UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
MUSEU DE ZOOLOGIA

Joel Lastra Valdés

**Abordagem comparativa sobre a estrutura e a histologia do órgão
de vom Rath em ninfalídeos (Lepidoptera: Nymphalidae)**

São Paulo
2018

JOEL LASTRA VALDÉS

**Abordagem comparativa sobre a estrutura e a histologia do órgão
de vom Rath em ninfalídeos (Lepidoptera: Nymphalidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências (Sistemática, Taxonomia Animal e Biodiversidade).

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Duarte da Silva

São Paulo
2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Serviço de Biblioteca e Documentação
Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

Cataloging in Publication

Lastra-Valdés, Joel

Abordagem comparativa sobre e a histologia do órgão de vom
Hath em ninfalídeos (Lepdoptera: Nymphalidae). / Joel Lastra-
Valdés; orientador Marcelo Duarte da Silva. São Paulo, 2018.

65 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em
Sistemática, Taxonomia e Biodiversidade, Museu de Zoologia,
Universidade de São Paulo, 2018.

Versão corrigida

Nome: LASTRA-VALDÉS, Joel

Título

Abordagem comparativa sobre a estrutura e a histologia do órgão de vom Rath em ninfalídeos (Lepidoptera: Nymphalidae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências (Sistemática, Taxonomia Animal e Biodiversidade).

Aprovado: ____ / ____ / ____

Comissão Julgadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

A minha família que morre de saudades

**Ao Alfonso que não pode estar presente hoje
Muito obrigado!**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, devo agradecer ao Professor Marcelo Duarte da Silva por me ter aceitado desde o primeiro email. Todas as grandes experiências vividas nos últimos dois anos são consequência daquele momento em que lhe solicitei ser meu orientador. Por ter confiado em mim para assumir o grande desafio de orientar uma dissertação com uma temática tão complexa, até porque era toda uma experiência nova para ambos. Espero continuar colaborando no futuro. Muito obrigado por toda a experiência e profissionalismo compartilhados.

Aos colegas e amigos do Museo Nacional de Historia Natural de Cuba, e ao CITMA, por terem aceito minha vinda ao Brasil. Muitas saudades de Esteban (suas histórias são bem conhecidas aqui), Xochitl, Joao, Luis, Ormaily, Tony, Sandra, Marcel, Osmany, Pedro, Cesar, Alejandro García e Alejandro o astrônomo. Um especial agradecimento à Laura e à Surinay por todo o apoio oferecido para minha vinda ao Brasil.

Ao pessoal da Sala de Lepidoptera do MZUSP, Rafael (será citado várias vezes), Lucas, Lívia, Elias, Anderson, e Higor pela troca de experiências. Um especial agradecimento ao Renato por todo o profissionalismo exercido, amizade, e a sua família tão hospitalar.

Ao Museu de Zoologia da USP (MZUSP) por toda a infraestrutura disponibilizada e pelo profissionalismo de todos os funcionários, técnicos, professores, pós-graduandos. Foi muito grato ser parte da instituição. Espero continuar sendo-o. À CAPES pela bolsa de estudo concedida ao longo do presente estudo.

Às tantas pessoas que me ajudaram a encontrar o modo de fazer cortes histológicos numa estrutura complicada demais. Ao Leonardo Oliveira da Sala de Herpetologia quem me mostrou as bases do procedimento histológico. Ao Maurício Martins por me dar o contato do Zé, por sua preocupação e solidariedade. A todos meus amigos do Laboratório de Histofisiologia Evolutiva do Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento do ICB da USP. Aprendi muito de vocês e gostei demais de conhecê-los. Começando pelo Professor José Roberto Machado Cunha da Silva, quem me deu todo o apoio e fez tanta questão por meu sucesso. Ao Andrews, Letícia, Will, Norton, Amanda, Luciana, Michelle, Renan, Douglas. De todos precisei e todos me ajudaram durante minha estadia. Ao Alfonso quem é responsável de que eu fizesse meus cortes histológicos. Sua ajuda foi vital. Lamentavelmente não conseguiu chegar ao final da minha dissertação e dei muito aceitar isso. A ele está dedicado o presente documento. À Dra. Gladdys Pinna por sua disposição para me ajudar. Ao Mário Valentim Cruz do Laboratório de MEV do IB pelo grato serviço feito com tanta urgência. À Paulina Arce do borboletario de Osasco por sua colaboração e apoio.

A meus colegas da UNICAMP pela parceria. Sem eles não teria pego meus exemplares. Muito obrigado à Junia, Patrícia e ao André. Ao pessoal da Fundação Serra do Japi por me derem o acesso à área. Muito agradecido ao Ronaldo por sua hospitalidade e profissionalidade.

À Leda, Félix e Denise. Lhes devo uma visita logo!

Aos moradores da República 152. Não é pelos R\$ 6,30! A todos os que moraram no AP. Rafael (de novo), Luiz, Vinícius, Elias, Rafaela, aos que só estiveram um fim de semana. São tantos! Aos vizinhos do Almeria-MZ. Priscila, Fernanda, Manu, Ilana. Estou indo embora de um lugar onde me senti bem demais. Muito obrigado! Ao William por sua hospitalidade.

À Aline por tanto apoio e por sua sincera amizade. O computador em que escrevo foi doação dela. Obrigado ao França, a todos os Lollapalozers, em especial a Juliana e ao Michel. Grandes momentos!

Ao Higor, a quem lhe desejo tudo de bom. Já combinaremos outro Matahari. Ao Matahari obviamente.

À Sheyla por tantas risadas e bons momentos juntos. Bora para Vitória! Abraços para Bibi e para Sussa.

À Sueli Feliziani, quem chegou para me preencher a vida de tantas coisas boas, por tanta esperança e felicidade. Por todo seu apoio emocional e por sua ajuda vital para que eu pudesse fazer meus cortes histológicos no ICB, para que eu pudesse escrever e apresentar esta dissertação. Nunca o teria conseguido! Luv U!

Ao Ernesto por me ter acompanhado tão longe de casa. Por todo seu apoio nos últimos momentos.

Um especial parágrafo ao Rafael! Muito obrigado pela amizade tão proveitosa e sincera. À sua família que me acolheu tão hospitalarmente no Natal. Um grande abraço à Dona Cássia. Rafa, só vou dizer YA!

A minha família e amigos de Cuba, que a tantas saudades foram condenados por minha decisão de viajar ao Brasil. A meu tio e meus primos dos Estados Unidos por me apoiarem tanto para que eu pudesse viajar e realizar meus sonhos.

A todos meus amigos deste lindo país.

¡MUCHAS GRACIAS!

“Tente outra vez”

Raul Seixas

RESUMO

O órgão de vom Rath localiza-se na extremidade distal do terceiro artículo do palpo labial e é uma das sinapormorfias reconhecidas para os lepidópteros (Insecta: Lepidoptera). O conhecimento sobre a morfologia estrutural e histológica desse órgão é ainda bastante escasso. Descreve-se a estrutura com auxílio de microscopia eletrônica de varredura e a histologia do órgão de vom Rath para quatro espécies de Nymphalidae, três frugívoras: *Fountainea ryphea* (Charaxinae: Anaeini), *Morpho helenor achillaena* (Satyrinae: Morphini) e *Hamadryas epinome* (Biblidinae: Ageroniini), além da espécie nectarívora *Aeria olena* (Danainae: Ithomiini). Documentaram-se diferenças significativas entre as espécies com relação ao formato da cavidade, morfologia e disposição das cerdas, forma e localização da abertura, organização dos grupos celulares associados, tipo de axônio e grau de desenvolvimento. Tais diferenças não parecem estar relacionadas aos hábitos alimentares. Por sua vez, não foram encontrados grupos celulares em *Actinote thalia* (Heliconiinae: Acraeini) e *Heliconius erato phyllis* (Heliconiinae: Heliconiini), sendo que a ausência do órgão de vom Rath é documentada pela primeira vez no clado Ditrysia. É proposta uma terminologia para melhorar o entendimento da morfologia do órgão de vom Rath, com análise crítica das descrições realizadas por outros autores.

Palavras-chave: Órgão de vom Rath. Nymphalidae. Lepidoptera. Palpos Labiais, Histologia, MEV.

ABSTRACT

The vom Rath's organ is located at the distal end of the third joint of labial palpi and is one of the recognized synapomorphies of Lepidoptera (Insecta). The knowledge about the structural and histological morphology of this organ is scarce. The structure is described using scanning electron microscopy (SEM) and histology for four species of Nymphalidae, three frugivorous: *Fountainea ryphea* (Charaxinae: Anaeini), *Morpho helenor achillaena* (Satyrinae: Morphini) and *Hamadryas epinome* (Biblidinae: Ageroniini), besides the nectarivorous species *Aeria olena* (Danainae: Ithomiini). Significant differences were recorded among species in relation to the shape of the cavity, morphology and arrangement of the setae, shape and location of the opening, organization of the associated cell groups, type of axon and degree of development. Such differences do not seem to be related to eating habits. No cell groups were found in *Actinote thalia* (Heliconiinae: Acraeini) and *Heliconius erato phyllis* (Heliconiinae: Heliconiini), and the absence of the vom Rath's organ is documented for the first time in the Ditrysia clade. A terminology is proposed for a better understanding of the morphology of the organ, with a critical analysis of the previous descriptions.

Keywords: vom Rath's Organ .Nymphalidae. Lepidoptera. Labial palps. Histology. SEM.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, FIGURAS

- Figura 1.** Ilustrações das descrições originais do órgão de vom Rath; **A)** Seção longitudinal do artículo distal de *Argynnis paphia* (Linnaeus, 1758) (Nymphalidae: Heliconiinae: Argynnini) à esquerda e de um geometrídeo à direita. a – abertura do tubo, b – nervo estendendo-se ao longo do palpômero. Adaptado de Hicks (1860); **B)** Seção longitudinal do artículo distal do palpo labial de *Pieris* sp. (Pieridae: Pierinae). c – cone sensorial, cs – célula sensorial, e – escama, h – hipoderme, n – nervo, q – quitina. Adaptado de vom Rath (1888). 3
- Figura 2.** Hipótese filogenética de Nymphalidade e classificação em subfamílias e tribos aceita no presente projeto (adaptado de Wahlberg & Brower -<http://tolweb.org/Nymphalidae/12172>). Os grupos em vermelho são aqueles em que a grande maioria das espécies apresenta hábitos frugívoros; os grupos em azul possuem alguns representantes frugívoros. N=Representado no Neotrópico. 11
- Figura 3.** Diagrama de vectores usado para medir o comprimento dos palpos no presente estudo com o uso do software TPS. O comprimento é o resultado da soma de cada um dos vectores. 19
- Figura 4.** Processo curatorial usado no presente estudo. **A)** Caixa entomológica com material-testemunho do presente trabalho depositado na Coleção de Lepidoptera do Museu de Zoologia da USP; **B)** e **C)** Ependorfes com palpos em álcool 70%; **D)** Bloco de historesina colado em suporte de madeira; **E)** Caixas de lâminas histológicas; **F)** Lâmina com cortes histológicos com numeração padronizada: indivíduo 77 (ver Anexo A), lâmina 20 e cortes mantendo sequência anatômica do palpo no plano sagital. 20
- Figura 5.** Detalhes dos palpos labiais de *Fountainea ryphea* (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeini) (♀). **A)** Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas 1 mm) **D)** Detalhe do palpômero distal e órgão de vom Rath (**ovr**) (escala 150 µm). 23
- Figura 6.** Fotografias de microscopia eletrônica de varredura do órgão de vom Rath de *Fountainea ryphea* (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeini) (♀). **A)** Abertura do órgão (escala 6 µm); **B)** Corte longitudinal do órgão (escala 20 µm). Abertura (**a**), átrio (**at**), cerdas piliformes (**cp**), gargalo (**g**), cerdas celocônicas (**sc**). 24
- Figura 7.** Cortes histológicos no plano sagital do órgão de vom Rath de *Fountainea ryphea* (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeini) (♀). **A)** Corte em toda a extensão da anatomia do órgão (escala 50 µm); **B)** Corte profundo mostrando apenas a porção de maior diâmetro da cavidade do órgão (escala 20 µm). Abertura (**a**), átrio (**at**), axônio (**ax**), gargalo (**g**), grupos celulares (**gc**). 25
- Figura 8.** Detalhes dos palpos labiais de *Morpho helenor achillaena* (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Morphini) (♀). **A)** Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas de 1 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal e órgão de vom Rath (**ovr**) (escala 150 µm). 27
- Figura 9.** Fotografias de microscopia eletrônica de varredura do órgão de vom Rath de *Morpho helenor achillaena* (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Morphini) (♂). **A)** Abertura do órgão (escala 20 µm); **B)** Corte longitudinal do órgão (escala 20 µm). Abertura (**a**), cerdas piliformes (**c**), cerdas celocônicas (**sc**). 28

- Figura 10.** Cortes histológicos no plano sagital em toda a extensão da anatomia do órgão de vom Rath de *Morpho helenor achillaena* (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Morphini). **A)** Corte mostrando abertura (**a**) e grupos celulares (**gc**) (♀); **B)** corte mostrando abertura (**a**) e axônio (**ax**) (♂). Escalas 20 µm. 29
- Figura 11.** Detalhes dos palpos labiais de *Hamadryas epinome* (Felder & Felder, 1867) (Biblidinae: Argeroniini) (♂). **A)** Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna; (escalas de 1 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal e órgão de vom Rath (**ovr**) (escala 150 µm). 31
- Figura 12.** Fotografias de microscopia eletrônica de varredura do órgão de vom Rath de *Hamadryas epinome* (Felder & Felder, 1867) (Biblidinae: Argeroniini) (♀). **A)** Abertura do órgão (escala 12 µm); setas indicando cerdas piliformes (**cp**) e celocônicas (**sc**); **B)** Tentativa de corte longitudinal do órgão (escala 20 µm). Abertura (**a**), zona do átrio (**at**)..... 32
- Figura 13.** Corte histológico no plano sagital em toda a extensão da anatomia do órgão do órgão de vom Rath de *Hamadryas epinome* (Felder & Felder, 1867) (Biblidinae: Argeroniini) (♀), grupos celulares (**gc**). Escala 20 µm. 33
- Figura 14.** Detalhes dos palpos labiais de *Aeria olena* Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini) (♂). **A)** Posição anatômica (escala 1 mm); **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas 0,5 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal e órgão de vom Rath (**ovr**) (escala 150 µm)..... 34
- Figura 15.** Fotografia de microscopia eletrônica de varredura da abertura do órgão de vom Rath de *Aeria olena* Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini) (♂). Nota-se a presença de cerdas planas (**cp**). Escala 10 µm..... 35
- Figura 16.** Corte histológico no plano sagital em toda a extensão da anatomia do órgão do órgão de vom Rath de *Aeria olena* Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini) (♂). Abertura do órgão (**a**), axônio (**ax**), grupos celulares (**gc**). Escala 20 µm. 36
- Figura 17.** Detalhes dos palpos labiais de *Actinote thalia* (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini)(♂). **A)** Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas de 1 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal (escala 150 µm). 37
- Figura 18.** Fotografia de microscopia eletrônica de varredura da região terminal do palpo labial de *Actinote thalia* (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini) (♂). Nota-se uma depressão pequena onde se deveria localizar o órgão de vom Rath (?), porém não se observam cerdas em seu interior. Escala 20 µm. 38
- Figura 19.** Corte histológico no plano sagital em toda a extensão do extremo distal do palpo labial de *Actinote thalia* (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini) (♂). Nota-se a ausência de grupos celulares no palpômero distal associados à possível existência do órgão de vom Rath. Escala 50 µm. 38
- Figura 20.** Detalhes dos palpos labiais de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini) (♂). **A)** Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas de 1 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal (escala 150 µm). 40

- Figura 21.** Fotografia de microscopia eletrônica de varredura da região terminal do palpo labial de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini) (♂), aparentemente desprovida do órgão de vom Rath. Escala 40 µm..... 41
- Figura 22.** Corte histológico no plano sagital em toda a extensão do extremo distal do palpo labial de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini) (♂). Grupos celulares ausentes na porção distal do palpômero. Escala 50 µm. 41

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Relação de indivíduos por espécie e sexo processados histologicamente.	16
Tabela II. Relação de indivíduos por espécie e sexo usados para análise de estrutura.	17

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES, FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	xi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Estado atual do conhecimento da morfologia do órgão de vom Rath: uma visão crítica	1
1.2 Qual a função do órgão de vom Rath?.....	6
1.3 Grupo de estudo: Família Nymphalidae Rafinesque, 1815.....	9
2 JUSTIFICATIVAS.....	12
3 OBJETIVOS	13
4 MATERIAIS E MÉTODOS	14
4.1 Escolha das espécies	14
4.2 Coleta e fixação dos indivíduos	14
4.3 Histologia e estrutura do órgão de vom Rath	15
4.3.1 Procedimento histológico	16
4.3.2 Análise de estrutura: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	17
4.4 Descrições dos palpos	18
4.5 Curadoria.....	19
4.6 Comentários adicionais	21
5 RESULTADOS	22
5.1 Ninfalídeos frugívoros	22
5.1.1 <i>Fountainea ryphea</i> (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeini).....	22
5.1.2 <i>Morpho helenor achillaena</i> (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Morphini)	26
5.1.3 <i>Hamadryas epinome</i> (Felder & Felder, 1867) (Biblidinae: Ageroniini)	30
5.2 Ninfalídeos nectarívoros	33

5.2.1	<i>Aeria olena</i> Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini)	33
5.2.2	<i>Actinote thalia</i> (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini)	36
5.2.3	<i>Heliconius erato phyllis</i> (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini).....	39
6	DISCUSSÃO	42
6.1	Sobre padrões morfológicos do órgão de vom Rath e terminologia	42
6.2	Sobre a ausência do órgão de vom Rath em <i>Actinote thalia</i> e <i>Heliconus erato</i>	44
6.3	Sobre o grau de desenvolvimento do órgão de vom Rath.....	45
7	CONCLUSÕES.....	47
8	REFERÊNCIAS	48
9	ANEXOS	57

1 INTRODUÇÃO

Lepidoptera (mariposas e borboletas) é a segunda ordem mais diversa de Insecta e conta com aproximadamente 160.000 espécies distribuídas em 43 superfamílias e 139 famílias atuais (van Nieukerken *et al.*, 2011, Regier *et al.*, 2015; Heikkilä *et al.*, 2015), das quais três famílias foram recentemente descritas (Kristensen *et al.*, 2015; Regier *et al.*, 2015). As borboletas constituem apenas seis famílias (van Nieukerken *et al.*, 2011 consideram sete, com a inclusão de Hedylidae), totalizando cerca de 19.000 espécies, aproximadamente 12% da diversidade da ordem (Heppner, 1991).

As borboletas constituem um dos grupos mais bem estudados de insetos porque são facilmente amostradas na natureza, sua identificação é relativamente fácil e possuem apelo carismático com o público. São consideradas importantes bioindicadores em programas de conservação e manutenção de áreas protegidas (New, 1997; Bonebrake *et al.*, 2010), por responderem rapidamente às perturbações nos ecossistemas, além de terem íntima associação com seus microhábitats (Brown, 1997; Freitas *et al.*, 2003).

A monofilia da ordem é bem sustentada por 24 sinapomorfias (Kristensen *et al.*, 2007). Entre elas, a presença de uma depressão no artículo distal dos palpos labiais, conhecida como órgão de vom Rath. Apesar de sua descoberta ter ocorrido no século XIX (Hicks, 1860), com descrição posterior mais detalhada por vom Rath (1887), ainda são escassos os trabalhos sobre essa estrutura. Devido à importância das sinapomorfias como base nos estudos de filogenia e evolução (Hennig, 1965), acredita-se que o órgão de vom Rath possa fornecer dados filogeneticamente informativos (Kristensen, 1984; Kristensen *et al.*, 2007), porém, a carência de descrições anatômicas e histológicas dificulta sua utilização nesses estudos. Aliás, as sinapomorfias constituem inovações evolutivas e seu estudo é vital no entendimento da evolução dos diferentes grupos (Hennig, 1965).

1.1 Estado atual do conhecimento da morfologia do órgão de vom Rath: uma visão crítica

Hicks (1860) descreveu o órgão de vom Rath pela primeira vez como uma depressão no ápice do terceiro artículo dos palpos labiais. Documentou que o órgão variava desde uma mera depressão como em *Malacosoma neustria* (Linnaeus, 1758) (Lasiocampidae) a uma

estrutura em formato de tubo estendendo-se internamente até a metade, ou mais, do comprimento do artículo. O órgão pode apresentar um diâmetro constante em toda sua extensão, ou dilatar-se formando uma cavidade no extremo mais interno. O autor nunca encontrou ausência do órgão após ter revisado um grande número de espécies, sem especificar quais. Também notou a existência de um nervo conectado especificamente ao órgão. Por último, ilustrou dois esquemas do órgão, um para *Argynnis paphia* (Linnaeus, 1758) (Nymphalidae: Heliconiinae: Argynnini) e outro referente a um geometrídeo (Figura 1 A).

Posteriormente, vom Rath (1887) documentou a presença do órgão em todas as borboletas e mariposas estudadas por ele, sem mencionar quais foram. Descreveu o órgão como uma depressão geralmente em forma de garrafa no artículo distal dos palpos labiais, com abundantes cerdas sensoriais em forma de cone na base. A abertura externa é rodeada por cerdas pouco espaçadas, enquanto o gargalo ou tubo é ocupado com abundantes cerdas piliformes oblíquas em direção à abertura, de tal forma que o órgão fica protegido do exterior. Cada cerda é associada a uma célula sensorial localizada na epiderme, entretanto um nervo bem desenvolvido se espalha conectando-se com todas as células sensoriais.

vom Rath (1888) acrescentou ainda que a forma do órgão e o tamanho relativo do palpo variavam notavelmente entre os gêneros. O tubo pode ser curto ou longo, enquanto a amplitude da cavidade é bem variável. Por exemplo, *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) e *Agrius convolvuli* Linnaeus, 1758, ambas da família Sphingidae, apresentam um gargalo curto e uma cavidade ampla. A abertura do órgão pode não estar localizada exatamente na ponta do artículo distal, às vezes posicionando-se levemente subterminal, mas o autor não exemplificou essas variações. Por último, ilustrou o palpo de *Pieris* sp. (Pieridae: Pierinae) (Figura 1 B).

O formato do órgão de vom Rath em linhagens basais não-Ditrysia de Lepidoptera varia desde uma cavidade moderadamente profunda em Micropterigidae, Heterobathmiidae (Kristensen, 1998) e Incurvariidae (Nielsen & Davis, 1981), até uma cavidade muito profunda, como observado em Agathiphaeidae, com abertura reduzida dificultando a observação das sensilas em vista externa (Kristensen, 1998). Por sua vez, Chauvin & Faucheux (1981) registraram a presença de duas cavidades apicais no artículo distal dos

palpos labiais de *Micropterix calthella* Linnaeus, 1761 (Micropterigidae), e consideraram a maior delas (15 μ m de diâmetro) como o órgão de vom Rath, o qual apresenta 15 cerdas celocônicas com quatro a seis pontas. Entretanto, a cavidade pode estar ausente, sendo apenas uma área coberta de sensilas quimiorreceptoras como em Mnesarchaeidae (Kristensen, 1968) e Neopseustidae (Kristensen, 1968, Davis, 1975). Ao contrário, na maioria das espécies de Palaephatidae, o órgão de vom Rath é nitidamente desenvolvido com aberturas largas, e em alguns casos tem a capacidade de se everter (Davis, 1986).

Figura 1. Ilustrações das descrições originais do órgão de vom Rath; **A)** Seção longitudinal do artículo distal de *Argynnis paphia* (Linnaeus, 1758) (Nymphalidae: Heliconiinae: Argynnini) à esquerda e de um geometrídeo à direita. a – abertura do tubo, b – nervo estendendo-se ao longo do palpômero. Adaptado de Hicks (1860); **B)** Seção longitudinal do artículo distal do palpo labial de *Pieris* sp. (Pieridae: Pierinae). c – cone sensorial, cs – célula sensorial, e – escama, h – hipoderme, n – nervo, q – quitina. Adaptado de vom Rath (1888).

Em Ditrysia, as descrições mais detalhadas do órgão são geralmente oriundas dos poucos estudos existentes acerca da fisiologia de detecção de gás carbônico (Lee *et al.*, 1985; Bogner *et al.*, 1986; Kent *et al.*, 1986; Stange *et al.*, 1995), ou em descrições gerais de estruturas sensoriais encontradas nos insetos (Faucheux & Chauvin, 1980; Faucheux, 1991).

Na maioria dos casos, o órgão de vom Rath é apenas mencionado em estudos gerais de morfologia de adultos, carecendo, portanto, de descrições detalhadas. Como exemplos destes trabalhos podemos mencionar: Orfila (1950) com *Archaeoprepona demophoon* (Hübner, [1814]) e *A. chromus* (Guérin-Méneville, [1844]) (Nymphalidae: Charaxinae: Preponini); Duarte *et al.* (2001) com *Hemiargus hanno* (Stoll, 1790) (Lycaenidae, Polyommatainae, Polyommataini); Bizarro *et al.* (2003) com *Thyridia psidii cetoides* (Rosenberg & Talbot, 1914) (Nymphalidae: Ithomiinae: Ithomiini); Mielke *et al.* (2004) com *Zaretyis ithys itylus* (Westwood, 1850) e *Prepona claudina anneta* (G. Gray, 1832) (Nymphalidae: Charaxinae: Anaeini, Preponini); de Camargo *et al.* (2005) com *Almeidaia aidae* Mielke & Casagrande, 1981 (Saturniidae) e Leite *et al.* (2010) com *Heraclides anchisiades capys* (Hübner, [1809]) (Lepidoptera: Papilionidae).

O primeiro trabalho com descrições detalhadas do órgão de vom Rath para Ditrysia foi realizado por Fauchaux & Chauvin (1980), como parte de um estudo comparativo das estruturas das peças bucais de cinco espécies de Tineidae: *Monopis crocicapitella* (Clemens, 1859), *Tinea rusticella* (Clerck, 1759), *T. pellationella* Linnaeus, 1758, *Tineola bisselliella* (Hummel, 1823) e *Trichophaga tapetzella* (Linnaeus, 1758). Eles documentaram diferenças entre as espécies e o número de cerdas presentes na cavidade do órgão de vom Rath (no caso de *T. bisselliella* apresenta somente uma cerda), além da distribuição, tamanho e formato das mesmas.

Em *Pieris rapae* (Linnaeus, 1758) (Pieridae), a abertura da estrutura é subterminal com 30 µm de diâmetro, podendo atingir 100 µm de profundidade com 80 sensilas distribuídas internamente na porção anterior do órgão. Essas sensilas são levemente claviformes e com a superfície sulcada por estrias longitudinais e com inúmeros poros entre elas, com 20 µm de comprimento, diâmetro basal de 3,5 µm em seguida se afinando para cerca de 1,0 µm e medindo, aproximadamente, 1,2 µm ao nível da porção clavada (Lee *et al.*, 1985). Os autores não descrevem o formato do órgão, porém, é muito possível que o esquema ilustrado por vom Rath (1888) (ver Figura 1 B) se refere a essa espécie ou *Pieris brassicae* (Linnaeus, 1758), dado que o nome comum das duas espécies em alemão é o mesmo (*Kohlweißling*), e, portanto, poderia ser em forma de garrafa segundo as palavras do próprio autor.

Manduca sexta (Linnaeus, 1763) (Sphingidae), por sua vez, apresenta aproximadamente 1.750 cerdas sulcadas por estrias longitudinais e abundantes poros. A abertura está no ápice do artículo distal do palpo, e tem cerca de 30 µm de diâmetro, entretanto o formato do órgão é em forma de frasco, com um gargalo estreito, e cavidade interna mais larga que atinge 200 µm de diâmetro e 300 µm em profundidade (Kent *et al.*, 1986). Analisando a figura mostrada pelos autores, nota-se que a cavidade apresenta dois lobos.

No caso de *Amerila (Rhodogastria)* spp. Walker, 1855 (Erebidae), a abertura do órgão de vom Rath é variável em diâmetro (35-70 µm) e cercada por microtríquias pontiagudas; o órgão propriamente dito mede 150 µm de profundidade e 80 µm de largura. Nessas mariposas, há um grupo denso de aproximadamente 200 sensilas de paredes lisas e formato uniforme, com 35 µm de comprimento e 3,5 µm de diâmetro em suas bases, cada uma se afinando e terminando em pontas dilatadas (Bogner *et al.*, 1986).

Em *Cactoblastis cactorum* (Berg, 1885) (Pyrilidae), os palpos apresentam um marcado dimorfismo sexual. Nas fêmeas (comprimento típico do corpo 21 mm), apontam para frente e medem aproximadamente 12% do comprimento do corpo, enquanto que o comprimento do artículo terminal representa cerca de 4%. Nos machos (17 mm de comprimento), posicionam-se ascendentemente e medem 6% do comprimento do corpo, e o artículo terminal cerca de 2,5%. A cavidade do órgão é coberta por uma camada densa em forma de dossel de aproximadamente 200 sensilas estreitadas na base (5-8 µm de comprimento e 1,5 µm de diâmetro), e na porção distal se expandem para formar uma estrutura em forma de folha (3-6 µm de comprimento e 3-4 µm de largura) (Stange *et al.*, 1995). Apesar das diferenças encontradas nos palpos de machos e fêmeas de *C. cactorum*, os autores não descreveram nem mediram o órgão de vom Rath, e, portanto se desconhece se ele poderia variar entre os sexos. Pelas fotografias disponibilizadas por Stange *et al.* (1995), a estrutura é profunda e tubular apresentando um diâmetro constante em toda sua extensão. Casos semelhantes em que o dimorfismo sexual restringe-se aos palpos labiais, ou seja, sem atingir ao formato e ao tamanho do órgão de vom Rath, assim como à morfologia, número e tamanho das cerdas, foram documentados posteriormente para *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Noctuidae) (Zhong *et al.*, 2013), *Mythimna separata* (Walker,

1865) (Noctuidae) (Dong *et al.*, 2014) e *Carposina sasakii* Matsumura, 1900 (Carposinidae) (Chen & Hua, 2016).

Zhao *et al.* (2013) descreveram o órgão de *H. armigera*. Nessa espécie a abertura localiza-se na extremidade do artículo distal do palpo, entretanto a cavidade tem formato de garrafa. Porém, nas fotografias publicadas por esses autores nota-se que nessa espécie a estrutura do órgão de vom Rath é tubular e levemente afunilada, não em forma de garrafa. Também documentaram a presença de dois tipos de cerdas. As cerdas do primeiro grupo são piliformes, com paredes lisas e localizam-se na metade distal da cavidade, mais próximas da abertura, enquanto que as demais cerdas são claviformes ocupando a porção mais interna. Esse dimorfismo no formato e na distribuição das cerdas foi primeiramente documentado por estes autores, porém, eles ressaltaram que essas variações podiam ser vistas na figura publicada por Stange *et al.* (1995) do órgão de *C. cactorum*. Por sua vez, o mesmo padrão é observado em *C. sasakii* a partir das fotos publicadas no trabalho de Chen & Hua (2016), porém esses autores não comentaram nada a respeito. As fotografias apresentadas por Bogner *et al.* (1986) de *Amerila (Rhodogastria)* spp. também poderiam ser interpretadas desse modo, só que eles consideraram as cerdas mais externas como microtríquias pontiagudas. Adicionalmente, é bom lembrar as palavras de vom Rath (1887) enfatizando que “(...) o gargalo é ocupado com abundantes pelos oblíquos em direção à abertura (...)”. Finalmente, em *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Tortricidae) foi registrada a presença adicional de cerdas piliformes bifurcadas, além das cerdas clavadas e das piliformes simples(=não bifurcadas) (Song *et al.*, 2016).

As descrições supracitadas resumem nosso conhecimento atual sobre a morfologia do órgão de vom Rath, e apesar de terem um grau razoável de detalhamento, cobrem somente 18 espécies pertencentes a 11 famílias de Ditrysia (Carposinidae, Erebididae, Geometridae, Lasiocampidae, Noctuidae, Nymphalidae, Pieridae, Pyralidae, Sphingidae, Tineidae e Tortricidae).

1.2 Qual a função do órgão de vom Rath?

Inicialmente, considerou-se que a função do órgão de vom Rath era quimiorreceptora, como também são os sensores presentes nas antenas, probóscide e nos tarsômeros (Lee *et al.*, 1985, Kent *et al.*, 1986). Bogner *et al.* (1986) registraram pela

primeira vez a detecção do CO₂ pelo órgão em três espécies de *Amerila* (*Rhodogastrina*) Walker, 1855 e em *Achaea lienardi* (Boisduval, 1833) (Noctuidae). Apesar de terem encontrado respostas a diferentes substâncias químicas, nenhuma delas foi maior do que as respostas ao CO₂. Posteriormente, Bogner (1990) documentou o mesmo fenômeno em outras espécies de diferentes famílias: *Argynnis paphia*, *Danaus chrysippus* (Linnaeus, 1758) (Nymphalidae: Danainae), *Antheraea pernyi* (Guérin-Méneville, 1855) (Saturniidae), *Autographa gamma* (Linnaeus, 1758) (Noctuidae), *Manduca sexta* (Sphingidae), *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Pyralidae: Galleriinae) e *Pieris brassicae* (Linnaeus, 1758) (Pieridae: Pierinae). Bogner (1990) demonstrou que o órgão de vom Rath seria especializado exclusivamente na detecção de CO₂, e que as respostas a diferentes substâncias químicas registradas por Lee *et al.* (1985) poderiam ter sido resultado da atividade basal do dióxido de carbono. As razões para as conclusões de Bogner (1990) incluíram: (1) a resposta a CO₂ é muito mais potente dentro de concentrações naturais; (2) é dose-dependente; e (3) as respostas a outras substâncias químicas são inibidas quando é eliminado o CO₂. Posteriormente, em estudos realizados por Stange (1992) em *Helicoverpa armigera* e por Stange *et al.* (1995) em *Cactoblastis cactorum*, discutiu-se e confirmou-se o papel exclusivo do órgão de vom Rath para a detecção do CO₂. Porém, recentemente, Sourakov *et al.* (2012) registraram atividade sensorial do órgão a diferentes compostos voláteis da banana fermentada utilizada para a captura da borboleta frugívora *Morpho helenor* (Cramer, 1776) (Nymphalidae: Satyrinae). Esses autores, no entanto, não realizaram testes para determinar a sensibilidade do órgão de vom Rath ao CO₂, nem consideraram as respostas aos compostos voláteis da fermentação em atmosfera livre de CO₂, demandando novas investigações segundo os critérios propostos anteriormente por Bogner (1990).

Especula-se bastante sobre as possíveis vantagens adaptativas da detecção do CO₂ pelos lepidópteros. Bogner (1990) postulou que essa adaptação é importante para localizar o alimento em mariposas lacrimófilas, borboletas frugívoras e na seleção de hospedeiros para *Galleria mellonella* Fabricius, 1798 (Pyralidae: Galleriinae), cujas lagartas vivem e se alimentam dentro de colmeias de abelhas. As mariposas, além disso, poderiam aproveitar os gradientes naturais de CO₂ para se orientar espacialmente no eixo vertical (Stange, 1992; Stange *et al.*, 1995), e também para auxiliar nas migrações (Stange, 1992). Porém, os estudos realizados até o momento comprovam somente o papel do CO₂ como pista para

avaliarem o estado fisiológico das plantas hospedeiras e as fontes de néctar e, desse modo, escolherem seus recursos.

A maioria dos lepidópteros alimenta-se de tecidos vegetais durante a fase larval, em geral de folhas (Scoble, 1992). Uma fêmea fecundada deve escolher, cuidadosamente, o sítio onde irá depositar seus ovos, posto que disso dependerá a qualidade e quantidade do alimento que terão seus descendentes. Uma alta taxa fotossintética se traduz em maiores mudanças nos gradientes de CO_2 perto das folhas (Guerenstein & Hildebrand, 2008), podendo ser uma pista do estado fisiológico da planta, ou seja, de sua qualidade como alimento. As folhas podem ser fontes ou consumidoras de CO_2 dependendo do tipo de metabolismo da planta e do ciclo circadiano. Assim, temos plantas CAM que capturam o CO_2 pela noite e durante o dia fecham seus estômatos (Winter *et al.*, 2008). Para as mariposas (em geral noturnas), as folhas de uma planta CAM são consumidoras de CO_2 , enquanto que para as borboletas (em geral diurnas) não são consumidoras nem fontes. No caso contrário, as plantas C_3 ou C_4 capturam o CO_2 durante o dia (consumidoras de CO_2 para borboletas) e pela noite mantêm os estômatos abertos permitindo a respiração (fontes de CO_2 para mariposas).

Foi bem demonstrado que o CO_2 tem um papel muito importante para as fêmeas de *Cactoblastis cactorum* selecionarem o sítio de oviposição (Stange *et al.*, 1995). Essa mariposa utiliza como planta hospedeira a espécie *Opuntia stricta* (Haworth, 1812) (Cactaceae), que apresenta metabolismo do tipo CAM, razão pela qual a pista para a fêmea seja gradiente negativo de CO_2 próximo da superfície da folha. Os autores consideram que o dimorfismo sexual referente aos palpos labiais, sendo maiores nas fêmeas, fortalece a hipótese sobre a importância da detecção de CO_2 para escolha do sítio de oviposição. Porém, não fica evidente se o dimorfismo atinge o órgão de vom Rath enquanto a formato, tamanho, número, tamanho e disposição das cerdas.

Foi proposto também um papel semelhante para *Manduca sexta*, mas nesta espécie todas as evidências são indiretas (Guerenstein *et al.*, 2004; Abrell *et al.*, 2005; Guerenstein & Hildebrand, 2008). As plantas hospedeiras desta mariposa são fontes noturnas de CO_2 . Entretanto, para *Pieris rapae* não se tem uma relação clara entre os ritmos fotossintéticos das plantas hospedeiras e o número de ovos (Langan *et al.*, 2001; Langan *et al.*, 2004). Para

esta espécie, acredita-se que o emprego de pistas visuais seja mais efetivo na oviposição (Ives, 1978; Renwick & Radke, 1988). Entretanto, para a maioria das espécies, as pistas olfativas parecem ter um papel central na escolha das plantas hospedeiras (Visser, 1986; Fadamiro *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010; Honda *et al.*, 2011).

Em muitas espécies de lepidópteros, os adultos se alimentam de néctar, embora existam outras que são frugívoras ou polinípagas (Scoble, 1992). Tanto as flores como os frutos são consumidores de CO₂ devido à atividade respiratória. Foi demonstrado que *Manduca sexta* emprega os gradientes negativos de CO₂ para avaliar a quantidade de néctar das flores de *Datura wrightii* Regel (Solanaceae) (Guerenstein *et al.*, 2004; Thom *et al.*, 2004). Porém, não existem experimentos semelhantes em outras espécies, e a maioria dos trabalhos são norteados na detecção de compostos químicos das flores pelas mariposas através de outras estruturas sensoriais (Dobson, 1994). Além disso, não é avaliado se as espécies frugívoras empregam como pista o CO₂ para localização e/ou avaliação do alimento, ideia que permanece especulativa (Bogner, 1990). Por sua vez, o emprego de pistas químicas é comum em outras estruturas sensoriais, como por exemplo, as antenas (Molleman *et al.*, 2005; Sourakov, 2012).

Em resumo, o que se conhece sobre a função do órgão de vom Rath é a detecção de CO₂, baseado em 13 espécies de lepidópteros (três delas borboletas) pertencentes a sete famílias (Erebidae, Noctuidae, Nymphalidae, Saturniidae, Sphingidae, Pieridae e Pyralidae). Essa função nunca foi testada em espécies com hábitos frugívoros, e o possível papel quimiorreceptor registrado em *Morpho helenor* (Sourakov *et al.*, 2012) é controverso porque os autores não seguiram os critérios de Bogner (1990). Das possíveis vantagens adaptativas da detecção do CO₂ pelo órgão, foram demonstradas somente a seleção da planta hospedeira em *Cactoblastis cactorum*, e a avaliação da quantidade de néctar das flores em *Manduca sexta*.

1.3 Grupo de estudo: Família Nymphalidae Rafinesque, 1815

A família Nymphalidae é a linhagem mais especiosa de Papilionoidea, ultrapassando 6.100 espécies no mundo (van Nieukerken *et al.*, 2011), e mais de 2800 na região Neotropical (Heppner, 1991). Nas duas últimas décadas, houve um grande esforço para determinar as relações filogenéticas dentro da família (Penz, 1999; Brower, 2000; Penz &

Peggie, 2003; Wahlberg *et al.*, 2003; Freitas & Brown, 2004; Wahlberg *et al.*, 2005; Peña *et al.*, 2006; Simonsen, 2006 a, b; Simonsen *et al.*, 2006; Wilmott & Freitas, 2006; Silva-Brandão *et al.*, 2008; Wahlberg *et al.*, 2009; Peña *et al.*, 2011; Ortiz-Acevedo & Wilmott, 2013). A partir desses estudos, novas propostas de filogenia e classificação foram apresentadas para as subfamílias e tribos (Wahlberg *et al.*, 2003; Freitas & Brown, 2004 – ver também Figura 2).

De acordo com a alimentação dos adultos, as espécies de Nymphalidae podem ser separadas em duas guildas: nectarívoras e frugívoras (DeVries, 1987). As frugívoras são mais facilmente capturadas em armadilhas contendo isca de fruta fermentada, de modo que a amostragem pode ser simultânea e o esforço pode ser padronizado em diferentes áreas e meses do ano (DeVries & Walla, 2001).

A frugivoria surgiu pelo menos cinco vezes durante a história evolutiva de Nymphalidae, de acordo com as hipóteses filogenéticas recentes (Figura 2). As espécies das subfamílias Biblidinae, Charaxinae e Satyrinae caracterizam-se por terem hábitos frugívoros, entretanto, dentro de Nymphalinae somente a tribo Coeni e poucas espécies de Nymphalini têm o mesmo hábito. Todos estes grupos estão bem representados no Neotrópico e na Mata Atlântica (Brown, 1992).

Figura 2. Hipótese filogenética de Nymphalidae e classificação em subfamílias e tribos aceita no presente projeto (adaptado de Wahlberg & Brower -<http://tolweb.org/Nymphalidae/12172>). Os grupos em **vermelho** são aqueles em que a grande maioria das espécies apresenta hábitos frugívoros; os grupos em **azul** possuem alguns representantes frugívoros. N=Representado no Neotrópico.

2 JUSTIFICATIVAS

Apesar de constituir uma novidade evolutiva em Lepidoptera, as descrições anatômicas e histológicas do órgão de vom Rath são bastante escassas. Isso implica que não seja possível elaborar hipóteses acerca da evolução dessa estrutura, e nem avaliar seu possível valor informativo em estudos de filogenia e taxonomia. Embora as evidências sugiram que a funcionalidade do órgão seja a detecção do CO₂, não se pode afirmar isso para todos os grupos dentro de Lepidoptera. O mesmo é aplicável ao nosso entendimento sobre o papel funcional da estrutura para a grande maioria dos táxons. Muitas questões precisam ser respondidas a respeito. No presente projeto, pretendemos iniciar uma linha de pesquisa que visa uma melhor compreensão sobre a estrutura e função do órgão de vom Rath.

3 OBJETVOS

Devido à importância das sinapomorfias em estudos de Sistemática Filogenética e Biologia Evolutiva (Hennig, 1965), e ao escasso conhecimento sobre a morfologia estrutural e histológica do órgão de vom Rath, sinapomorfia reconhecida para a ordem Lepidoptera (Kristensen *et al.*, 2007), pretendemos, no presente estudo:

- Descrever a morfologia estrutural e a histologia do órgão de vom Rath em seis espécies de ninfalídeos (Lepidoptera: Nymphalidae) neotropicais, incluindo representantes das duas guildas alimentares da família.
- Revisar a terminologia referentes à morfologia e formato do órgão de vom Rath para Ditrysia (Insecta: Lepidoptera).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Escolha das espécies

Foram escolhidas seis espécies para a descrição da morfologia estrutural e histológica do órgão de vom Rath: *Aeria olena* Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini), *Actinote thalia* (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini), *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini), *Fountainea ryphea* (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeini), *Morpho helenor achillaena* (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Maorphini), *Hamadryas epinome* (Felder & Felder, 1867) (Biblidinae: Argeroniini). Todas as espécies são comuns no Sudeste brasileiro (Brown, 1992), e podem ser coletadas facilmente nos meses mais quentes do ano. Aliás, estão representadas as duas guildas alimentares de Nymphalidae, com três frugívoras (*Fountainea ryphea*, *Morpho helenor* e *Hamadryas epinome*) e três nectarívoras (*Aeria olena*, *Actinote thalia* e *Heliconius erato*).

4.2 Coleta e fixação dos indivíduos

Para a coleta dos exemplares foram realizadas quatro expedições de campo à Reserva Biológica da Serra do Japi, Município Jundiaí, Estado de São Paulo, Brasil (23°14'S, 46°56' W; 1.049 msnm): abril, outubro, e novembro de 2017, e fevereiro de 2018. Adicionalmente, nos meses de novembro de 2017 e fevereiro de 2018, foi recebido material da consultoria proveniente da Mata de Santa Genebra, Parque Estadual Intervales, Municípios Guapiara (24°12'S, 48°30' W; 809 msnm) e Apiaí (24°21'S, 48°45' W; 905 msnm), Estado de São Paulo, Brasil.

As espécies frugívoras foram coletadas com armadilhas modificadas a partir do modelo Van Someren-Rydon (Freitas *et al.*, 2014), com iscas atrativas compostas por misturas de banana em decomposição e caldo de cana de açúcar. No caso das espécies

nectarívoras e polinífas, a coleta foi realizada ativamente com redes entomológicas. No total foram coletados 101 exemplares pertencentes às seis espécies escolhidas para o presente estudo (Anexo A).

Uma vez coletados, os indivíduos foram sacrificados por compressão torácica, e seguidamente lhes foram retirados os palpos labiais, à exceção dos exemplares de *A. olena*, que devido a seu pequeno tamanho retirou-se a cabeça inteira. Os palpos e as cabeças de *A. olena* foram depositados e fixados em frascos individuais contendo solução de McDowell (McDowell & Trump, 1976) (2,0 glutaraldído, 4,0 paraformaldeído, em 198 mOs PBS, ph=7,2) durante 24 horas. Logo após, os tecidos passaram por uma série alcoólica, permanecendo uma hora em cada concentração (10%, 30%, 50% e 70%). Já no etanol 70%, os tecidos se mantiveram conservados em frascos individuais devidamente identificados até seu processamento no laboratório.

Os indivíduos sacrificados com os palpos retirados ou decapitados, segundo o caso, foram depositados na coleção de Lepidoptera do Museu de Zoologia da USP.

4.3 Histologia e estrutura do órgão de vom Rath

Todo o procedimento histológico foi realizado no Laboratório de Histofisiologia Evolutiva do Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, sob a supervisão do Prof. Dr. José Roberto Machado Cunha da Silva. Com relação à análise de estrutura, esta se realizou no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Museu de Zoologia da USP, e no Laboratório de MEV do Instituto de Biociências da USP.

4.3.1 Procedimento histológico

No laboratório, as peças mantidas em álcool 70% passaram por uma série alcoólica, permanecendo 30 minutos em cada concentração (70%, duas de 90%, e duas de 100%). Em seguida, foram imersas na mistura historesina e etanol (proporção 1:1) durante quatro horas; posteriormente pernoitaram em resina pura, e finalmente foram incluídas em resina com endurecedor pelo período de 48 horas a 60°C. Os blocos, montados de modo a permitir cortes no plano sagital, eram cortados em micrótomo (American Optical Company, modelo 820), na espessura de 3 µm, utilizando facas de vidro. Os cortes foram distendidos em água fria levemente misturada com etanol, e seguidamente montados em lâminas de vidro de margem fosca devidamente identificadas, um por um para manter uma sequência anatômica. Para a coloração utilizou-se Azul de Toluidina 1% e Fucsina ácida 0,5%.

No total, foram realizados cortes histológicos para 42 exemplares, obtendo-se 1183 lâminas, das quais foram coradas 715, encontrando-se material do órgão de vom Rath em 238 (Tabela I).

Tabela I. Relação de indivíduos por espécie e sexo processados histologicamente.

Especie (sexo)	N	Lâmina	Coradas	Cortes com o órgão de vom Rath
<i>Fountainea ryphea</i> ♂	5	118	77	21
<i>Fountainea ryphea</i> ♀	5	132	70	26
<i>Morpho helenor</i> ♂	6	188	118	24
<i>Morpho helenor</i> ♀	3	106	59	20
<i>Hamadryas epinome</i> ♂	5	179	75	11
<i>Hamadryas epinome</i> ♀	2	37	33	10
<i>Aeria olena</i> ♂	4	61	61	11
<i>Aeria olena</i> ♀	2	14	14	2
<i>Heliconius erato</i> ♂	5	229	109	0
<i>Heliconius erato</i> ♀	1	36	36	0
<i>Actinote thalia</i> ♂	4	83	63	0
TOTAL	42	1183	715	125

Para a digitalização das imagens utilizou-se um microscópio de luz (Carl Zeiss Axio Scope A1) com apoio do software Zen2012 da Carl Zeiss (Blue Edition).

4.3.2 Análise de estrutura: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para análise de estrutura, foram removidas as escamas dos palpos labiais com o uso de micro-alfinetes e fita adesiva. Realizaram-se dois tipos de preparações: (I) o palpômero distal foi montado intacto no suporte do MEV, apenas com as escamas retiradas, para observar a abertura do órgão (tamanho e formato), e (II) o palpômero distal foi cortado aproximadamente no meio do órgão com auxílio de uma lâmina de barbear comum acoplada a um lápis mecânico, tentando visualizar as cerdas e assim descrever formato, número, tamanho e disposição. Não foi possível realizar o segundo tipo de preparação para todas as espécies estudadas (Tabela II). Somente *F. ryphea* e *M. helenor* apresentam órgãos consideravelmente grandes para facilitar sua manipulação com a instrumentação disponível. As razões pelas quais não se realizaram cortes em *A. thalia* e *H. erato* têm a ver com as peculiaridades dessas espécies que serão apresentadas nos resultados deste trabalho.

Tabela II. Relação de indivíduos por espécie e sexo usados para análise de estrutura.

Espece (sexo)	Preparação I (abertura do órgão)	Preparação II (corte do órgão)
<i>Fountainea ryphea</i> ♂	4	4
<i>Fountainea ryphea</i> ♀	4	4
<i>Morpho helenor</i> ♂	3	4
<i>Morpho helenor</i> ♀	2	1
<i>Hamadryas epinome</i> ♂	2	2
<i>Hamadryas epinome</i> ♀	3	0
<i>Aeria olena</i> ♂	1	0
<i>Aeria olena</i> ♀	1	0
<i>Heliconius erato</i> ♂	1	0
<i>Actinote thalia</i> ♂	1	0
TOTAL	22	15

Ambos os tipos de preparações passaram por série alcoólica, permanecendo 30 minutos em cada concentração (70%, 90%, e 100%), e, em seguida, foram imersas em hexametildisilazano por 30 minutos, para a desidratação final, eliminando, dessa forma, a necessidade de ponto crítico (Nation, 1983). As preparações foram colocadas em suportes com fita de dupla face, e posteriormente metalizadas em ouro antes de serem observadas no Microscópio Eletrônico de Varredura (Carl Zeiss Modelo LEO 440 do Laboratório de MEV do Museu de Zoologia da USP, e Zeiss Modelo DSM 940 do Laboratório MEV do Instituto de Biociências da USP).

4.4 Descrições dos palpos

Após a remoção das escamas e antes de realizar as preparações para Microscopia Eletrônica de Varredura, os palpos foram imersos em álcool gel e colocados em uma lâmina escavada e observados no microscópio de luz Leica Dm 750 para visualizar por transparência o formato do órgão. Tomaram-se fotografias de todos os exemplares apresentados na Tabela II com apoio do software Leica Application Suite Versão 4.4.0. As fotos foram utilizadas para estimar a profundidade da cavidade do órgão e o comprimento do palpômero distal.

Quando os palpos eram retirados ainda no campo, muitas vezes se perdia o palpômero basal. Para caracterização de todo o palpo labial, foram tomados dez indivíduos por espécie, cinco de cada sexo, (exceto de *A. thalia* e *H. erato* por razões que serão expostas nos resultados) da coleção de Lepidoptera do Museu de Zoologia da USP, e lhes foram retirados os palpos direitos, para serem fotografados em estereomicroscópio com câmera Zeiss modelo AxioCam MRc5 acoplada a ele. As fotos (12-15 por peça) foram extraídas com apoio do software AxioVision Rel. 4.8 e em seguida montadas com o uso do

programa CombineZP. O comprimento total dos palpos foi estimado a partir das fotos (Figura 3).

Figura 3. Diagrama de vetores usado para medir o comprimento dos palpos no presente estudo com o uso do software TPS. O comprimento é o resultado da soma de cada um dos vetores.

O comprimento do órgão de vom Rath e o comprimento do palpômero distal, assim como o comprimento total dos palpos, foram estimados com o software TPS (Rohlf, 2001). Visando normalizar as comparações entre espécies e estabelecer dois índices de desenvolvimento do órgão, calculamos a razão entre sua profundidade e o comprimento do último palpômero e do palpo inteiro.

4.5 Curadoria

Os exemplares coletados e as caixas de lâminas histológicas foram depositados na coleção de Lepidoptera do Museu de Zoologia da USP como material testemunho do presente trabalho. As amostras dos palpos labiais conservadas em álcool e emblocadas foram devidamente identificadas com o número de coleta (Figura 4 A-D, Anexo A), e

também formam parte da coleção supracitada. Considerando que os cortes montados nas lâminas de vidro mantêm uma sequência anatômica, os mesmos foram catalogados e numerados em ordem crescente a partir da parte fosca da lâmina. Em outras palavras, se o corte estiver mais próximo da parte fosca, significa ser um corte menos profundo em relação ao plano sagital do palpo labial originário (Figura 4 E).

Figura 4. Processo curatorial usado no presente estudo. **A)** Caixa entomológica com material-testemunho do presente trabalho depositado na Coleção de Lepidoptera do Museu de Zoologia da USP; **B)** e **C)** Ependorfes com palpos em álcool 70%; **D)** Bloco de historesina colado em suporte de madeira; **E)** Caixas de lâminas histológicas; **F)** Lâmina com cortes histológicos com numeração padronizada: indivíduo 77 (ver **Anexo A**), lâmina 20 e cortes mantendo sequência anatômica do palpo no plano sagital.

4.6 Comentários adicionais

Um dos maiores problemas na histologia de insetos é o desafio de fixação, inclusão e corte das estruturas altamente esclerotizadas e impermeáveis (Barbosa *et al.*, 2015). Os palpos labiais de lepidópteros não são exceção, e seu processamento é ainda mais complicado pelo fato de serem estruturas ocas (Schmitt, 1938), promovendo com frequência o colapso dos cortes histológicos.

Durante o desenvolvimento do presente estudo uma das etapas mais difíceis e demoradas no processamento histológico foi estabelecer um método apropriado para a fixação dos tecidos. Foram feitos testes com Solução de Bouin, Bouin alcoólico, Fixador de Sinha, Zenker-Formol e finalmente com solução de McDowell (McDowell & Trump, 1976).

Devido a esses inconvenientes durante o percurso do estudo decidimos reduzir o número de espécies a serem analisadas. Porém, os resultados obtidos, permitem formular hipóteses e responder em parte as questões formuladas inicialmente (ver item 2). Consideramos válido iniciarmos uma nova linha de pesquisa para melhor compreensão sobre a estrutura e função do órgão de vom Rath e seu uso em estudos de Sistemática Filogenética e Biologia Evolutiva.

5 RESULTADOS

5.1 Ninfalídeos frugívoros

5.1.1 *Fountainea ryphea* (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeini)

Palpos labiais sem dimorfismo sexual e em forma de bastão. Densamente coberto de escamas. Palpômero basal trapezoidal, curto, aproximadamente do mesmo comprimento do distal. Possui na face interna a mancha sensitiva de Reuter pequena e de forma triangular. Com escamas piliformes nas duas faces (interna e externa), projetadas ventralmente e de cor amarela opaca. Segundo palpômero cilíndrico, moderadamente côncavo na região dorsal em sua porção basal, formando um arco pronunciado junto com o palpômero basal; mantendo-se retilíneo após a região côncava. Aproximadamente dois terços do comprimento total do palpo. Face externa com escamas pequenas e subquadradas, de coloração parda, entremeadas com outras de cor amarela opaca com igual forma e tamanho. Face interna com uma crista de escamas piliformes de cor amarela opaca. Superfície dorsal também com a crista de escamas piliformes, a maioria de cor amarela opaca, mas também pardas, e projetadas distalmente; maiores e mais densamente agrupadas formando um tufo, bem conspícuo e quase cobrindo o terceiro artícolo. Palpômero distal cilíndrico, com lobo dorsal na porção terminal, curto e coberto por escamas pardas (Figura 5).

Comprimento médio do palpo nos machos: $5760 \pm 496,00 \mu\text{m}$; nas fêmeas: $5874 \pm 451,20 \mu\text{m}$ (N=5 para ambos os sexos). Comprimento médio do palpômero distal nos machos: $465 \pm 53,90 \mu\text{m}$; nas fêmeas: $551 \pm 58,60 \mu\text{m}$ (N=4 para ambos os sexos).

Figura 5. Detalhes dos palpos labiais de *Fountainea ryphea* (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeini) (♀). **A)** Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas 1 mm) **D)** Detalhe do palpômero distal e órgão de vom Rath (**ovr**) (escala 150 μ m).

Órgão de vom Rath conspicuo quando retiradas as escamas. Abertura ovóide, subterminal, levemente ventral e coberta por um lobo dorsal. Nos machos, diâmetro maior da abertura com $37,78 \pm 6,20 \mu\text{m}$ (N=4); nas duas fêmeas medidas com 44,90 e 44,80 μm , respectivamente. Diâmetro menor nos machos $27,43 \pm 3,59 \mu\text{m}$ (N=4), e nas duas fêmeas 37,37 e 35,50 μm . Profundidade da cavidade nos machos $158,10 \pm 22,50 \mu\text{m}$ (2,74% do comprimento total do palpo, e 33,99% do palpômero distal), e nas fêmeas $198,30 \pm 4,50 \mu\text{m}$ (3,38% do comprimento total do palpo, e 35,97% do palpômero distal) (N=4 para ambos os sexos). Formato de garrafa, ou seja, após a abertura assemelha-se a um gargalo ou tubo cujo diâmetro aumenta levemente em direção ao interior, até aproximadamente metade do comprimento do órgão, onde abruptamente a cavidade se alarga para formar um átrio, tão largo quanto aproximadamente o dobro da abertura e o gargalo. Região tubular é densamente coberta de cerdas piliformes e planas (aproximadamente 150) que apontam em direção à abertura, mas não a ultrapassam. Por sua vez, o átrio é ocupado por cerdas

celocônicas levemente clavadas de superfícies lisas (aproximadamente 100). Os grupos celulares localizados ao redor do átrio são conectados a um axônio que imediatamente corre em direção ventral para se fundir com a cutícula (Figura 6, 7).

Figura 6. Fotografias de microscopia eletrônica de varredura do órgão de vom Rath de *Fountainea ryphea* (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeni) (♀). **A)** Abertura do órgão (escala 6 μ m); **B)** Corte longitudinal do órgão (escala 20 μ m). Abertura (a), átrio (at), cerdas piliformes (cp), gargalo (g), cerdas celocônicas (sc).

Figura 7. Cortes histológicos no plano sagital do órgão de vom Rath de *Fountainea ryphea* (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeini) (♀). **A)** Corte em toda a extensão da anatomia do órgão (escala 50 μ m); **B)** Corte profundo mostrando apenas a porção de maior diâmetro da cavidade do órgão (escala 20 μ m). Abertura (a), átrio (at), axônio (ax), gargalo (g), grupos celulares (gc).

5.1.2 *Morpho helenor achillaena* (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Morphini)

Palpos labiais sem dimorfismo sexual e em forma de “S”. Densamente cobertos por escamas. Palpômero basal cilíndrico e fortemente côncavo na região dorsal; levemente maior do que o palpômero distal. Não observamos a mancha sensitiva de Reuter. Com abundantes escamas piliformes projetadas ventralmente nas duas faces: na face interna de cor preta, levemente entremeadas com outras escamas esbranquiçadas; na face externa de cor preta, distalmente mudando para vermelho, com algumas escamas brancas. Segundo palpômero cilíndrico, comprimido dorso-ventralmente na metade basal; levemente côncavo na região dorsal da porção basal, formando um arco pronunciado junto ao palpômero basal, mas sub-retilíneo na porção distal. Na face externa com uma linha vermelha de escamas curtas, interrompida por escamas piliformes dorsal e ventralmente. As da região ventral são de cor preta, enquanto que as dorsais são brancas entremeadas com pretas até aproximadamente metade do palpômero, para logo serem pretas em sua totalidade. Estas últimas são bem notáveis formando um tufo bem conspicuo e erigido. Na face interna não se apresenta a linha vermelha, e em seu lugar há abundantes escamas pretas, e em posição dorsal uma linha leve de escamas brancas. Longo, aproximadamente três quartos do comprimento do palpo. Palpômero distal cilíndrico, alongado, reto, e densamente coberto de escamas curtas de cor preta. (Figura 8)

Comprimento médio do palpo nos machos: $7054 \pm 400,80 \mu\text{m}$; nas fêmeas: $8108 \pm 594,40 \mu\text{m}$ (N=5 para ambos os sexos). Comprimento médio do palpômero distal nos machos: $1075,35 \pm 94,90 \mu\text{m}$ (N=6); nas fêmeas $1056,26 \pm 87,37 \mu\text{m}$.

Figura 8. Detalhes dos palpos labiais de *Morpho helenor achillaena* (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Morphini) (♀). **A)** Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas de 1 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal e órgão de vom Rath (**ovr**) (escala 150 μ m).

Órgão de vom Rath conspicuo quando retiradas as escamas. Abertura circular em posição terminal, diâmetro para os machos $42,20 \pm 4,67 \mu\text{m}$ ($N=3$). Sem dados para fêmeas. Profundidade da cavidade nos machos $180,60 \pm 34,00 \mu\text{m}$ (2,56% do comprimento total do palpo, 17,10% do comprimento do palpômero distal) ($N=4$). Sem dados para fêmeas. Formato de gota, diâmetro maior da cavidade levemente maior que a abertura, localizado aproximadamente na metade entre a abertura e o fundo da cavidade. Região entre a abertura e o diâmetro maior da cavidade densamente coberta de cerdas piliformes e planas (entre 150 e 200), aparentemente mais largas que as de *F. ryphea*, e apontam em direção à abertura ultrapassando-a. Algumas dessas cerdas são bifurcadas. No fundo da cavidade com cerdas celocônicas levemente clavadas de superfícies lisas (entre 30 e 40). Grupos celulares localizados ao redor do átrio conectados a um axônio que imediatamente se funde com a cutícula (Figura 9, 10).

Figura 9. Fotografias de microscopia eletrônica de varredura do órgão de vom Rath de *Morpho helenor achillaena* (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Morphini) (♂). **A)** Abertura do órgão (escala 20 μ m); **B)** Corte longitudinal do órgão (escala 20 μ m). Abertura (a), cerdas piliformes (cp), cerdas celocônicas (sc).

Figura 10. Cortes histológicos no plano sagital em toda a extensão da anatomia do órgão de vom Rath de *Morpho helenor achillaena* (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Morphini). **A)** Corte mostrando abertura (a) e grupos celulares (gc) (♀); **B)** corte mostrando abertura (a) e axônio (ax) (♂). Escalas 20 µm.

5.1.3 *Hamadryas epinome* (Felder & Felder, 1867) (Biblidinae: Ageroniini)

Palpos labiais sem dimorfismo sexual e em forma de “S”. Densamente coberto por escamas. Palpômero basal cilíndrico e fortemente côncavo na região dorsal, curto, menor que o palpômero distal. Possui na face interna mancha sensitiva de Reuter conspícua e de forma oval. Com escamas piliformes esbranquiçadas nas duas faces e projetadas ventralmente. Segundo palpômero cilíndrico, alongado, subretilíneo; próximo ao palpômero distal com leve curvatura ventral; aproximadamente metade do comprimento total do palpo. Face externa com escamas pequenas e subquadradas, de coloração branca em quase todo seu comprimento; próximo ao palpômero distal de coloração preta brilhante. Face interna com crista de escamas piliformes em todo o comprimento do artículo, de cor branca na metade posterior; na metade distal entremeadas com escamas acinzentadas. Dorsalmente, também há uma crista que começa na metade distal, com escamas cinzas no início, e perto do terceiro palpômero a cor muda a preta-brilhante que forma um quilha pronunciada perto do palpômero distal, onde se interrompe abruptamente. Pálpômero distal cilíndrico, reto, alongado, aproximadamente um terço do segundo artículo. Densamente coberto de escamas pretas e curtas (Figura 11).

Comprimento médio do palpo nos machos: $5525 \pm 205 \mu\text{m}$; nas fêmeas: $5430 \pm 380 \mu\text{m}$ (N=5 para ambos os sexos). Comprimento médio do palpômero distal nos machos : $1095,53 \pm 65,60 \mu\text{m}$ (N=7); nas fêmeas: $1072,65 \pm 50,89 \mu\text{m}$ (N=5);.

Figura 11. Detalhes dos palpos labiais de *Hamadryas epinome* (Felder & Felder, 1867) (Biblidinae: Argeroniini) (♂). **A)** Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna; (escalas de 1 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal e órgão de vom Rath (**ovr**) (escala 150 µm).

Órgão de vom Rath reduzido. Abertura circular, em posição terminal; .diâmetro medindo 27,51 µm no macho (N=1) e 25,22 µm na fêmea (N=1). Profundidade média da cavidade nas fêmeas $101,20 \pm 8,90$ µm (1,90% do comprimento total do palpo, 9,24% do comprimento do palpômero distal) (N=3), e nos dois machos que foram medidos $120,23 \pm 1,16$ µm (2,16% e 2,20% do comprimento total do palpo, e 11,17 e 12,32 do comprimento do palpômero distal) (N=2). Formato saculiforme. Não foi possível cortar a estrutura para obtenção das imagens com MEV devido a tamanho diminuto do palpômero distal. Presença de cerdas piliformes a partir da abertura do órgão, não ultrapassando externamente a mesma; com outras cerdas parecidas às duas espécies descritas anteriormente no presente estudo. Camada de grupos celulares ocupando um volume maior quando comparada com os órgãos de *F. ryphea* e *M. helenor*. Não se observou axônio (Figura 12, 13).

Figura 12. Fotografias de microscopia eletrônica de varredura do órgão de vom Rath de *Hamadryas epinome* (Felder & Felder, 1867) (Bibliidinae: Argeroniini) (♀). **A)** Abertura do órgão (escala 12 μ m); setas indicando cerdas piliformes (cp) e celocônicas (sc); **B)** Tentativa de corte longitudinal do órgão (escala 20 μ m). Abertura (a), zona do átrio (at).

Figura 13. Corte histológico no plano sagital em toda a extensão da anatomia do órgão do órgão de vom Rath de *Hamadryas epinome* (Felder & Felder, 1867) (Biblidinae: Argeroniini) (♀), grupos celulares (gc). Escala 20 µm.

5.2 Ninfálídeos nectarívoros

5.2.1 *Aeria olena* Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini)

Palpos labiais falciformes e sem dimorfismo sexual. Cobertos por escamas em sua grande parte. Palpômero basal cilíndrico, fortemente côncavo na região dorsal, longo, aproximadamente do mesmo tamanho que o segundo palpômero. Não observamos a mancha sensitiva de Reuter. Face externa com escamas alongadas, levemente densas e de coloração esbranquiçada. Dorsalmente com pequena crista de escamas piliformes brancas. Na face interna com as mesmas escamas supracitadas, porém, mais espaçadas, principalmente na porção posterior. Segundo palpômero fortemente côncavo na região dorsal, com crista dorsal de escamas brancas e piliformes; na face externa com escamas piliformes, levemente densas, longas, e de cor preta; face interna com escamas brancas,

curtas e levemente densas. Palpômero distal retilíneo, muito pequeno, e densamente coberto de escamas pretas e curtas (Figura 14).

Comprimento médio do palpo nos machos: $2506 \pm 187,20 \mu\text{m}$; nas fêmeas: $2170 \pm 160,00 \mu\text{m}$ (N=5 para ambos os sexos). Comprimento médio do palpômero distal nos machos: $114,90 \pm 4,30 \mu\text{m}$ (N=3); na fêmeas: $107,00 \mu\text{m}$.

Figura 14. Detalhes dos palpos labiais de *Aeria olenae* Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini) (♂). **A)** Posição anatômica (escala 1 mm); **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas 0,5 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal e órgão de vom Rath (**ovr**) (escala 150 μm).

Devido ao tamanho reduzido do palpômero distal, não foi possível observar o órgão de vom Rath a olho nú, mas foi considerado desenvolvido após análise sob o microscópio óptico. Abertura circular obstruída por cerdas planas que não a ultrapassam para o meio externo. Diâmetro da abertura com $23,25 \mu\text{m}$ no macho (N=1) e $22,59 \mu\text{m}$ na fêmea (N=1). Profundidade da cavidade nos machos $38,5 \pm 0,02 \mu\text{m}$ (N=3) (1,53% do comprimento total do palpo, e 33,50% do comprimento do palpômero distal). Sem dados para as fêmeas. Não

foi possível cortar o palpômero distal para análise no MEV. Camada de grupos celulares muito desenvolvida e conectada a um axônio evidente que, aparentemente, não está preso à cutícula (Figura 15, 16).

Figura 15. Fotografia de microscopia eletrônica de varredura da abertura do órgão de vom Rath de *Aeria olena* Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini) (♂). Nota-se a presença de cerdas planas (**cp**). Escala 10 µm.

Figura 16. Corte histológico no plano sagital em toda a extensão da anatomia do órgão do vom Rath de *Aeria olena* Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini) (♂). Abertura do órgão (**a**), axônio (**ax**), grupos celulares (**gc**). Escala 20 µm.

5.2.2 *Actinote thalia* (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini)

Palpos labiais sem dimorfismo sexual e em forma de “S”. Não densamente cobertos de escamas. Paplômero basal cilíndrico, moderadamente côncavo na região dorsal, comprimento aproximadamente um terço do comprimento do segundo palpômero. Face externa com escamas alongadas, pequenas, de cor amarela-opaca; ventralmente com escamas piliformes pretas, conspícuas e abundantes, mas espaçadas; dorsalmente, na metade distal, com pequena crista de escamas piliformes. Face interna com escamas alongadas, pequenas, castanho-claras, entremeadas com outras amareladas. Mancha de Reuter bem conspícua e próxima à articulação com o alvéolo. Segundo palpômero cilíndrico, em forma de “S”. Face externa com escamas alongadas, pequenas, de cor amarela-opaca, na metade posterior, por sua vez a metade anterior com pequenas escamas pretas cônicas bem espaçadas; ventralmente com escamas piliformes pretas, conspícuas e abundantes, mas espaçadas. Com crista dorsal de escamas piliformes acinzentadas, entremeadas no terço

proximal com algumas escamas amarela-opacas também piliformes, formando uma quilha conspícua em direção distal, não alcançando o terço próximo do terceiro palpômero. Este, por sua vez, com escamas piliformes pretas e mais curtas que o palpômero anterior. Face interna coberta de pelos pretos medianos e espaçados. Palpômero distal muito pequeno, quase imperceptível, de forma semiesférica, com superfície irregular coberta densamente com escamas piliformes, pretas e bem agrupadas (Figura 17).

Figura 17. Detalhes dos palpos labiais de *Actinote thalia* (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini)(♂).

A) Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas de 1 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal (escala 150 µm).

Presença duvidosa do órgão de vom Rath, pelo menos nos machos. Não se coletaram fêmeas no presente estudo. Observou-se uma pequena depressão da cutícula na região apical do palpômero. Não foram encontradas cerdas nessa depressão, tampouco foram detectados grupos celulares nos cortes histológicos (Figura 18, 19).

Figura 18. Fotografia de microscopia eletrônica de varredura da região terminal do palpo labial de *Actinote thalia* (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini) (♂). Nota-se uma depressão pequena onde se deveria localizar o órgão de vom Rath (?), porém não se observam cerdas em seu interior. Escala 20 µm.

Figura 19. Corte histológico no plano sagital em toda a extensão do extremo distal do palpo labial de *Actinote thalia* (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini) (♂). Nota-se a ausência de grupos celulares no palpômero distal associados à possível existência do órgão de vom Rath. Escala 50 µm.

5.2.3 *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini)

Palpos labiais sem dimorfismo sexual e em forma de “S”. Densamente cobertos por escamas. Palpômero basal cilíndrico, fortemente côncavo na região dorsal, curto, levemente menor que o palpômero distal. Face externa com escamas curtas pretas entremeadas com escamas amarela-opacas. Dorsalmente com crista de escamas piliformes amarelo-acinzentadas; ventralmente com escamas piliformes longas, pretas e tipicamente espaçadas. Face interna densamente coberta por escamas curtas e pretas. Não observamos a mancha sensitiva de Reuter. Segundo palpômero levemente côncavo na porção basal, mas, em geral, subretilíneo, com aproximadamente dois terços do comprimento total do palpo. Face interna densamente coberta com escamas amareladas na porção basal, esbranquiçadas na porção distal; crista dorsal com densas escamas piliformes, na porção basal de coloração esbranquiçadas, porém acinzentadas distalmente, formando quilha dorsal próximo do palpômero distal, onde se interrompe abruptamente; escamas piliformes pretas e longas na região ventral, abundantes, porém espaçadas. Face interna densamente coberta por escamas curtas e pretas. Palpômero distal cilíndrico, levemente comprimido lateralmente, alongado, reto e densamente coberto por escamas curtas e coloração preta, entremeadas com escamas piliformes médias, porém conspícuas (Figura 20).

Aparentemente *H. erato phyllis* é desprovida do órgão de vom Rath nas fêmeas e nos machos. Sem depressão da cutícula na região onde normalmente está localizada a abertura do órgão. Não foram observados grupos celulares nos cortes histológicos (Figura 21, 22).

Figura 20. Detalhes dos palpos labiais de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini) (♂). **A)** Posição anatômica; **B)** Vista lateral, face externa; **C)** Vista lateral, face interna (escalas de 1 mm); **D)** Detalhe do palpômero distal (escala 150 μ m).

Figura 21. Fotografia de microscopia eletrônica de varredura da região terminal do palpo labial de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini) (♂), aparentemente desprovida do órgão de vom Rath. Escala 40 μ m.

Figura 22. Corte histológico no plano sagital em toda a extensão do extremo distal do palpo labial de *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini) (♂). Grupos celulares ausentes na porção distal do palpômero. Escala 50 μ m.

6 DISCUSSÃO

6.1 Sobre padrões morfológicos do órgão de vom Rath e terminologia

Apesar da enorme diversidade de Ditrysia e escassa informação disponível sobre a morfologia desses lepidópteros, particularmente para os palpos labiais, podemos identificar vários padrões morfológicos para o órgão de vom Rath. Podemos defini-lo como uma depressão da cutícula da região terminal do palpômero distal, formando uma cavidade que contém cerdas sensoriais no fundo. O formato dessa invaginação é pouco explorado nas descrições disponíveis, e às vezes os autores não fazem uma descrição da mesma (e.g. Bogner, 1990; Stange, 1992; Stange *et al.*, 1995; Song *et al.*, 2016). Os dois padrões mencionados na literatura são o denominado de garrafa ou frasco por vom Rath (1887, 1888), várias vezes usado na literatura mesmo não sendo o mais adequado (Kent *et al.*, 1986, Zhong *et al.*, 2014; Chen & Hua, 2016), e o tubular (Hicks, 1860; Stange *et al.*, 1995). Porém, existem estados intermediários ou variações, não devidamente explorados. Às vezes a depressão forma uma cavidade em sua porção mais interna, e esta se comunica com a abertura através de uma região mais estreita e alongada com diâmetro igual ou subigual à abertura (devidamente notado por Hicks, 1860), a qual chamamos tentativamente de gargalo, e só sob essas condições consideraremos o formato de garrafa. Esses seriam os casos do geometrídeo ilustrado por Hicks (1860) (Figura 1A), *Pieris* sp. (vom Rath, 1887, 1888) (Figura 1 B), e no nosso estudo *Fountainea ryphea* (Figura 6). Logicamente, quanto mais curto for o gargalo, e mantendo-se a cavidade ampla, o formato será cada vez mais saculiforme como em *Acherontia atropos*, *Agrius convolvuli* (Sphingidae), as quais apresentam gargalo curto de acordo com vom Rath (1888), *Amerila (Rhodogastria)* sp. (Erebidae) (Bogner *et al.*, 1986) e no nosso estudo *Hamadryas epinome* (Figura 12). Uma variação deste formato seria a de *Manduca sexta* (Sphingidae) (Kent, et al., 1986). Caso a cavidade seja relativamente profunda, desprovida de gargalo, com diâmetro maior na metade de seu comprimento, podemos considerar os formatos fusiforme e de gota. A diferença entre eles será dada pela configuração da porção mais interna, ou seja, pontiaguda como em *Carposina sasakii* (Carposinidae) (Chen & Hua, 2016), ou arredondada como em *Morpho helenor* no presente estudo (Figura 9). Por sua vez, o formato tubular seria o caso de *Argynnis paphia* (Nymphalidae: Heliconiinae) (Hicks, 1860, ver Figura 1) e *Cactoblastis cactorum* (Pylalidae) (Stange *et al.*, 1995), sendo o diâmetro relativamente constante em

todo o comprimento da estrutura. Por último temos o formato afunilado quando a abertura é mais larga do que as regiões mais internas, como nos casos de *Helicoverpa armigera* (Zhao *et al.*, 2013) e *Mythimna separata* (Dong *et al.*, 2014) (Noctuidae).

Outro padrão reconhecível na literatura é a diferenciação morfológica e de posicionamento das cerdas. Estas se apresentam em dois formatos (Song *et al.*, 2014 consideram três) e geralmente as mais internas são clavadas em diferentes graus, com paredes sulcadas, enquanto as mais próximas à abertura são piliformes ou laminares e com paredes lisas (Bogner *et al.*, 1986; Stange *et al.*, 1995; Zhao *et al.*, 2013; Chen & Hua, 2016; Song *et al.*, 2016), comunicando-se às vezes com o meio externo além da abertura do órgão. *Fountainea ryphea* e *M. helenor* apresentam esse padrão de diferenciação na morfologia e disposição dos tipos de cerdas (ver Figura 6, 9). Provavelmente acontece o mesmo em *Hamadryas epinome* (Figura 12).

Tal diferenciação nas cerdas e seu posicionamento no órgão podem indicar também uma diferenciação quanto à função. vom Rath (1888) considerou que esses “pelos oblíquos em direção à abertura” protegem a estrutura do meio externo. Os estudos sobre a fisiologia e funcionalidade do órgão (detecção de CO₂) foram norteados nas cerdas mais internas que são conectadas ao axônio (Lee *et al.*, 1985; Bogner *et al.*, 1986; Bogner *et al.*, 1990; Stange, 1992; Stange *et al.*, 1995).

Analisando os cortes histológicos das quatro espécies onde foi confirmada a presença do órgão de vom Rath, observa-se que os grupos celulares estão relacionados com as porções mais internas da cavidade (Figura 7, 10, 13, 16), onde estão localizadas as cerdas sensoriais. Portanto, é possível considerar que o órgão é composto por duas regiões morfo-funcionais: 1) a região mais interna seria a unidade sensorial propriamente dita, com as cerdas sensoriais relacionadas com os grupos de células associadas ao axônio. Por sua vez, as regiões mais externas, por exemplo o gargalo de *F. ryphea*, são cobertas por outro tipo de cerdas putativamente com função protetora.

Por último, está o axônio associado ao órgão de vom Rath que em algumas espécies encontra-se aderido à cutícula, como em *F. ryphea* e *M. helenor* (Figura 7, 10), e em outras ele está bem evidente e livre, como aparentemente em *A. olena* (Figura 16). De acordo com o presente estudo, quando o axônio encontra-se aderido à cutícula, é bastante difícil

caracterizá-lo. Nos lepidópteros, a articulação dos palpos labiais com a cabeça restringe notavelmente a passagem de hemolinfa (Schmitt, 1938). Portanto, os palpos são estruturas ocas com poucos tecidos, os quais são associados à cutícula. Em espécies com palpos labiais longos seria conveniente que o axônio estivesse aderido à parede do palpômero. No caso de *A. olena*, analisada no presente estudo, o palpômero distal é bastante reduzido, e o axônio associado ao órgão de vom Rath encontra-se tipicamente livre.

6.2 Sobre a ausência do órgão de vom Rath em *Actinote thalia* e *Heliconus erato*

Analisando a literatura disponível, pode-se considerar que as descrições morfológicas do órgão de vom Rath são insuficientes para o uso em estudos de Sistemática Filogenética e Biologia Evolutiva, o que é ainda mais inquietante sendo uma das sinapomorfias reconhecidas para os lepidópteros (Kristensen *et al.*, 2007). Podemos afirmar que existem somente descrições, com maior ou menor grau de detalhamento para 18 espécies de lepidópteros ditrisios (Hicks, 1860; vom Rath, 1887, 1888; Fauchaux & Chauvin, 1980; Lee *et al.*, 1985; Kent *et al.*, 1986; Bogner *et al.*, 1986; Stange *et al.*, 1995; Zhong *et al.*, 2013; Dong *et al.*, 2014; Chen & Hue 2016; Song *et al.*, 2016), e outras poucas para não ditrisios. No total, há informação detalhada para representantes de apenas 11 famílias de Ditrysia (clado formado por aproximadamente 98% da Ordem Lepidoptera), e sete de mariposas das linhagens mais basais não Dytrisia.

O presente estudo acrescenta mais seis registros, incluindo os primeiros com ausência da estrutura para Ditrysia: *Actinote thalia* (Figura 18, 19) e *Heliconius erato* (Figura 21, 22), ambas representantes da subfamília Heliconiinae, mas inseridas em tribos diferentes (Acraeini e Heliconiini, respectivamente). Contudo, Hicks (1860) documentou a presença do órgão de vom Rath em *Argynnis paphia* (Heliconiinae: Argynnini) (Figura 1).

Para Heliconiinae várias hipóteses filogenéticas com diferentes topologias têm sido consideradas na literatura. De acordo com Penz & Peggie (2003), Acraeini é a linhagem mais basal e grupo irmão de Heliconiini+(Vagrantini+Argynnini). Na topologia apresentada por Freitas & Brown (2004), Acraeini encontra-se também como grupo basal, porém como grupo irmão de Argynnini+(*Vindula/Cethosia*+Heliconiini). Se a perda do órgão de vom Rath em *H. erato* e *A. thalia* for típica para Heliconiini e Acraeini (devemos manter esse discurso dado o limitado número de espécies analisadas), a hipótese mais parcimoniosa para a presença do

órgão de vom Rath em Argynnini seria um evento de reversão. Ao invés disso, nas topologias apresentadas por Wahlberg *et al.* (2003), Argynnini é a linhagem basal e grupo irmão de Vagrantini+(Heliconiini+(Acraeini)), ou Heliconiini+(Vagrantini+Acraeini). Nesses casos, a ausência do órgão de vom Rath seria uma apomorfia para o clado Heliconiini+(Acraeini), ou Heliconiini+(Vagrantini+Acraeini). Porém, ainda é necessário que um número maior de espécies seja estudado.

Com relação aos nossos registros inéditos sobre a ausência do órgão de vom Rath para representantes do clado Ditrysia (*viz.* *A. thalia* e *H. erato*), devemos considerar as observações prévias de Hicks (1860) vom Rath (1888) e Paluch *et al.* (2008). No trabalho de Hicks (1860), *Acherontia atropos* (Linnaeus, 1758) (Sphingidae) foi considerada desprovida do órgão de vom Rath, porém foi observada uma mancha circular amarela no palpômero distal, onde deveria estar a abertura do órgão. Entretanto, mais tarde, vom Rath (1888) confirmou a presença da depressão na mesma espécie. Por sua vez, Paluch *et al.* (2008) mencionaram que não observaram o órgão de vom Rath em *Actinote melanisans* Oberthür, 1917, o que coincide com nossas observações e interpretações para *A. thalia*. Mesmo que essa espécie apresente uma pequena depressão onde deveria estar localizado o órgão, a ausência de grupos celulares nos cortes histológicos fortalece a hipótese que tal depressão é somente um vestígio do órgão. Observa-se que Hicks (1860) e Paluch *et al.* (2008) não afirmaram categoricamente a ausência do órgão de vom Rath nessas espécies, apenas comentaram que não o encontraram.

6.3 Sobre o grau de desenvolvimento do órgão de vom Rath

No presente estudo, as espécies com órgão de vom Rath apresentaram diferentes graus de desenvolvimento do mesmo. Como as espécies são de diferentes tamanhos, usamos como estimadores as razões da profundidade do órgão em relação ao comprimento do palpômero distal e do palpo. As maiores diferenças foram observadas em relação ao artículo. As duas espécies com maior desenvolvimento do órgão são *F. ryphea* e *A. olena*. Acredita-se que a performance dessas espécies poderia ser dependente da funcionalidade do órgão. Contrariamente, em *M. helenor* e *H. epinome* esses índices foram consideravelmente menores. Caso esse índice fosse um bom estimador da funcionalidade do órgão, e considerando que a recepção de CO₂ possa ter implicações na busca por fontes de alimento, seriam esperadas semelhanças entre as espécies pertencentes à mesma guilda

alimentar. Nossos resultados não refletem isso, sugerindo que talvez a função sensorial do órgão não comprometa a alimentação. Logicamente, mais estudos são necessários para corroborar ou não tal hipótese.

7 CONCLUSÕES

Pela primeira vez a morfologia estrutural e histológica do órgão de vom Rath é descrita para quatro espécies de ninfalídeos: *Fountainea ryphea* (Cramer, 1775) (Charaxinae: Anaeini), *Morpho helenor achillaena* (Hübner, [1819]) (Satyrinae: Morphini), *Hamadryas epinome* (Felder & Felder, 1867) (Biblidinae: Ageroniini) e *Aeria olena* Weymer, 1875 (Danainae: Ithomiini).

Nas espécies com órgão de vom Rath foram encontrados vários padrões descritos na literatura: formato do órgão, tipos e disposição das cerdas, localização dos grupos celulares e formato do axônio. Adicionalmente, propomos uma terminologia para melhor entendimento da morfologia e formato do órgão de vom Rath para Ditrysia (Insecta: Lepidoptera).

A ausência de grupos celulares na porção terminal dos palpos de *Actinote thalia* (Linnaeus, 1758) (Heliconiinae: Acraeini) e *Heliconius erato phyllis* (Fabricius, 1775) (Heliconiinae: Heliconiini) constituem evidências da ausência do órgão de vom Rath.

8 REFERÊNCIAS

- Abrell, L.; Guerenstein, P.G.; Mechaber, W.L.; Stange, G.; Christensen, T.A.; Nakanishi, K. & Hildebrand, J.G. 2005. Effect of elevated atmospheric CO₂ on oviposition behavior in *Manduca sexta* moths. **Global Change Biology**, 11 (8):1272–1282.
- Barbosa, P.; Berry, D.L. & Kary, C.S. 2015. **Insect histology: practical laboratory Techniques**. New Jersey, Wiley-Blackwell. 348 pp.
- Bizarro, J.M.S.; M.M. Casagrande & Mielke, O.H.H. 2003. Morfologia externa de *Thyridia psidii* cetoides (Rosenberg & Talbot). I. Cabeça e appendices (Lepidoptera, Nymphalidae, Ithomiinae). **Revista Brasileira de Zoologia**, 20 (2): 279-284.
- Bogner, F. 1990. Sensory physiological investigation of carbon-dioxide receptors in Lepidoptera. **Journal of Insect Physiology**, 36 (12):951–957.
- Bogner, F.; Boppre, M.; Ernst, K-D. & Boeckh, J. 1986. CO₂ sensitive receptors on labial palps of *Rhodogastria* moths (Lepidoptera, Arctiidae): physiology, fine-structure and central projection. **Journal of Comparative Physiology A**, 158 (6):741–749.
- Bonebrake, T.C.; Ponisio, L.C.; Boggs, C.L. & Ehrlich, P.R. 2010. More than just indicators: a review of tropical butterfly ecology and conservation. **Biological Conservation**, 143: 1831-1841.
- Brower, A.V.Z. 2000. Phylogenetic relationships among the Nymphalidae (Lepidoptera), inferred from partial sequences of the wingless gene. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences**, 267 (1449): 1201-1211.
- Brown Jr., K.S. (1992) Borboletas da Serra do Japi: diversidade, habitats, recursos alimentares e variação temporal. In: Morellato, L.P.C. (Org.) **História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no Sudeste do Brasil**. Campinas, Editora Unicamp. p. 142-186.
- Brown Jr, K.S. & Freitas, A.V.L. 2000. Atlantic forests butterflies: indicators for landscape conservation. **Biotropica**, 32 (4b): 934-956.

- Chauvin, G. & Faucheux, M. 1981. Les pieces buccales et leurs recepteurs sensoriels chez l'imago de *Micropterix calthella* L. (Lepidoptera: Micropterigidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, 10 (5-6):425–439.
- Chen, J. & Hua, B. 2016. Sexual dimorphism of adult labial palps of the peach fruit moth *Carposina sasakii* Matsumura (Lepidoptera: Carposinidae) with notes on their sensilla. **Acta Zoologica**, Stockholm, 97: 42–48.
- Davis, D.R. 1975. Systematics and zoogeography of the family Neopseustidae with the proposal of a new superfamily (Lepidoptera: Neopseustoidea). **Smithsonian Contributions to Zoology**, 210: 1-45.
- Davis, D.R. 1985. A new family of monotrysian moths from austral South America (Lepidoptera: Palaephatidae) with a phylogenetic review of the Monotrysia. **Smithsonian Contributions to Zoology**, 434: 1-202.
- de Camargo, A.J.A.; Casagrande, M.M.; Mielke, O.H.H & Furtado, E. 2005. Morfologia externa do adulto de Almeidaia aidade Mielke & Casagrande (Lepidoptera, Saturniidae, Arsenurinae, Almeidaiini). I. Cabeça, apêndices e região cervical. **Revista Brasileira de Zoologia**, 22 (3): 619-622.
- DeVries, P.J. 1987. **The butterflies of Costa Rica and their natural history: Papilionoidea, Pieridae, and Nymphalidae**. Princenton, Princenton University Press.
- DeVries, P.J. & Walla, T.R. 2001. Species diversity and community structure in neotropical fruit-feeding butterflies. **Biological Journal of the Linnean Society**, 74 (1): 1-15.
- Dobson, H.E.M. (1994) Floral volatiles in insect biology. In: **Bernays EA (ed) Insect-plant interactions, vol 5. CRC, Boca Raton**. pp 47–81.
- Dong, J.F.; Liu, H.; Tang, Q.B.; Liu, Y.; Zhao, X.C. & Wang, G.R. 2014. Morphology, type and distribution of the labial-palp pit organ and its sensilla in the oriental armyworm, *Mythimna separate* (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Entomologica Sinica**, 57 (6): 681-687.
- Duarte, M.; Casagrande, M.M. & Mielke, O.H.H. 2001. Morfologia externa do adulto de *Hemiargus hanno* (Stoll) (Lepidoptera, Lycaenidae, Polyommatainae, Polyommataini). I. Cabeça. **Revista Brasileira de Zoologia**, 18 (1): 225-238.

- Fadamiro, H.; Chen, L.; Akotsen-Mensah, C. & Setzer, W.N. 2010. Antennal electrophysiological responses of the giant swallowtail butterfly, *Papilio cresphontes*, to the essential oils of *Zanthoxylum clava-herculis* and related plants. **Chemoecology**, 20 (1): 25–33.
- Faucheux, M.J. 1991. Morphology and distribution of sensilla on the cephalic appendages, tarsi and ovipositor of the European sunflower moth, *Homoeosoma nebulella* Den. & Schiff. (Lepidoptera: Pyralidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, 20 (6): 291–307.
- Faucheux, M. J. & Chauvin, G. 1980a. Les pièces buccales des adultes de cinq Lépidoptères Tinéides keratophages communs dans l'Ouest de la France. II - Les récepteurs sensoriels des palpes labiaux. **Bulletin de la Société des sciences naturelles de l'Ouest de la France, nouvelle série**, 2: 4 - 15.
- Freitas, A.V.L. & K.S. Brown Jr. (2004) Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidoptera). **Systematic Biology**, 53 (3): 363-383.
- Freitas, A.V.L.; C.A. Iserhard; J.P. Santos; J.Y.O. Carreira; D.B. Ribeiro; D.H.A. Melo; A.H.B. Rosa; O.J. Marini-Filho; G.M. Accacio & M. Uehara-Prado (2014) Studies with butterfly bait traps: an overview. **Revista Colombiana de Entomologia**, 40(2): 203-212.
- Guerenstein, P.G & Hildebrand, J.G. 2008. Roles and effect of Carbon Dioxide on insect life. **Annual Review of Entomology**, 53: 161-178.
- Guerenstein, P.G.; Yepez, E.A.; van Haren, J.; Williams, D.G. & Hildebrand, J.G. 2004. Floral CO₂ emission may indicate food abundance to nectar-feeding moths. **Naturwissenschaften**, 91: 329–333.
- Heikkilä, M.; Mutanen, M.; Wahlberg, N.; Sihvonen, P. & Kaila, L. 2015. Elusive ditrysian phylogeny: an account of combining systematized morphology with molecular data (Lepidoptera). **BMC Evolutionary Biology**, 15(1): 1-27.
- Hennig, W. 1965. Phylogenetic systematics. **Annual Review of Entomology**, 10: 97-166.
- Heppner, J.B. 1991. Faunal regions and the diversity of Lepidoptera. **Tropical Lepidoptera**, 2 (suppl 1): 1-85.
- Honda, K.; Omura, H.; Chachin, M.; Kawano, S. & Inoue, T.A. 2011. Synergistic or antagonistic modulation of oviposition response of two swallowtail butterflies, *Papilio maackii* and *P.*

- protenor*, to *Phellodendron amurense* by its constitutive prenylated flavonoid, phellamurin. **Journal of Chemical Ecology**, 37 (6): 575–581.
- Hicks, J.B. 1860. On certain sensory organs in insects, hitherto undescribed. **Transactions of the Linnean Society of London**, 23:139–155.
- Ives, P.M. 1978. How discriminating are cabbage butterflies? **Australian Journal of Ecology**, 3 (3): 261–276.
- Kent, K.S.; Harrow, I.D.; Quartararo, P. & Hildebrand, J.G. 1986. An accessory olfactory pathway in Lepidoptera: the labial pit organ and its central projections in *Manduca sexta* and certain other sphinx moths and silk moths. **Cell and Tissue Research**, 245 (2):237–245.
- Kristensen, N.P. 1968. The skeletal anatomy of the heads of adult of Mnesarchaeidae and Neopseustidae (Lep., Dacnonypha). **Entomologiske Meddelelser**, 36: 137–151.
- Kristensen, N.P. 1984. Studies on the morphology and systematics of primitive Lepidoptera (Insecta). **Steenstrupia**, 10: 141–191.
- Kristensen, N.P. 1998. Skeleton and musculature. In: Kristensen, N. P. (Ed.). **Lepidoptera: Moths and Butterflies 2. Handbuch der Zoologie/Handbook of Zoology**. IV/35, x - 564. Berlin, Walter de Gruyter. p. 39–123.
- Kristensen, N.P.; Scoble, M.J. & Karsholt, O. 2007. Lepidoptera phylogeny and systematics: the state of inventorying moth and butterfly diversity. **Zootaxa**, 1668: 699-747.
- Kristensen, N.P.; Glatz, R.V.; Young, D.A.; Cocking, G.; Edwards, T.; Gibbs, G.W. & Halsey, M. 2015. A new extant family of primitive moths from Kangaroo Island, Australia, and its significance for understanding early Lepidoptera evolution. **Systematic Entomology**, 40: 5–16.
- Lamas, G. (2008) **La sistemática sobre mariposas (Lepidoptera: Hesperioidea y Papilionoidea) en el mundo: estado actual y perspectivas futuras**. In: Bousquets, J.L.; A. Lanteri (org) Contribuciones taxonómicas en órdenes de insectos hiperdiversos, pp.57-70.
- Langan, A.M.; Wheeler, C.P. & Dunleavy, P.J. 2001. Does the small white butterfly (*Pieris rapae* L.) aggregate eggs on plants with greater gas exchange activity? **Journal of Insect Behavior**, 14 (4):459–468.

- Langan, A.M.; Wheeler, C.P. & Dunleavy, P.J. 2004. Biogenic gradients of CO₂ and H₂O and oviposition by the small white butterfly (*Pieris rapae* L.) in cages. **Applied Entomology and Zoology**, 39 (1):55–59.
- Lee, J.K.; Selzer, R. & Altner, H. 1985. Lamellated outer dendritic segments of a chemoreceptor within wall-pore sensilla in the labial palp-pit organ of the butterfly, *Pieris rapae* L. (Insecta, Lepidoptera). **Cell and Tissue Research**, 240 (2):333–342.
- Leite, L.A.R.; Casagrande, M.M. & Mielke, O.H.H. 2010. External morphology of the adult of *Heraclides anchisiades capys* (Hübner, [1809]) (Lepidoptera – Papilionidae) I. Head, cephalic appendages and cervical region. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 53 (5): 1119-1126.
- Li, J.; Wakui, R.; Horie, M.; Nishimura, Y.; Nishimura, N.; Tebayashi, S-I. & Kim, C.S. 2010. Feeding stimulant in *Cinnamomum camphora* for the common bluebottle, *Graphium sarpedon nipponum* (Lepidoptera: Papilionidae). **Zeitschrift fur Naturforschung C**, 65 (9-10): 571–576.
- McDowell E.M. & Trump, B.F. 1976. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscope. **Archives on Pathology & Laboratory Medicine**, 100: 405-414.
- Mielke, C.G.C.; Mielke, O.H.H. & Casagrande, M.M. 2004. Estudo comparado da morfologia externa de *Zaretys itys itylus* (Westwood) e *Agrias claudina annetta* (Gray) (Lepidoptera, Nymphalidae, Charaxinae) I. Cabeça, appendices e região cervical. **Revista Brasileira de Zoologia**, 21 (2): 357-369.
- Molleman, F.; van Alphen, M.E.; Brakefield, P.M. & Zwaan, B.J. 2005. Preferences and food quality of fruit-feeding butterflies in Kibale Forest, Uganda. **Biotropica**, 37 (4): 657–663.
- Nation, J.L. 1983. A new method using hexamethyldisilazane for preparation of soft insect tissue for scanning electron microscopy. **Stain Technology**, 58 (6): 347–351.
- New, T.R. 1997. Are Lepidoptera an effective “umbrella group” for biodiversity conservation? **Journal of Insect Conservation**, 1 (1): 5-12.
- Nielsen, E.S. & Davis, D.R. 1981. A Revision of the Neotropical Incurvariidae s. str., with the description of two new genera and two new species (Lepidoptera: Incurvarioidea). **Steenstrupia**, 7(3): 25-57.

- Orfila, R.N. 1950. Las especies argentinas de "*Prepona*" Boisduval (Lep: Nymph.). **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia e Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales**, 1 (7): 273-321.
- Ortiz-Acevedo, E. & Willmott, K.R. 2013. Molecular systematics of the butterfly tribe Preponini (Nymphalidae: Charaxinae). **Systematic Entomology**, 38 (2): 440-449.
- Peña, C.; Nylin, S. & Wahlberg, N. 2011. The radiation of Satyrini butterflies (Nymphalidae: Satyrinae): a challenge for phylogenetic methods. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 161 (1): 64-87.
- Peña, C.; Wahlberg, N.; Weingartner, E.; Kodandaramaiah, U.; Nylin, S.; Freitas, A.V.L. & Brower, A.V.Z. 2006. Higher level phylogeny of Satyrinae butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae) based on DNA sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 40 (1): 29-49.
- 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 (3): 277-344.
- Penz, C.M. & Peggie, D. 2003. Phylogenetic relationships among Heliconiinae genera based on morphology (Lepidoptera: Nymphalidae). **Systematic Entomology**, 28 (4): 451-479.
- Regier, J.C.; Mitter, C.; Kristensen, N.P.; Davis, D.R.; van Nieukerken, E.J.; Rota, J.; Simonsen, T.J.; Mitter, K.T.; Kawahara, A.Y.; Yen, S.; Cummings, M.P. & Zwick, A. 2015. A molecular phylogeny for the oldest (nonditrysian) lineages of extant Lepidoptera, with implications for classification, comparative morphology and life-history evolution. **Systematic Entomology**, 40 (4): 671-704.
- Renwick, J.A.A. & Radke, C.D. 1988. Sensory cues in host selection for oviposition by the cabbage butterfly, *Pieris rapae*. **Journal of Insect Physiology**, 34 (3): 251-257.
- Rohlf, F.J. 2001. **tpsDig – thin plate splines digitizer, version 2.11**. New York, State University of New York at Stony Brook.
- Schmitt, J.B. 1938. The feeding mechanism of adult Lepidoptera. **Smithsonian Miscellaneous Collections**, 97 (4): 1-27.
- Scoble, M.J. 1992. **The Lepidoptera: Form, Function and Diversity**. Oxford, Oxford University Press. 404p.

- Silva-Bradão, K.L.; Wahlberg, N.; Francini, R.B.; Azeredo-Espin, A.M.L.; Brown Jr., K.S.; Paluch, M.; Lees, D.C. & Freitas, A.V.L. 2008. Phylogenetic relationships of butterflies of the tribe Acraeini (Lepidoptera, Nymphalidae, Heliconiinae) and the evolution of host plant use. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 46 (2): 515-531.
- Simonsen, T.J. 2006a. Glands, muscles and genitalia. Morphological and phylogenetic implications of histological characters in the male genitalia of fritillary butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae: Argynnini). **Zoologica Scripta**, 35 (3): 231-241.
- Simonsen, T.J. 2006b. Fritillary phylogeny, classification and larval hostplants: reconstructed mainly on the basis of male and female genitalic morphology (Lepidoptera: Nymphalidae: Argynnini). **Biological Journal of the Linnean Society**, 89 (4): 627-673.
- Simonsen, T.J.; Wahlberg, N.; Brower, A.V.Z. & de Jong, R. 2006. Morphology, molecules and fritillaries: approaching a stable phylogeny for Argynnini (Lepidoptera: Nymphalidae). **Insect Systematics & Evolution**, 37 (4): 405-418.
- Song, Y.Q.; Sun, H.Z. & Wu, J.X. 2016. Ultrastructural characteristics of the proboscis and the labial palp pit organ in the oriental fruit moth, *Grapholita molesta*. **Bulletin of Insectology**, 69 (1): 59-66.
- Sourakov, A.; Duehl, A. & Sourakov, A. 2012. Foraging behavior of the blue morpho and other tropical butterflies: the chemical and electrophysiological basis of olfactory preferences and the role of color. **Psyche**, 2012: 10 pp.
- Stange, G. 1992. High-resolution measurement of atmospheric carbon dioxide concentration changes by the labial palp organ of the moth *Heliothis armigera* (Lepidoptera, Noctuidae). **Journal of Comparative Physiology A**, 171 (3):317–324.
- Stange, G.; Monroe, J.; Stowe, S. & Osmond, C.B. 1995. The CO₂ sense of the moth *Cactoblastis cactorum* and its probable role in the biological control of the CAM plant *Opuntia stricta*. **Oecologia**, 102 (3):341–352.
- Thom, C.; Guerenstein, P. G.; Mechaber, W.L. & Hildebrand, J.G. 2004. Floral CO₂ cues reveal flower profitability to moths. **Journal of Chemical Ecology**, 30 (6):1285–1288.
- van Nieukerken, E.J.; Kaila, I.; Kitching, I. J.; Kristensen, N.P.; D.C. Lees; Minet, J.; Mitter, C.; Mutanen, M.; Regier, J.C.; Simonsen, T.J.; Wahlberg, N.; Yen, S.H.; Zahiri R.; Adamski, D.; Baixeras, J.; Bartsch, D.; Bengtsson, B.A.; Brown, J.W.; Bucheli, S.R.; Davis, D.R.; de Prins, J.;

- de Prins, W.; Epstein, M.E.; Gentili-Poole, P.; Gielis, C.; Hättenschwiler, P.; Hausmann, A.; Holloway, J.D.; Kallies A.; Karsholt, O.; Kawahara, A.Y.; Koster, S.; Kozlov, M.V.; Lafontaine, D.; Lamas, G.; Landry, J.F.; Lee, S.M.N.; Park, K.T.; Penz, C.; Rota, J.; Schintlmeister, A.; Schmidt, B.C.; Sohn, J.C.; Solis, M.A.; Tarmann, G.M.; Warren, A.D.; Weller, S.; Yakovlev, R.V.; Zolotuhin, V.V. & Zwick, A. 2011. Order Lepidoptera Linnaeus, 1758. *In*: Zhang, Z.Q. (Ed.). Animal biodiversity: 42 An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. **Zootaxa**, 3148: 212–221.
- Visser, J.H. 1986. Host odor perception in phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, 31: 121–144.
- vom Rath O. vom. 1887. Über die Hautsinnesorgane der Insecten. **Zoologischer Anzeiger**, 10: 627-631, 645-649.
- vom Rath O. vom. 1888. Über die Hautsinnesorgane der Insecten. **Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie**, 46: 413-454.
- Wahlberg, N.; Brower, A.V.Z. & Nylin, S. 2005. Phylogenetic relationships and historical biogeography of tribes and genera in the subfamily Nymphalinae (Lepidoptera: Nymphalidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, 86 (2):227-251.
- Wahlberg, N.; Weingartner, E. & Nylin, S. 2003. Towards a better understanding of the higher systematics of Nymphalidae (Lepidoptera: Papilionoidea). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 28 (3): 473-484.
- Wahlberg, N.; Leneveu, J.; Kodandaramaiah, U.; Peña, C.; Nylin, S.; Freitas, A.V.L. & Brower, A.V.Z. 2009. Nymphalid butterflies diversify following near demise at the Cretaceous/Tertiary boundary. **Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences**, 276 (1677): 4295-4302.
- Willmott, K.R. & Freitas, A.L.V. 2006. Higher-level phylogeny of the Ithomiinae (Lepidoptera: Nymphalidae): classification, patterns of larval hostplant colonization and diversification. **Cladistics**, 22 (4): 297-368.
- Winter, K.; García, M. & Holtum, J.A.M. 2008. On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoë*, and *Opuntia*. **Journal of Experimental Botany**, 59 (7): 1829-1840.

Zhao, X.C.; Tang, Q.B.; Berg, B.G.; Liu, Y.; Wang, Y.R.; Yang, F.M. & Wang, G.R. 2013. Fine structure and primary sensory projections of sensilla located in the labial-palp pit organ of *Helicoverpa armigera* (Insecta). **Cell and Tissue Research**, 353: 399-408.

9 ANEXOS

Anexo A – Catálogo de exemplares coletados no presente estudo. Em **negrita**, as espécies tomadas em conta na análise. MEV=Microscopia Eletrônica de Varredura.

No.	Subfamilia	Tribo	Especie	Sexo	Localidade	Data de coleta	Estado
1	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	out/17	Lâminas
2	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria clymena</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
3	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	out/17	MEV
4	Nymphalinae	Nymphalini	<i>Smyrna blomfildia</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
5	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opsiphanes invirae</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
6	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	Testes
7	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	Testes
8	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	out/17	MEV
9	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opsiphanes invirae</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
10	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	MEV
11	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	out/17	MEV
12	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	out/17	MEV
13	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Fêmea	Japi	out/17	MEV
14	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
15	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	Erro
16	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	out/17	Testes
17	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	out/17	MEV
18	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
19	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	out/17	Álcool 70
20	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
21	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	out/17	Álcool 70

22	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
23	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona demophon</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
24	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
25	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
26	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
27	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
28	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	out/17	Lâminas
29	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	out/17	Lâminas
30	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Fêmea	Japi	out/17	Álcool 70
31	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis otrere</i>	Macho	Japi	out/17	Álcool 70
32	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	out/17	MEV
33	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	out/17	MEV
34	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	out/17	Lâminas
35	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	out/17	Lâminas
36	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	out/17	MEV
37	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	Lâminas
38	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	MEV
39	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
40	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	out/17	Lâminas
41	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	out/17	Lâminas
42	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	out/17	MEV
43	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Fêmea	Japi	out/17	Lâminas
44	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	Lâminas
45	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Fêmea	Japi	out/17	MEV
46	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	MEV

47	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	out/17	Álcool 70
48	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	out/17	Álcool 70
49	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	Lâminas
50	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	out/17	Lâminas
51	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Fêmea	Japi	out/17	MEV
52	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
53	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
54	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
55	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona chalciope</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
56	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
57	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
58	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
59	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	nov/17	MEV
60	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
61	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	nov/17	Erro
62	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
63	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	nov/17	Erro
64	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
65	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Bloco
66	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Erro
67	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
68	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
69	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Lâminas
70	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
71	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70

72	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	nov/17	Lâminas
73	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
74	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
75	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
76	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	nov/17	MEV
77	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Lâminas
78	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	nov/17	Lâminas
79	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
80	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	nov/17	Lâminas
81	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Lâminas
82	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
83	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
84	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Lâminas
85	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
86	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Lâminas
87	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Testes
88	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Testes
89	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Testes
90	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
91	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Testes
92	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	nov/17	Bloco
93	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Testes
94	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
95	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Testes
96	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70

97	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
98	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Erro
99	Charaxinae	Anaeini	<i>Fountainea ryphea</i>	Macho	Japi	nov/17	Seco
100	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Bloco
101	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Macho	Japi	nov/17	Bloco
102	Charaxinae	Anaeini	<i>Memphis appias</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
103	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	nov/17	Seco
104	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
105	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona chalciope</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
106	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Lâminas
107	Heliconiinae	Acraeini	<i>Actinote thalia</i>	Macho	Japi	nov/17	Bloco
108	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius besckei</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
109	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	nov/17	Bloco
110	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Macho	Japi	nov/17	Lâminas
111	Heliconiinae	Acraeini	<i>Actinote thalia</i>	Macho	Japi	nov/17	Lâminas
112	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
113	Heliconiinae	Acraeini	<i>Actinote thalia</i>	Macho	Japi	nov/17	Lâminas
114	Nymphalinae	Melitaeini	<i>Eresia lansdorfi</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
115	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	nov/17	Lâminas
116	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Brassolis sophorae</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Álcool 70
117	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	nov/17	MEV
118	Biblidinae	Eubagini	<i>Dynamine thytia</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
119	Heliconiinae	Acraeini	<i>Actinote thalia</i>	Macho	Japi	nov/17	Lâminas
120	Heliconiinae	Acraeini	<i>Actinote thalia</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
121	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius besckei</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70

122	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius besckei</i>	Macho	Japi	nov/17	Bloco
123	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Macho	Japi	nov/17	Erro
124	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
125	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas epinome</i>	Fêmea	Japi	nov/17	Lâminas
126	Heliconiinae	Acraeini	<i>Actinote thalia</i>	Macho	Japi	nov/17	Álcool 70
127	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olená</i>	Macho	Japi	nov/17	MEV
128	Heliconiinae	Acraeini	<i>Actinote thalia</i>	Macho	Japi	nov/17	Lâminas
129	Heliconiinae	Acraeini	<i>Actinote thalia</i>	Macho	Japi	nov/17	Seco
130	Heliconiinae	Acraeini	<i>Actinote thalia</i>	Macho	Japi	nov/17	Erro
131	Danainae	Danaini (Danaina)	<i>Danaus erippus</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Álcool 70
132	Danainae	Danaini (Danaina)	<i>Danaus erippus</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Álcool 70
133	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Consultoria	nov/17	Seco
134	Danainae	Danaini (Danaina)	<i>Danaus erippus</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Álcool 70
135	Danainae	Danaini (Danaina)	<i>Danaus gillipus</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Seco
136	Danainae	Danaini (Danaina)	<i>Danaus erippus</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Álcool 70
137	Danainae	Danaini (Danaina)	<i>Danaus erippus</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Álcool 70
138	Danainae	Danaini (Danaina)	<i>Danaus gillipus</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Álcool 70
139	Danainae	Danaini (Danaina)	<i>Danaus gillipus</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Álcool 70
140	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona demophon</i>	Macho	Consultoria	nov/17	Álcool 70
141	Danainae	Danaini (Danaina)	<i>Danaus erippus</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Álcool 70
142	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Consultoria	nov/17	Seco
143	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Consultoria	nov/17	Álcool 70
144	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Consultoria	nov/17	Álcool 70
145	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	nov/17	Seco
146	Biblidinae	Eubagini	<i>Dynamine thytia</i>	Macho	Consultoria	nov/17	Álcool 70
147	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Consultoria	nov/17	Seco
148	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	nov/17	Seco
149	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Fêmea	Consultoria	nov/17	Álcool 70
150	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona chalciope</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
151	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona chalciope</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70

152	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona chalciope</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
153	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	Seco
154	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Lâminas
155	Nymphalinae	Coeini	<i>Historis odius</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
156	Nymphalinae	Coeini	<i>Historis odius</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
157	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
158	Nymphalinae	Nymphalini	<i>Smyrna blomfildia</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
159	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas fornax</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
160	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
161	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Caligo arisbe</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
162	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Caligo arisbe</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
163	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Caligo arisbe</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
164	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Japi	fev/18	Bloco
165	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	fev/18	Erro
166	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
167	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Lâminas
168	Biblidinae	Biblidini	<i>Biblis hyperia</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
169	Biblidinae	Callicorini	<i>Diaethria candrena</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
170	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius besckei</i>	Macho	Japi	fev/18	Bloco
171	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius besckei</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
172	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius besckei</i>	Macho	Japi	fev/18	Erro
173	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
174	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	Seco
175	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
176	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
177	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Seco
178	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
179	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Seco
180	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Fêmea	Japi	fev/18	MEV
181	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	Bloco

182	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	Seco
183	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona chalciope</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
184	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona chalciope</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
185	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	Seco
186	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	MEV
187	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
188	Danainae	Ithomini (Tithoreina)	<i>Aeria olena</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Seco
189	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Lâminas
190	Biblidinae	Biblidini	<i>Biblis hyperia</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
191	Satyrinae	Morphini	<i>Morpho helenor</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
192	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
193	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Caligo arisbe</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
194	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opoptera syme</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
195	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
196	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opoptera syme</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
197	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Erro
198	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
199	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opoptera syme</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
200	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
201	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opoptera syme</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
202	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
203	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opoptera syme</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
204	Satyrinae	Satyrini (Euptychiina)	<i>Godartiana muscosa</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
205	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opoptera syme</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
206	Satyrinae	Haeterini	<i>Pierella nereis</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
207	Satyrinae	Haeterini	<i>Pierella nereis</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
208	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opoptera syme</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
209	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
210	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
211	Nymphalinae	Nymphalini	<i>Hypanartia bella</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70

212	Biblidinae	Argeroniini	<i>Hamadryas fornax</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
213	Heliconiinae	Heliconiini	<i>Heliconius erato</i>	Macho	Japi	fev/18	Lâminas
214	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
215	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Japi	fev/18	Erro
216	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Opoptera syme</i>	Macho	Japi	fev/18	Álcool 70
217	Satyrinae	Haeterini	<i>Pierella nereis</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
218	Satyrinae	Haeterini	<i>Pierella nereis</i>	Fêmea	Japi	fev/18	Álcool 70
219	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Fêmea	Consultoria	fev/18	Álcool 70
220	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
221	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
222	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
223	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
224	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
225	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
226	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
227	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Erro
228	Biblidinae	Eubagini	<i>Dynamine thytia</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
229	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Bloco
230	Charaxinae	Preponini	<i>Archaeoprepona demophon</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
231	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
232	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
233	Satyrinae	Brassolini (Brassolina)	<i>Dasyophthalma creusa</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
234	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
235	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Bloco
236	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Fêmea	Consultoria	fev/18	Álcool 70
237	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Fêmea	Consultoria	fev/18	Álcool 70
238	Biblidinae	Catenophelini	<i>Myscelia orsis</i>	Fêmea	Consultoria	fev/18	Álcool 70
239	Biblidinae	Eubagini	<i>Dynamine thytia</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70
240	Biblidinae	Eubagini	<i>Dynamine thytia</i>	Macho	Consultoria	fev/18	Álcool 70