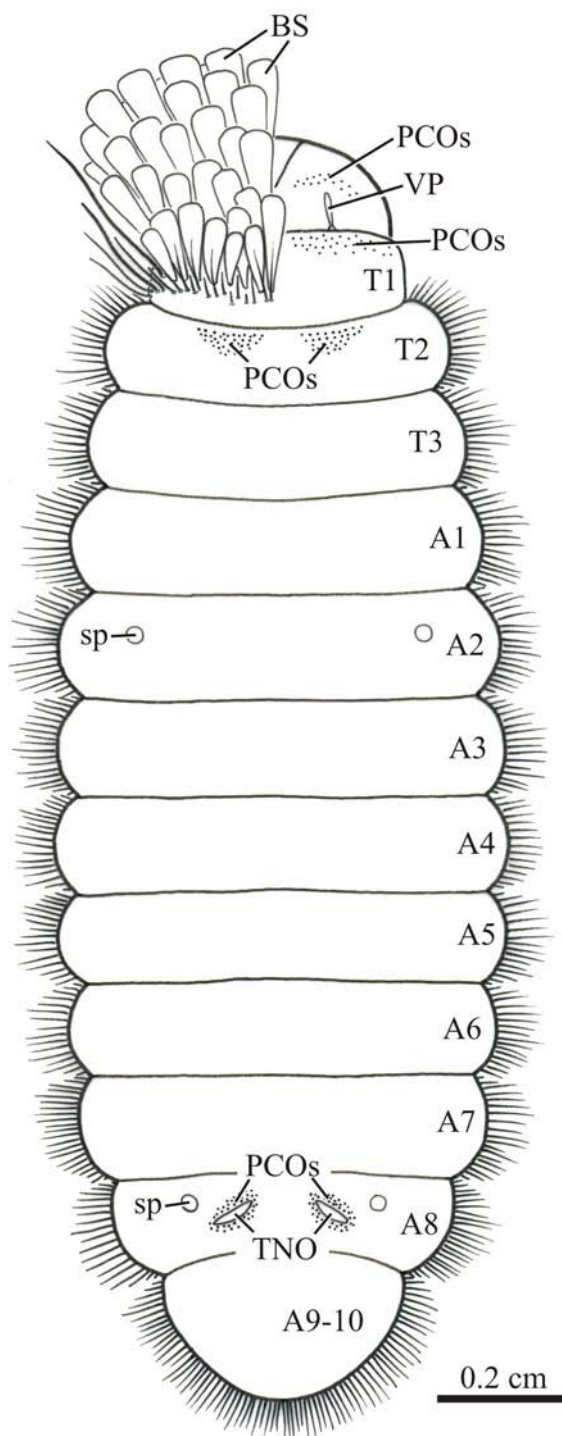


Fig. 2 Larva de 5° ínstar de *Theope thestias* em vista dorsal (cerdas baloniformes foram omitidas do lado direito). A segmento abdominal, BS cerda baloniforme, PCO órgão perfurado em forma de cúpula, sp espiráculo, T segmento torácico, TNO órgão nectário tentacular, VP papila vibratória

Bal-tec[®] - SCD 050. As micrografias foram efetuadas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL[®] JSM-5800.

Microscopia de luz. Para as análises histológicas, as larvas de 4^o e 5^o ínstaes foram dissecadas e fixadas em paraformaldeído a 4%, em tampão cacodilato de sódio, pH 7,2. As observações referentes foram feitas com base na comparação de, no mínimo, 10 espécimes. O material fixado foi desidratado em série alcoólica de concentrações crescentes de 70% a 95% por 15 minutos em cada uma. Após a desidratação, as amostras foram colocadas em historresina de embebição e armazenadas por 24 horas à temperatura de 4°C. O material embebido em historresina foi colocado em formas próprias para emblocagem, nas quais foi adicionada historresina acrescida de catalisador para confecção dos blocos. As formas foram mantidas em estufa a 37°C, por 24 horas. Em seguida, o material foi colado em suportes próprios e seccionados em micrótomo em secções de 0,5 µm de espessura. As lâminas foram coradas com hematoxilina eosina (HE) e/ou azul de metileno/fucsina básica. Para as cerdas baloniformes foram realizados testes histoquímicos com coloração simultânea PAS-Azul de Bromofenol. Para os órgãos nectários tentaculares, foram realizados testes para polissacarídeos neutros e ácidos (PAS), contra-coradas com verde de metila. As lâminas foram montadas em bálsamo do Canadá e fotografadas em um fotomicroscópio Zeiss[®].

Resultados e Discussão

Cerdas baloniformes

A cerda baloniforme pode ser dividida em duas porções: uma porção secretora e uma porção reservatória. A superfície da porção reservatória está coberta por protuberâncias

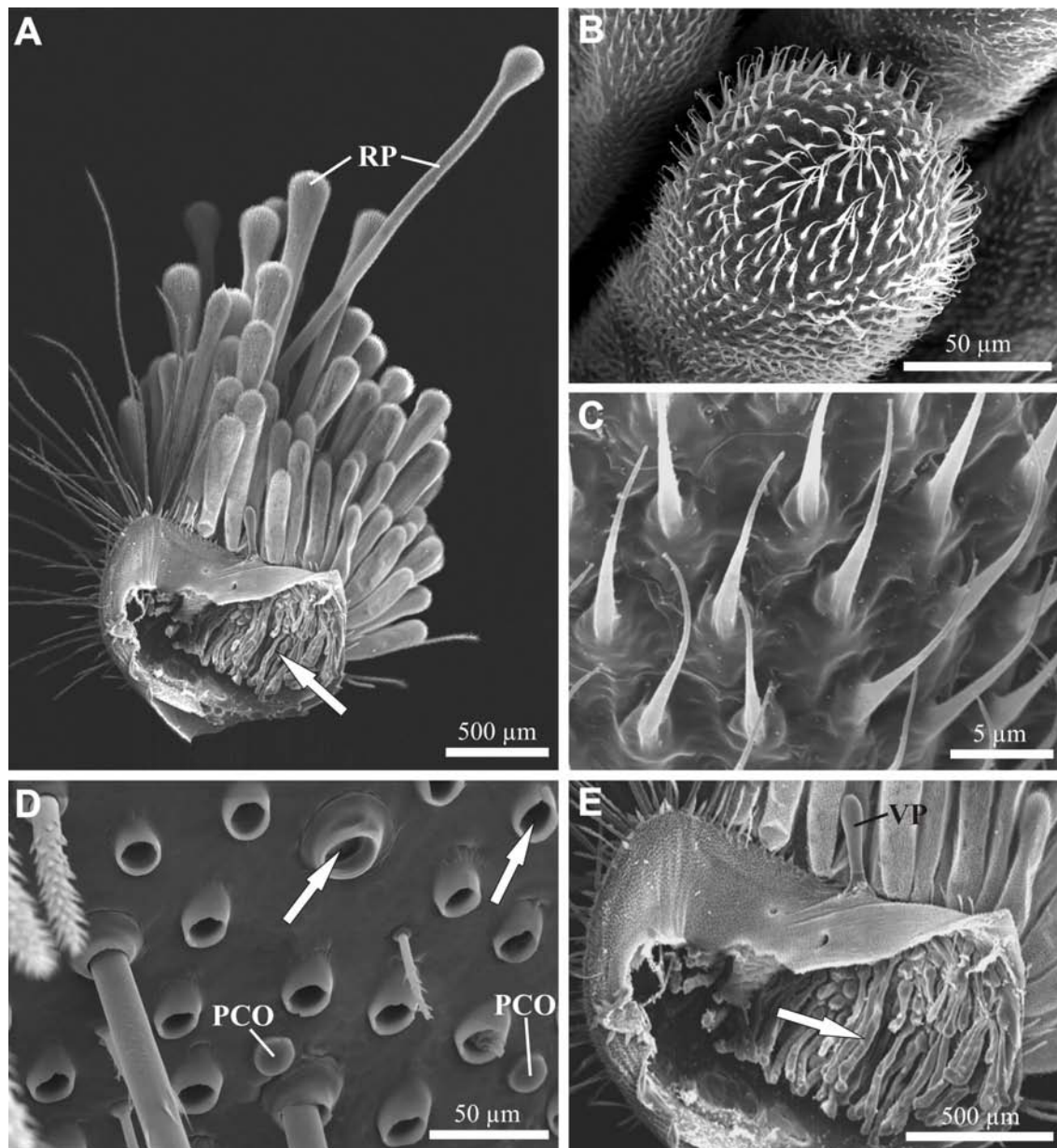


Fig. 3 Cerdas baloniformes da larva de 5^o ínstar de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. **A** vista ventral, mostrando porção secretora (seta) e reservatória, **B** vista externa da porção reservatória, **C** detalhe da superfície da porção reservatória, **D** local de inserção da porção reservatória (seta), **E** detalhe da porção secretora (seta). *PCO* órgão perfurado em forma de cúpula, *RP* porção reservatória, *VP* papila vibratória

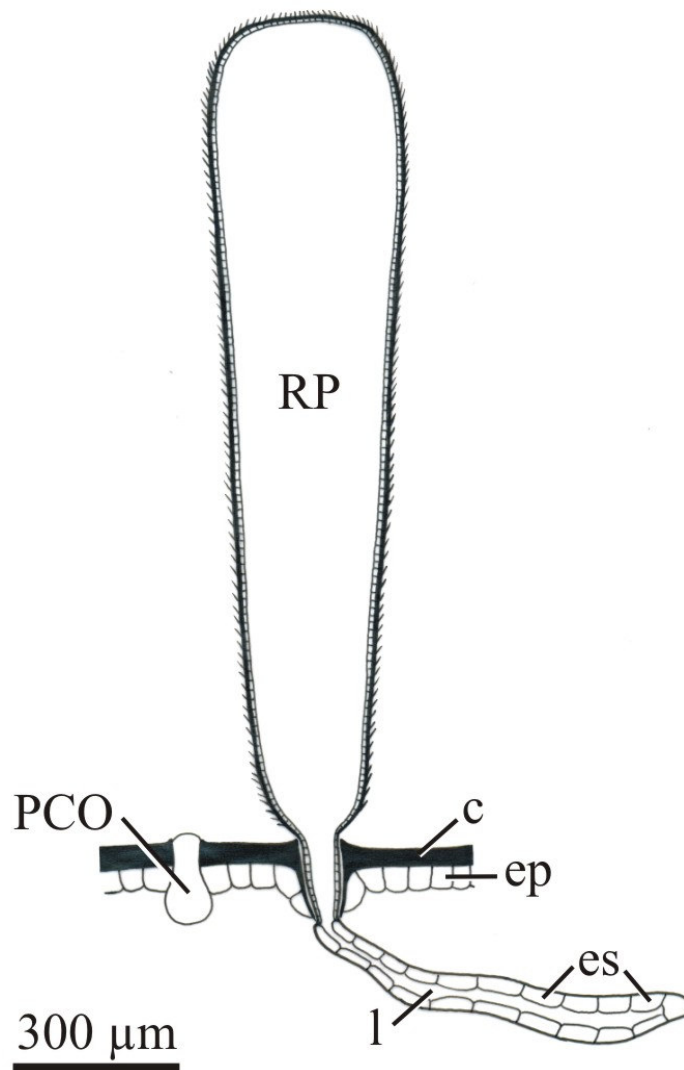


Fig. 4 Representação esquemática da cerda baloniforme da larva de 5^o ínstar de *Theope thestias* em corte transversal. *c* cutícula, *ep* epitélio, *es* epitélio secretor, *l* lúmen, *PCO* órgão perfurado em forma de cúpula, *RP* porção reservatória

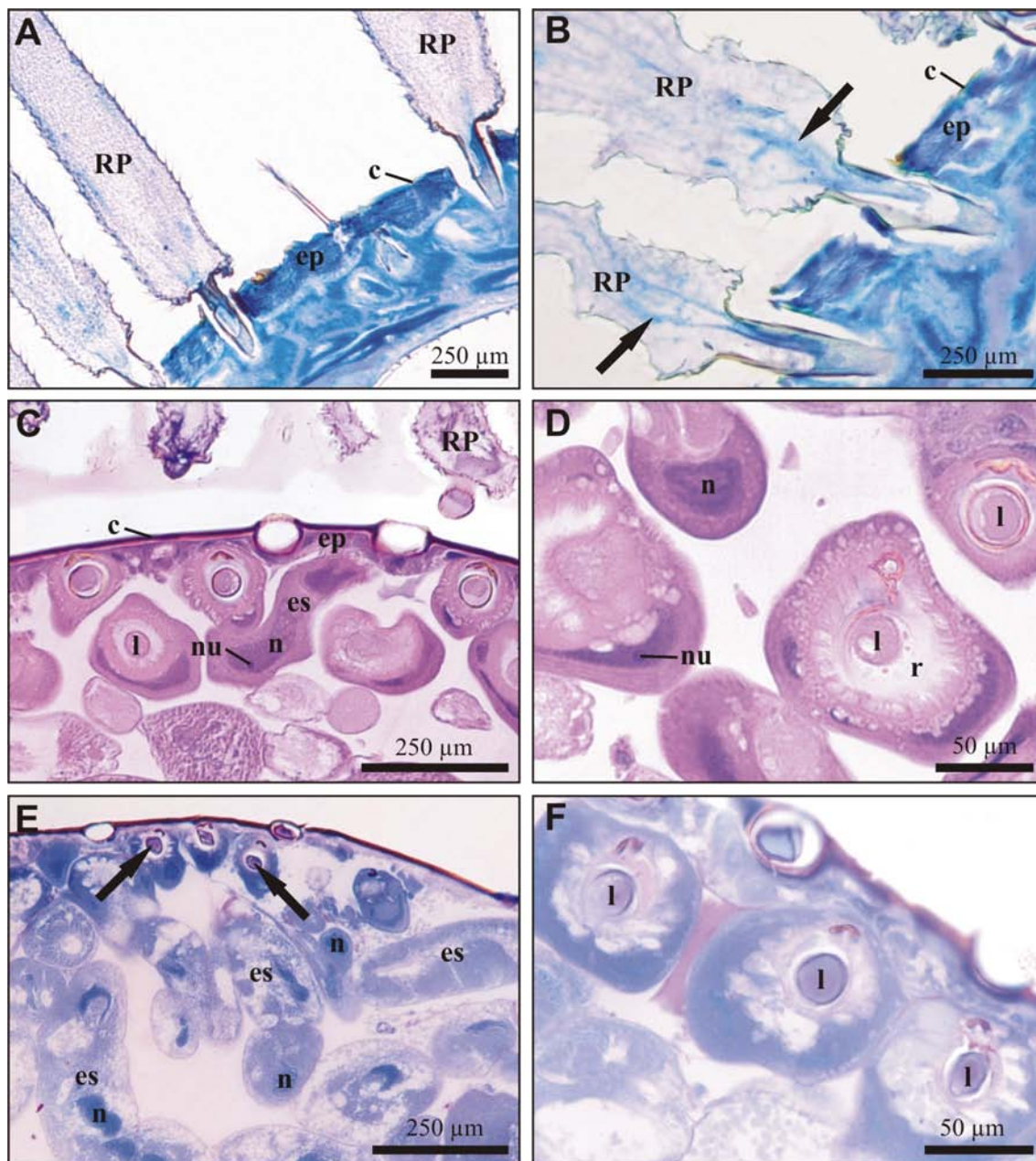


Fig. 5 Cerdas baloniformes da larva de 5^o ínstar de *Theope thestias* em microscopia de luz. **A** corte longitudinal mostrando local de inserção da porção reservatória e secretora, **B** detalhe do local de inserção da porção reservatória e secretora (setas indicam canalículos), **C** corte transversal da porção secretora, **D** detalhe da porção secretora, **E** corte tangencial da porção secretora mostrando lúmen com secreção positiva para PAS (seta), **F** detalhe do lúmen da porção secretora positivo para PAS. *c* cutícula, *ep* epitélio, *es* epitélio secretor, *l* lúmen, *n* núcleo, *nu* nucléolo, *r* reservatório intracelular, *RP* porção reservatória

cuticulares esclerotizadas (Figs. 3B, C) (= *acantha*, *sensu* Richards & Richards 1979). As cerdas encontram-se inseridas na placa protorácica, sendo facilmente destacadas da sua área de inserção. A área de inserção da cerda apresenta o formato de cálice (Fig. 3D; 5A). Internamente, associada a cada porção reservatória, encontra-se uma porção secretora com formato cilíndrico saculiforme (Figs. 3E; 4). Esta porção é formada por tubo de epitélio simples hipertrofiado que se invagina, formando um lúmen (Fig. 4, 5). Possivelmente, as células que constituem a porção secretora sejam células do tipo III (Noirot & Quennedey 1974). Ao redor do lúmen é visível um reservatório (Fig. 5D) semelhante ao descrito para diversas células do tipo III (ver Quennedey 1998), contudo ainda é necessária uma análise ultraestrutural destas células. A análise histoquímica preliminar verificou a presença de glicoconjugados neutros na luz da porção secretora da cerda baloniforme (Figs. 5E, F). Foi detectada a presença de canalículos (Fig. 5B) que partem da porção secretora para dentro da cerda baloniforme, chegando internamente até as protuberâncias cuticulares externas. Estruturas semelhantes a canalículos foram descritas para as cerdas baloniformes de *Calydna* Doubleday, 1847 (Riodinidae) (Hall et al. 2004).

A função das cerdas ainda permanece desconhecida, em *T. thestias*. Em outras espécies do gênero, tais estruturas aparentemente estão relacionadas à mirmecofilia (DeVries 1997). Hall et al. (2004) atribuíram função de defesa a estas cerdas, com base na descoberta de cerdas baloniformes em riodinídeos não mirmecófilos. Ainda são necessárias mais análises histoquímicas aliadas a estudos com cromatografia e espectrometria de massa para caracterizar quimicamente os compostos produzidos pelas cerdas baloniformes e avaliar a função destas estruturas tegumentares nos diferentes gêneros de Riodinidae.

Papilas vibratórias

Na placa protorácica estão inseridas um par de papilas vibratórias que permanecem encobertas pelas cerdas baloniformes em contato com a cápsula cefálica (Capítulo 2). As papilas de *T. thestias* apresentam a superfície espiralada (Fig. 6A, B). Os músculos abdutores e adutores descritos por Ross (1964) para as papilas vibratórias de *Lemonias caliginea* (Butler, 1867) não foram detectados em *T. thestias*. Internamente, não foi verificada a presença de glândulas associadas às papilas, corroborando a sua provável função estridulatória. Na superfície da região céfalo-dorsal da cápsula cefálica encontram-se pequenas elevações espiniformes voltadas anteriormente (Fig. 6B). O movimento da papila vibratória sobre as elevações espiniformes da cápsula cefálica tem sido considerado o mecanismo responsável pelas estridulações produzidas pelas larvas de Nymphidiini (DeVries 1988; 1990; 1991c).

Órgãos nectários tentaculares

As glândulas nectaríferas de *T. thestias* (Figs. 6C, D) são formadas por um par de tentáculos eversíveis posicionados na porção dorsal do oitavo segmento abdominal (Capítulo 2). A abertura apresenta formato de fenda (Fig. 2). As glândulas são de origem epidérmica, sendo formadas por uma invaginação da epiderme tegumentar que é protraída por pressão hidrostática do hemocelo (Fig. 6C, D). O tentáculo pode ser dividido em três porções (Fig. 7): porção proximal (PP), mediana (PM) e distal (PD).

A porção proximal do tentáculo é a região da abertura da glândula, sendo caracterizada externamente pela presença de diversas cerdas dendríticas e órgãos perfurados em forma de cúpula (Figs. 6C; 7). Internamente, também há PCOs, visíveis externamente quando o tentáculo é evertido (Fig. 6C). Com exceção das células

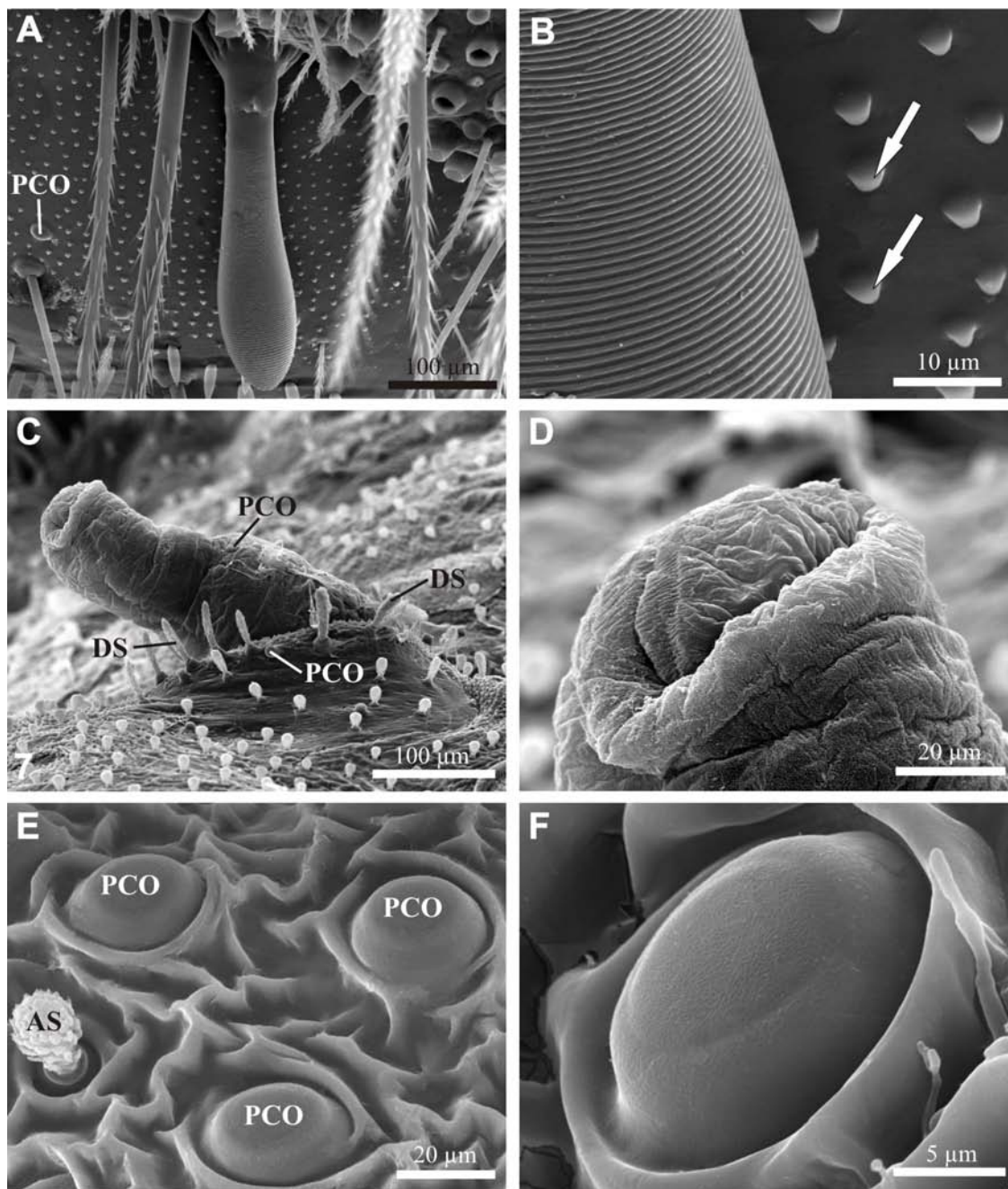


Fig. 6 Larva de 5° ínstar de *Theope thestias* em microscopia eletrônica de varredura. **A** papila vibratória em vista dorsal, **B** detalhe da papila vibratória, mostrando pequenas elevações na superfície da cápsula cefálica (setas), **C** tentáculo evertido do órgão nectário tentacular, **D** detalhe da abertura do tentáculo, **E** agrupamentos de órgãos perfurados no protórax, **F** detalhe de um órgão perfurado. *AS* cerda arborescente, *DS* cerda dendrítica, *PCO* órgão perfurado em forma de cúpula

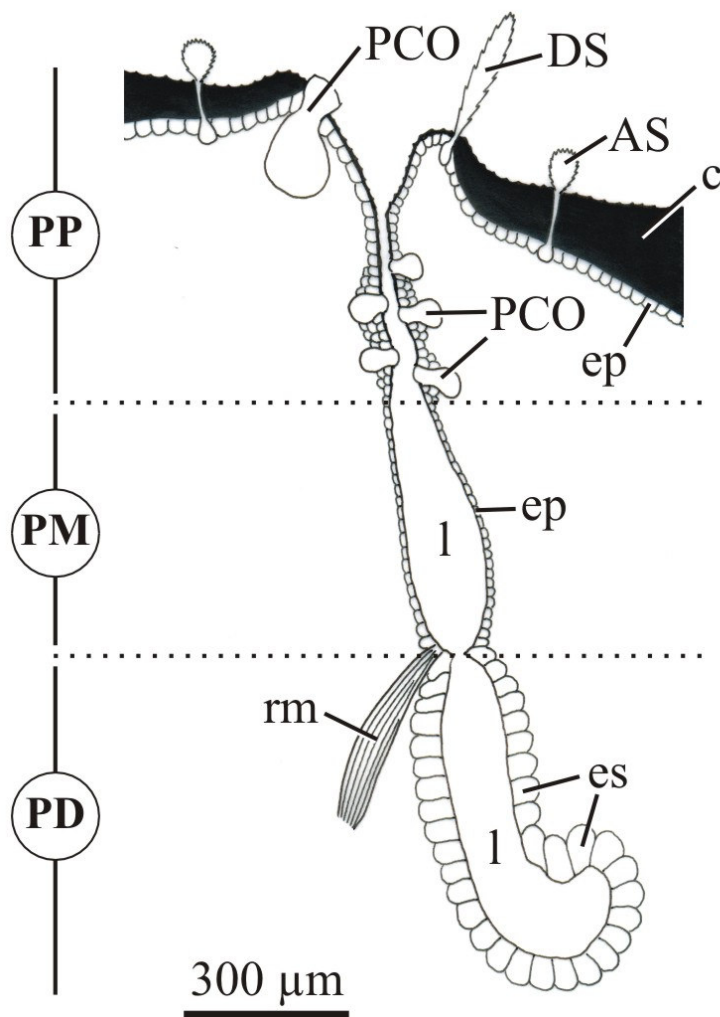


Fig. 7 Representação esquemática de um tentáculo do órgão nectário tentacular *in totum* da larva de 5^o ínstar de *Theope thestias* em corte transversal. AS cerda arborescente, *c* cutícula, DS cerda dendrítica, *ep* epiderme, *es* epitélio secretor, *l* lúmen, PCO órgão perfurado em forma de cúpula, PD porção distal, PM porção mediana, PP porção proximal, *rm* músculo retrator

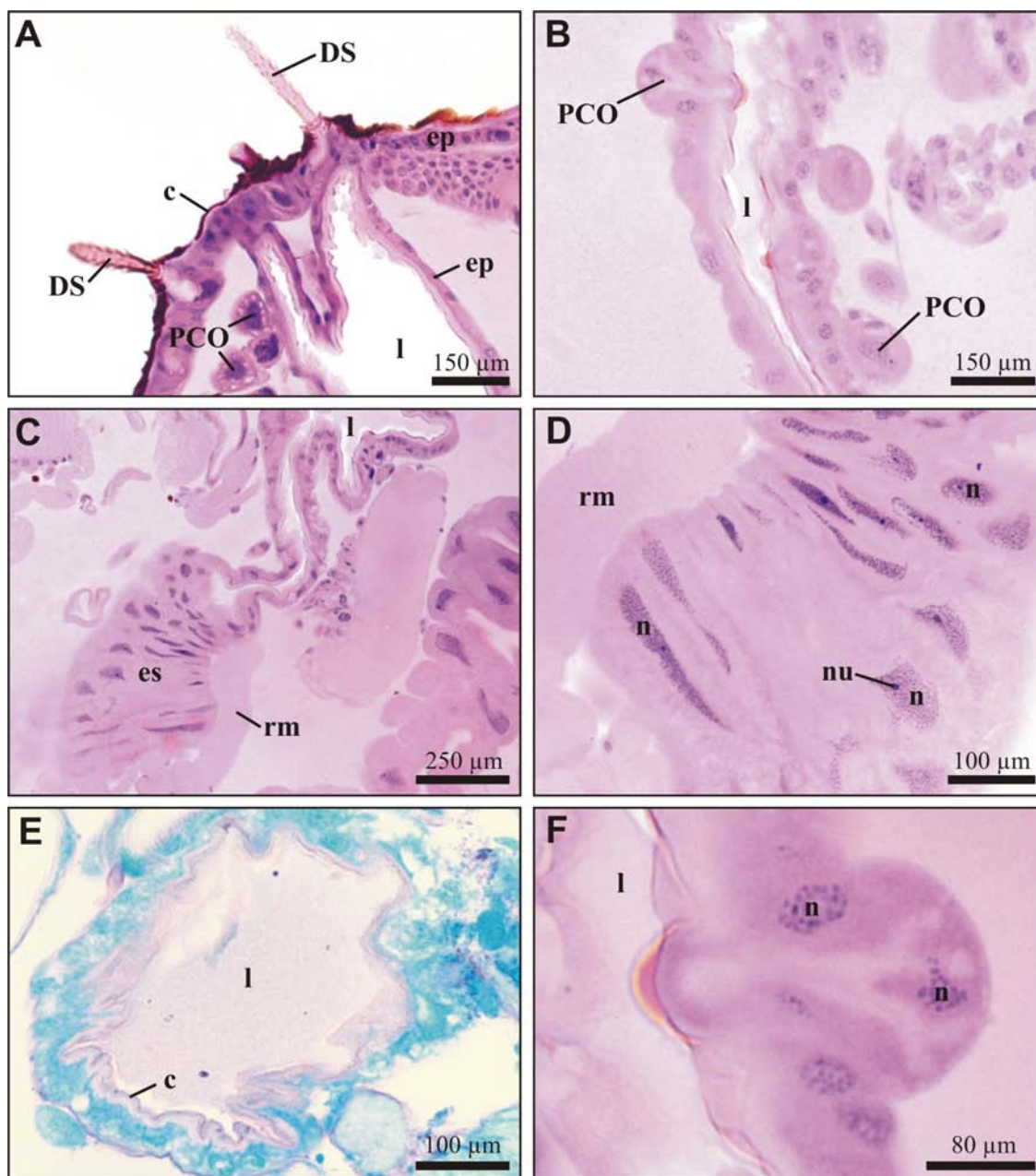


Fig. 8 Órgão nectário tentacular da larva de 5^o ínstar de *Theope thestias* em microscopia de luz. **A** corte tangencial da porção proximal, **B** corte longitudinal da porção proximal, **C** corte longitudinal das porções mediana e distal, **D** detalhe da porção distal, **E** corte transversal da porção mediana mostrando lúmen com secreção positiva para PAS, **F** corte longitudinal de um órgão perfurado em forma de cúpula. *c* cutícula, *DS* cerda dendrítica, *ep* epitélio, *es* epitélio secretor, *l* lúmen, *n* núcleo, *nu* nucléolo, *PCO* órgão perfurado em forma de cúpula, *rm* músculo retrator

associadas aos PCOs que são hipertrofiadas, o epitélio nesta porção é constituído por células não colunares (Fig. 8A, B). As células desse epitélio necessitam de uma análise ultraestrutural, que irá determinar se são unidades celulares do tipo I e II (Noirot & Quenedey 1974) associadas aos PCOs.

A porção mediana do tentáculo não apresenta cerdas nem PCOs, sendo formada por um epitélio colunar baixo. Parte desta porção fica exposta, quando o tentáculo é evertido (Fig. 6D). A maior parte da secreção produzida pela glândula fica armazenada nesta região. A análise histoquímica preliminar da secreção indicou resultado levemente positivo para PAS no lúmen da porção mediana (Fig. 8E), indicando a presença de açúcares. Ancorado na base desta porção, encontra-se o músculo retrator da glândula (Figs. 7; 8C, D), que permanece retraído quando o tentáculo encontra-se invertido.

Na porção distal do tentáculo ocorre a produção da secreção dos órgãos nectários tentaculares. Nesta porção, o epitélio é constituído por células colunares altas, cujos núcleos apresentam cromatina descondensada e nucléolos evidentes, indicativos de atividade celular (Fig. 8D).

A presença de cerdas dendríticas associadas à abertura dos órgãos nectários tentaculares (TNOs) já foi descrita para outros Riodinidae (Ross 1964; DeVries 1988), bem como, para a abertura do órgão nectário dorsal (*dorsal nectary organs* = DNO) de diversos Lycaenidae (Malicky 1970; Kitching & Lucke 1985; Ballmer & Pratt 1988, Duarte et al. 2001, Duarte et al. 2005). Segundo Ross (1964), as cerdas presentes na abertura dos tentáculos servem para conter a secreção e, dessa forma, evitar a sua perda. A análise preliminar das cerdas dendríticas em *T. thestias* sugere a existência de uma “cavidade linfática receptora” típica de uma cerda com função mecanoreceptora (Chapman 1998). A função mecanoreceptora das cerdas dendríticas foi estudada em larvas de *Polyommatus icarus* (Rottemburg, 1775) (Lycaenidae) por Tautz & Fiedler

(1996). Segundo estes autores, as cerdas têm um papel importante no reconhecimento da formiga pelas larvas.

Conforme observado para outros Riodinidae (ver DeVries 1991a; 1997), os órgãos nectários tentaculares de *T. thestias* diferem das glândulas dos Lycaenidae em diversos aspectos. Em Lycaenidae, a glândula está posicionada dorsalmente no sétimo segmento abdominal (Newcomer 1912; Malicky 1970; Kitching 1983; Pierce & Nash 1999), e internamente, ela consiste de quatro unidades glandulares de formato saculiforme (Malicky 1970). A morfologia dos TNOs de *T. thestias* também difere do descrito para *L. caliginea* (Riodinidae) (Ross 1964). Segundo este autor, a porção secretora encontra-se separada do tentáculo, sendo ligada a este por um ducto. Em *T. thestias*, não foi observado o ducto, sendo a região secretora a porção mais distal do tentáculo (Fig. 7). As diferenças obtidas na morfologia dos TNOs de *T. thestias* em relação ao descrito para *L. caliginea* demonstram a necessidade de mais estudos para os diferentes gêneros de Riodinidae.

Órgãos tentaculares anteriores e glândula cervical

Não foi observado na microscopia eletrônica de varredura nem na histologia, vestígio da presença das glândulas anteriores (ATOs) no terceiro segmento torácico. A ausência de glândulas anteriores já havia sido verificada para outras espécies de *Theope* (DeVries & Poinar 1997; Penz & DeVries no prelo; C. Penz com. pess.). Da mesma forma, não foi verificada a presença de glândulas cervicais em *T. thestias*. As glândulas cervicais são citadas para diversas famílias de Lepidoptera, incluindo Notodontidae e Nymphalidae (Percy & MacDonald 1979; Miller 1991; Osborn et al. 1999). No entanto, é conhecida apenas para *Hallonympha paucipuncta* (Spitz, 1930) em Riodinidae (DeVries et al. 2004).

Órgãos perfurados em forma de cúpula

Os PCOs são encontrados dorsalmente na cápsula cefálica, placa protorácica, mesotórax e próximo a abertura dos tentáculos do TNO (Fig. 2). Externamente, o órgão é constituído de uma placa arredondada rodeada por um anel (Fig. 6E, F). Na superfície, são visíveis pequenas perfurações (Fig. 6F). Aparentemente, o PCO é constituído por apenas uma célula tricogênica. Essa célula encontra-se hipertrofiada com uma área de reservatório e núcleo arredondado (Fig. 8F).

Os órgãos perfurados estão presentes em quase todos os Riodinidae e Lycaenidae (Malicky 1970; Harvey 1989). Estruturas semelhantes, mas não homólogas, denominadas lentículas são conhecidas para Hesperidae (Franz et al. 1984). Os PCOs têm sido considerados os primeiros órgãos a surgir na evolução da mirmecofilia em Lepidoptera (ver Pierce et al. 2002). Acredita-se que os PCOs produzam compostos voláteis (alelomônios) importantes no apaziguamento das formigas. No entanto, desconhece-se a natureza dos compostos produzidos por estas estruturas, as quais nunca foram descritas em nível celular. Em *T. thestias*, os órgãos perfurados em forma de cúpula não apresentam uma distribuição aleatória, eles estão localizados invariavelmente próximos a outros órgãos mirmecofílicos (Fig. 2). Nesse caso, os PCOs parecem ter um papel importante no reconhecimento da larva pelas formigas. Tal hipótese precisa ser avaliada em estudos futuros.

Agradecimentos Os autores agradecem a Alexandra Bächtold (UNIVILLE), Sebastian Sendoya (UNICAMP) e Jorge Bizarro (UFPR) pelo apoio logístico e auxílio na realização das coletas. À Cassandra Monteiro (UFRGS) pela ajuda na preparação dos fixadores. Ao Laboratório de Histologia da PUC-RS, em especial à Camila Gonçalves,

pelo auxílio na realização de parte das análises histológicas. Ao Laboratório de Histologia da UNESP - Rio Claro, pela acolhida e apoio na realização das análises histológicas e histoquímicas. À Carla Penz (University of New Orleans) pelo incentivo e discussões sobre mirmecofilia. Ao José F. Amato e Cristiano F. Schwertner (UFRGS), pelo apoio na realização das fotos digitais. Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS, especialmente à Moema Vieira e Mirian dos Santos pelo auxílio na preparação das amostras e micrografias. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro concedido a F.C. Abdalla. À CAPES pela concessão de bolsa de mestrado a L.A. Kaminski.

Referências

- Ballmer GR, Pratt GF (1988) A survey of the last instar larvae of the Lycaenidae of California. *Journal of Research on the Lepidoptera* 27:1-81
- Campbell DL, Pierce NE (2003) Phylogenetic relationships of the Riodinidae: implications for the evolution of ant association. In: Boggs CL, Watt WB, Ehrlich PR (eds) *Butterflies: ecology and evolution taking flight*. University of Chicago, Chicago, pp 395-408
- Chapman RF (1998) *The insects: structure and function* - 4th ed. Cambridge University, Cambridge
- Dettner K, Liepert C (1994) Chemical mimicry and camouflage. *Annual Review of Entomology* 39:129-154
- DeVries PJ (1988) The larval ant-organs of *Thisbe irenea* (Lepidoptera: Riodinidae) and their effects upon attending ants. *Zoological Journal of the Linnean Society* 94:379-393

- DeVries PJ (1990) Enhancement of symbioses between butterfly caterpillars and ants by vibrational communication. *Science* 248:1104-1106
- DeVries PJ (1991a) Evolutionary and ecological patterns in myrmecophilous riodinid butterflies In: Huxley CR, Cutler DF (eds) *Ant-plant interactions*. Oxford University, Oxford, pp 143-156
- DeVries PJ (1991b) Mutualism between *Thisbe irenea* butterflies and ants, and the role of ant ecology in the evolution of larval-ant associations. *Biological Journal of the Linnean Society* 43:179-195
- DeVries PJ (1991c) Call production by myrmecophilous riodinid and lycaenid butterfly caterpillars (Lepidoptera): morphological, acoustical, functional, and evolutionary patterns. *American Museum Novitates* 3025: 1-23
- DeVries PJ (1992) Singing caterpillars, ants and symbiosis. *Scientific American* 267:56-62
- DeVries PJ (1997) *The butterflies of Costa Rica and their natural history II: Riodinidae*. Princeton University, Princeton
- DeVries PJ, Baker I (1989) Butterfly exploitation of an ant-plant mutualism: adding insult to herbivory. *Journal of the New York Entomological Society* 97:332-340
- DeVries PJ, Poinar GO (1997) Ancient butterfly - ant symbiosis: direct evidence from Dominican amber. *Proceedings of the Royal Society of London B* 264:1137-1140
- DeVries PJ, Cabral BC, Penz CM (2004) The early stages of *Apodemia paucipuncta* (Riodinidae): myrmecophily, a new ant-organ and consequences for classification. *Milwaukee Public Museum Contributions to Biology and Geology* 102:1-13
- Duarte M, Almeida GL, Casagrande MM, Mielke OHH (2001) Notes on the last instar and pupa of *Hemiargus hanno* (Stoll) (Lepidoptera, Lycaenidae, Polyommatainae). *Revista Brasileira de Zoologia* 18: 1097-1105

- Duarte M, Robbins RK, Mielke OHH (2005) Immature stages of *Calycopis caulonia* (Hewitson, 1877) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini), with notes on rearing detritivorous hairstreaks on artificial diet. *Zootaxa* 1063:1-31
- Eliot JN (1973) The higher classification of the Lycaenidae (Lepidoptera): a tentative arrangement. *Bulletin of the British Museum of Natural History (Entomology)* 28:373-506
- Fiedler K (1991) Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the Lycaenidae (Insecta: Lepidoptera: Papilionoidea). *Bonner Zoologische Monographien* 31:1-210
- Franzl S, Locke M, Huie P (1984) Lenticles: innervated secretory structures that are expressed at every other larval moult. *Cell & Tissue* 16:251-268
- Hall JPW, Harvey DJ, Janzen DH (2004) Life history of *Calydna sturnula* with review of larval and pupal balloon setae in the Riodinidae (Lepidoptera). *Annals of the Entomological Society of America* 97:310-321
- Harvey DJ (1987) The higher classification of the Riodinidae (Lepidoptera). PhD Thesis, University of Texas, Austin
- Harvey DJ (1989) Perforated cupola organs on larvae of Euselasiinae (Riodinidae). *Journal of the Lepidopterists' Society* 43:247-249
- Hölldobler BE, Wilson EO (1990) *The Ants*. Belknap/Harvard, Cambridge
- Kitching RL (1983) Myrmecophilous organs of the larvae and pupa of the lycaenid butterfly *Jalmenus evagoras* (Donovan). *Journal of the Natural History* 17:471-481
- Kitching RL, Luke B (1985) The myrmecophilous organs of the larvae of some British Lycaenidae (Lepidoptera): a comparative study. *Journal of Natural History* 19:259-276

- Malicky H (1970) New aspects on the association between lycaenid larvae (Lycaenidae) and ants (Formicidae, Hymenoptera). *Journal of the Lepidopterists' Society* 24:190-202
- Miller JS (1991) Cladistics and classification of the Notodontidae (Lepidoptera: Noctuoidea) based on larval and adult morphology. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 204:1-230
- Newcomer EJ (1912) Some observations on the relation of ants and lycaenid caterpillars, and a description of the relational organs of the latter. *Journal of the New York Entomological Society* 20:31-36
- Noirot C, Quennedey A (1974) Fine structure of insect epidermal glands. *Annual Review of Entomology* 19:61-80
- Orivel J, Servigne P, Cerdan P, Dejean A, Corbara B (2004) The ladybird *Thalassa saginata*, an obligatory myrmecophile of *Dolichoderus bidens* ant colonies. *Naturwissenschaften* 91:97-100
- Osborn FR, Sánchez F, Jaffé K (1999) Ultrastructure of the spines and neck gland of *Abananote hylonome* Doubleday, 1844 (Lepidoptera: Nymphalidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 28:321-330
- Penz CM, DeVries PJ (2006) Systematic position of *Apodemia paucipuncta* (Riodinidae), and a critical evaluation of the nymphidiine transtilla. *Zootaxa* 1190:1-50
- Percy J, MacDonald JA (1979) Cells of the thoracic defensive gland of the red-humped caterpillar, *Schizura concinna* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Notodontidae): ultrastructural observations. *Canadian Journal of Zoology* 57:80-94
- Pierce NE, Mead MA (1981) Parasitoids as selective agents in the symbiosis between butterfly larvae and ants. *Science* 211:1185-1187

- Pierce NE, Nash DR (1999) The imperial blue: *Jalmenus evagoras* (Lycaenidae) In: Kitching R, Sheermeyer E, Jones R, Pierce NE (eds) The biology on Australian Lepidoptera Vol.6. CSIRO, Sydney, pp 277-313
- Pierce NE, Braby MF, Heath A, Lohman DJ, Mathew J, Rand BR, Travassos MA (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). Annual Review of Entomology 47:733-771
- Quennedey A (1998) Insect epidermal gland cells: ultrastructure and morphogenesis In: Harrison FW, Locke M (eds) Microscopic Anatomy of Invertebrates Volume 11A: Insecta. Wiley-Liss Inc, New York, pp 177-207
- Richards AG, Richards PA (1979) The cuticular protuberances of insects. International Journal of Insect Morphology and Embryology 8:143-157
- Ross GN (1964) Life-history studies on mexican butterflies. III. Early stages of *Anatole rossi*, a new myrmecophilous metalmark. Journal of Research on the Lepidoptera 3:81-94
- Ross GN (1966) Life-history studies on mexican butterflies. IV. The ecology and ethology of *Anatole rossi*, a myrmecophilous metalmark (Lepidoptera: Riodinidae). Annals of the Entomological Society of America 59:985-1004
- Tautz J, Fiedler K (1996) Mechanoreceptive properties of caterpillar hairs involved in mediation of butterfly- ant symbioses. Naturwissenschaften 79:561-563

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Theope thestias foi coletada em diversas fitofisionomias, com diferentes estágios de sucessão e até mesmo em áreas urbanas. Os registros obtidos a partir dos estágios imaturos indicam que tal espécie é abundante, apresentando uma grande plasticidade ambiental. Desta forma, apesar dos adultos serem pouco avistados e coletados, a raridade não reflete o *status* de conservação, que pode ser considerada fora das categorias utilizadas pela IUCN (2001) para espécies ameaçadas.

Os resultados obtidos com relação à utilização das plantas hospedeiras e formigas atendentes para *T. thestias* apontam para um padrão de mirmecofilia facultativa associada à oligofagia em Lauraceae. Estes resultados quando comparados aos demais registros para *Theope*, os quais apontam um padrão de mirmecofilia obrigatória associada à polifagia, sugerem duas possibilidades para a evolução dos graus de mirmecofilia: 1) que a mirmecofilia facultativa seja uma plesiomorfia, e desta forma, a tendência é a especialização em determinados *taxa* de Formicidae; 2) ou a mirmecofilia facultativa pode ser uma característica apomórfica, relacionada à especialização em um determinado grupo de plantas hospedeiras.

Na filogenia existente para *Theope*, *T. thestias* está inserida dentro do grupo *thestias*, considerado monofilético e mais apical em relação a outros grupos de espécies (Hall 2002). A análise dos registros para as poucas espécies de *Theope* conhecidas mostra a ocorrência de mirmecofilia obrigatória distribuída em diversos grupos, dos basais aos mais apicais. Com base nas informações disponíveis até o momento, pode-se supor mais provável a hipótese de que a mirmecofilia facultativa em *T. thestias* seja consequência da especialização nas plantas hospedeiras. Este padrão ao

longo do tempo evolutivo poderia resultar numa estabilização da mirmecofilia facultativa, ou até mesmo na perda total da mirmecofilia (mirmecoxenia secundária).

Informações sobre os estágios imaturos de Riodinidae têm se mostrado úteis ao entendimento das relações de parentesco entre subfamílias, tribos e gêneros, principalmente, quanto ao posicionamento dos órgãos associados às formigas. No entanto, tal tipo de informação tem sido subutilizada dada à escassez de dados publicados. Os resultados obtidos no presente trabalho quanto à morfologia dos estágios imaturos de *T. thestias* apontam um caminho promissor para a utilização destas características em estudos filogenéticos. A ultraestrutura coriônica dos ovos de riodinídeos é considerada uma das mais diversificadas entre as famílias de Lepidoptera (DeVries 1997), porém nunca foi utilizada nos estudos filogenéticos em Riodinidae. A quetotaxia primária, outra fonte de caracteres úteis para estudos filogenéticos, também nunca foi usada.

A descrição da morfologia e histologia das cerdas baloniformes e dos órgãos mirmecofílicos mostrou diferenças em relação ao descrito para outros Riodinidae, mesmo para estruturas já conhecidas, como os órgãos nectários tentaculares. Tal aspecto demonstra a necessidade de mais estudos detalhados sobre estas estruturas. A análise morfológica das cerdas baloniformes confirmou sua natureza glandular. Ainda é necessária uma caracterização a nível celular, aliada a estudos com cromatografia e espectrometria de massa para tentar avaliar a função destas estruturas tegumentares nos diferentes gêneros de Riodinidae. Da mesma forma, os PCOs precisam ser melhor analisados, principalmente quanto à natureza dos compostos produzidos. O posicionamento dos PCOs em *T. thestias*, sugere um papel importante destas estruturas no reconhecimento da larva pelas formigas. Além disso, a importância dos PCOs para o

entendimento da morfogênese dos demais órgãos mirmecofílicos é um aspecto que ainda não foi explorado.

Alguns aspectos podem fazer de *Theope* um gênero chave para o entendimento da evolução da mirmecofilia em Riodinidae. O primeiro é a existência de uma revisão genérica aliada a uma proposta filogenética (Hall 1999, 2002). O segundo é a existência de registro fóssil, que pode servir de base para estudos com relógios moleculares (DeVries & Poinar 1997). O terceiro, que está surgindo com o acréscimo de informações sobre os estágios imaturos, é a variedade de graus de mirmecofilia e utilização de plantas hospedeiras. A união destas informações a estudos com marcadores moleculares e dados sobre os estágios imaturos de *Theope* e de gêneros afins, podem levar a uma melhor compreensão dos fatores envolvidos na evolução da mirmecofilia em Riodinidae.

Referências bibliográficas

- DeVries, P.J. (1997) *The butterflies of Costa Rica and their natural history II: Riodinidae*. Princeton University, Princeton, xxv + 228p.
- DeVries, P.J. & Poinar, G.O. (1997) Ancient butterfly - ant symbiosis: direct evidence from Dominican amber. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 264, 1137-1140.
- Hall, J.P.W. (1999) *A revision of the genus Theope: its systematics and biology (Lepidoptera: Riodinidae: Nymphidiini)*. Scientific Publishers, Gainesville, viii + 127p.
- Hall, J.P.W. (2002) Phylogeny of the riodinid butterfly subtribe Theopeina (Lepidoptera: Riodinidae: Nymphidiini). *Systematic Entomology*, 27, 139-167.

IUCN (2001) *IUCN Red List Criteria Review: Draft of the Proposed Changes and Recommendations (Version 3.1)*. IUCN Species Survival Commission, Gland, 21p.

ANEXOS

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA ZOOTAXA

Aim and scope

Zootaxa is a rapid journal for high quality papers on any aspects of systematic zoology, with a preference for large taxonomic works such as monographs and revisions. Manuscripts considered include taxonomic monographs (e.g. *Zootaxa* [3](#), [276](#)), revisions and reviews (e.g. *Zootaxa* [30](#), [34](#)), catalogues/checklists (e.g. *Zootaxa* [32](#) & [65](#)), bibliographies (e.g. *Zootaxa* [37](#)), identification guides (e.g. *Zootaxa* [67](#)), analysis of characters, phylogenetic relationships (e.g. *Zootaxa* [87](#)) and zoogeographical patterns of distribution, descriptions of taxa etc. Papers between 4 and 59 printed pages are published in multi-paper issues of 60, 64 or 68 papers. Monographs (60 or more pages) are individually issued and bound, with ISBNs. There is no upper limit on the length of manuscripts, although authors are advised to break monographs of over 1000 pages into a multi-volume contribution simply because books over 1000 pages are difficult to bind and too heavy to hold.

Short manuscripts of <4 pages are generally discouraged, although editorial correspondence are sometimes considered to fill blank pages in multi-paper issues. These include commentary of or additions/corrections to papers previously published in *Zootaxa*, opinions and views on issues of general interests to systematic zoologists, and taxonomic/nomenclatural notes of critical importance, with a maximum of 1 table/figure and 5 references, and **total length of no more than two pages**; no abstracts and list of key words are needed for correspondence/letters. Authors of short notes of three manuscript pages are asked to reduce them to two pages or expanded to a full paper of 4 pages or more with an abstract and list of key words. Commentaries on published papers are intended for scholarly exchange of different views or interpretations of published data and should not contain personal attack; authors of concerned papers will be invited to reply to comments on their papers. Publication of short editorial correspondence is at the discretion of editors and only when space is available in multi-paper issues; no more than four such short items will be published in each multi-paper issue.

There is no requirement for page charge. All manuscripts will be subjected to peer review before acceptance. *Zootaxa* aims to publish each paper within one month after the acceptance by editors.

Preparation of manuscripts

1) *General*. All papers must be in English. Authors whose native language is not English are encouraged to have their manuscripts read by a native English-speaking colleague before submission. Nomenclature must be in agreement with the *International Code of Zoological Nomenclature* (4th edition 1999), which came into force on 1 January 2000. Author(s) of species name must be provided when the scientific name of any animal species is first mentioned (the year of publication needs not be given; if you give it, then provide a full reference of this in the reference list). Authors of plant species name need not be given.

Metric systems should be used. If possible, use the common font New Times Roman and use as little formatting as possible (use only **bold** and *italics* where necessary and indent paragraphs except the first). Special symbols (e.g. male or female sign) should be avoided because they are likely to be altered when files are read on different machines (Mac versus PC with different language systems). You can code them as m# and f#, which can be replaced during page setting. The style of each author is generally respected but they must follow the following general guidelines.

2) The **title** should be concise and informative. The higher taxa containing the taxa dealt with in the paper should be indicated in parentheses: e.g. A taxonomic revision of the genus *Aus* (Order: family).

3) The **name(s) of all authors** of the paper must be given and should be typed in the upper case (e.g. ADAM SMITH, BRIAN SMITH & CAROL SMITH). The address of each author should be given in *italics* each starting a separate line. E-mail address(es) should be provided if available. In short editorial correspondence, authors and addresses are listed after the main text and before the list of references.

4) The **abstract** should be concise and informative. Any new names or new combinations proposed in the paper should be mentioned. Abstracts in other languages may also be included in addition to English abstract. The abstract should be followed by a list of **key words**. Abstract and key words are not needed in short editorial correspondence.

5) The arrangement of the **main text** varies with different types of papers (a taxonomic revision, an analysis of characters and phylogeny, a catalogue etc.), but should usually start with an **introduction** and end with a list of **references**. References should be cited in the text as Smith (1999), Smith and Smith (2000) or Smith *et al.* 2001 (3 or more authors), or alternatively in a parenthesis (Smith 2000; Smith & Smith 2000; Smith *et al.* 2001). All literature cited in the text must be listed in the references in the following format (see a [sample page here](#) in PDF).

A) **Journal paper**: Smith, A. (1999) Title of the paper. *Title of the journal in full*, volume number, page range.

B) **Book chapter**: Smith, A. & Smith, B. (2000) Title of the Chapter. *In*: Smith, A, Smith, B. & Smith, C. (Ed.), *Title of Book*. Publisher name and location, page range.

C) **Book**: Smith, A., Smith, B & Smith, C. (2001) *Title of Book*, Publisher name and location, number of pages (e.g. 123 pp).

C) **Internet resources**: Author (2002) *Title of website, database or other resources*, Publisher name and location (if indicated), number of pages (if known). Available from: <http://xxx.xxx.xxx/> (Date of access).

Dissertations resulting from graduate studies and non-serial proceedings of conferences/symposia are to be treated as books and cited as such. Papers not cited must not be listed in the references.

Please note that (1) **journal titles must be written in full (not abbreviated)**; (2) journal titles and volume numbers are followed by a ","; (3) page ranges are connected by "n dash", not hyphen "-", which is used to connect two words. For websites, it is important to include the last date when you see that site, as it can be moved or deleted from that address in the future.

On the use of dashes: (1) Hyphens are used to link words such as personal names, some prefixes and compound adjectives (the last of which vary depending on the style manual in use). (2) En-dash or en-rule (the length of an 'n') is used to link spans. In the context of our journal that means numerals mainly, most frequently sizes, dates and page numbers (e.g. 1977–1981; figs 5–7) and also geographic or name associations (Murray–Darling River; a Federal–State agreement). (3) Em-dash or em-rule (the length of an 'm') are used far more infrequently, and are used for breaks in the text or subject, often used much as we used parentheses. In contrast to parentheses an em-dash can be used alone; e.g. What could these results mean—that Niel had discovered the meaning of life? En-dashes and em-dashes should not be spaced.

6) Legends of **illustrations** should be listed after the list of references. Small illustrations should be grouped into plates. When preparing illustrations, authors should bear in mind that the journal has a matter size of 21 cm by 14 cm and is printed on A4 paper. For species illustration, line drawings are preferred, although good quality B&W or colour photographs are also acceptable. See a guide [here](#) for detailed information on preparing plates for publication.

7) **Tables**, if any, should be given at the end of the manuscript. Please use the table function in your word processor to build tables so that the cells, rows and columns can remain aligned when font size and width of the table are changed. Please do not use Tab key or space bar to type tables.

Our typesetters can easily convert this to a proper format as in this [PDF file](#).

Deposition of specimens Whenever possible, authors are advised to deposit type specimens in national or international public museums or collections. Authors are also advised to request registration numbers of deposited material in advance of the acceptance of papers to avoid unnecessary delay of publication. Some countries (e.g. Australia) require that primary type specimens be deposited in collections of the country of origin; authors are advised to take this into consideration.

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA ZOOMORPHOLOGY

Manuscript submission

Manuscripts must be submitted to the Chief Editor.

Submission of manuscripts in electronic form is encouraged. Please save your file in two different formats:

- RTF (Rich Text Format) or Microsoft Word compatible formats
- PDF (a single PDF file including text, tables and figures)

After acceptance for publication, authors should send the electronic version of the manuscript to the Chief Editor.

The journal publishes Original papers and Reviews.

Original papers should present substantial new results that have never been published or submitted elsewhere; they should not exceed 10 printed pages (one printed page corresponds to approximately: 850 words text, or 3 illustrations with their legends, or 55 references) and should be arranged as detailed below.

Reviews should not exceed 25 printed pages. Please contact the Editor-in-Chief prior to submission.

Legal requirements

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before (except in the form of an abstract, or as part of a published lecture, or thesis); that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

The "Copyright Transfer Statement" has to be signed and faxed to the publisher together with the corrected proofs (see below) with which it will be provided by the publisher shortly after the manuscript has been accepted for publication.

Manuscript preparation

- All manuscripts are subject to peer review and copy editing.
- Manuscripts must be written in English and should be typed double-spaced throughout (including acknowledgements, references, tables, and figure legends) with a margin of at least 3 cm on each side.
- Use a normal, plain font (*e.g.*, Times New Roman) for text.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- For indents use tab stops or other commands, not the space bar.
- Abbreviations should be defined at first mention in the abstract and again in the main body

of the text and used consistently thereafter.

- Essential footnotes to the text should be numbered consecutively and placed at the bottom of the page to which they refer.

- Generic and specific names should be written in italics, but authors of scientific names of the genus and species group should not be italicized; they are not to be abbreviated.

- Nomenclature

- Names for higher taxa should refer to monophyletic units, not to paraphyla (use, e.g., Teleostei or Plathelminthes but not designations such as Pisces or Turbellaria). International nomenclature conventions must be observed, especially the International Code of Zoological Nomenclature (IRZN). At first mention, a specific name should be cited with nomenclatural author and year, e.g. *Catenula lemmnae* (in italics) Dugès, 1832. Authors unfamiliar with the taxonomy of the group to which a species belongs should consult an expert to ensure that it is properly identified and that the correct name is used.

Please arrange your manuscript as follows:

Title page

Including name(s) of author(s), a concise and informative title, affiliation(s) of the author(s), e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author.

Abstract

Each paper must be preceded by an abstract containing the most important results and conclusions in no more than 250 words.

Key words

Immediately following the abstract no more than five keywords should be given. They should preferably be taken from BIOSIS or be composed by analogy on the same principle.

The Introduction

should be brief and state the purpose of the work in relation to other work in the same field. It should not present an extensive review of the literature and contain the scientific question or testable hypothesis that led to the study.

The Materials and methods section

should provide enough information to permit repetition of the experimental work. This section will be set in small print.

The Results section

should present the findings of the research, supported by statistical or illustrative validation of the assertions. It should be free of discussion.

The Discussion section

should cover but not simply repeat the new findings presented in Results, setting these in context and interpreting them with a minimum of speculation. It should refer to the question/hypothesis mentioned in the Introduction.

References

Literature citations in the text should indicate the author's surname with the year of publication in parentheses, e.g. Carlin (1992); Brooks and Carlin (1992). If there are more than two authors, only the first should be named, followed by "et al."

References at the end of the paper should be listed in alphabetical order by the first author's name. If there is more than one work by the same author or team of authors in the same year, a, b, etc. is added to the year both in the text and in the list of references.

*Journal papers: name(s) and initial(s) of all authors; year; full title; journal title abbreviated in accordance with international practice; volume number; first and last page numbers

Example:

Gemballa S (2004) The musculoskeletal system of the caudal fin in basal Actinopterygii: heterocercy, diphycercy, homocercy. *Zoomorphology* 123: 15-30

If available, the Digital Object Identifier (DOI) of the cited literature should be added at the end of the reference in question.

Example:

Van Wassenbergh S, Herrel A, Adriaens D, Aerts P (2003) Effects of jaw adductor hypertrophy on buccal expansions during feeding of air breathing catfishes (Teleostei, Clariidae). *Zoomorphology* DOI 10.1007/s00435-003-0090-3

*Single contributions in a book:

name(s) and initial(s) of all authors; year; title of article; editor(s); title of book; edition; volume number; publisher; place of publication; page numbers

Example:

Farquhar GD, Caemmerer S von (1982) Modelling of photosynthetic response to environmental conditions. In: Lange OL, Nobel PL, Osmon CB, Ziegler H (eds) *Encyclopedia of plant physiology, NS. Physiological plant ecology II, vol 12 B*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 550–587

*Book:

name and initial(s) of all authors; year; title; publisher; place of publication

Example:

Horváth G, Varjú D (2004) *Polarized Light in Animal Vision*. Springer, Berlin Heidelberg New York

Tables and figures

Tables must be numbered consecutively with arabic numerals and submitted separately from the text. They should have a title explaining any abbreviation used in that table.

Illustrations must be restricted to the minimum needed to clarify the text. All figures (photographs, graphs or diagrams) should be cited in the text, and numbered consecutively throughout. Figure parts should be identified by lower-case roman letters (a, b, etc.). If illustrations are supplied with uppercase labeling, lower-case letters will still be used in the figure legends and citations.

A scale bar with the length stated should be marked on each photomicrograph, etc., so that absolute sizes are clearly apparent and any reduction is automatically compensated for. On no account should magnifications be expressed by notes in the legends either of the lengths of the scale bar or of the magnification factors (e.g., x7,000; x80,000).

Figure legends must be brief, self-sufficient explanations of the illustrations. The legends should be placed at the end of the text. Submit all figures as separate files and do not integrate them within the text.

- Line drawings

Inscriptions should be legible, with initial capital letters and appropriately scaled to the size of the drawing (letters 2 mm high are recommended). Scanned line drawings should be digitized with a resolution of 800 dpi relative to the final figure size.

- Computer drawings

Computer drawings are acceptable provided they are of comparable quality to line drawings (minimum resolution of 300 dpi). Computer-drawn curves and lines must be smooth. Lettering must be of high quality; Helvetica is the preferred font. Lettering fonts must be consistent within and among all figures.

- Halftone illustrations (black and white and color)

Sharp, well-contrasted photographic prints trimmed at right angles and in the desired final size should be submitted. Inscriptions should be about 3 mm high. For scanned halftone illustrations, a resolution of 300 dpi is usually sufficient, TIFF is the preferred file format.

- Color illustrations

Color figures will always be published in color in the online version. In print, however, they will only appear in color if the author agrees to make a contribution of Euro 950/US \$ 1,150 (plus VAT) per article. Otherwise the figures will be printed in black and white.

Save color illustrations as RGB (8 bits per channel) in TIFF format.

- Plates

Several figures or figure parts should be grouped in a plate on one page. If figures are mounted on flexible white drawing paper, for technical reasons the paper should not exceed 0.4 mm in thickness and about 300 g/m² in weight.

- Vector graphics

Fonts used in the vector graphics must be included. Please do not draw with hairlines. The minimum line width is 0.2 mm (i.e., 0.567 pt) relative to the final size. EPS is the preferred file format. EPS files must always contain a preview in TIFF of the figure.

- Size of figures

The figures, including legends, should either match the column width (86 mm) or the print area of 176 x 236 mm. In case reduction is absolutely necessary, please state the alternative scale desired. The publisher reserves the right to reduce or enlarge illustrations.