UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“A comunidade de licenídeos de uma área de cerrado: especificidade de dieta,
interações ecológicas e seleção de plantas hospedeiras”

Alexandra Bächtold

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e
Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área:
ENTOMOLOGIA

RIBEIRÃO PRETO - SP

2014

ALEXANDRA BÄCHTOLD

**“A COMUNIDADE DE LICENÍDEOS DE UMA ÁREA DE CERRADO:
ESPECIFICIDADE DE DIETA, INTERAÇÕES ECOLÓGICAS E SELEÇÃO DE
PLANTAS HOSPEDEIRAS”**

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e
Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área:
ENTOMOLOGIA

Orientador: Prof. Dr. Kleber Del Claro

Ribeirão Preto, 2014

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.

BÄCHTOLD, A. **A comunidade de licenídeos de uma área de cerrado: especificidade de dieta, interações ecológicas e seleção de plantas hospedeiras.** Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr. (a)

Prof.(a) Dr. (a)

Prof.(a) Dr. (a)

Prof.(a) Dr. (a)

Prof. Dr. Kleber Del Claro

(Orientador)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que de forma amadora ou profissional tem investido seu tempo estudando misteriosas criaturas denominadas como lagartas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente aos meus pais, pessoas fundamentais em toda minha vida;

Agradeço a Deus;

Agradeço ao meu orientador, professor Kleber Del Claro, pela confiança, sabedoria e presteza. Obrigada pelos “puxões de orelha” e pelos conselhos.

Não menos importante, agradeço:

- ao Estevão Alves da Silva, pela inestimável ajuda, paciência, exigência e fonte de otimismo. Presença marcante dentro e fora da minha vida acadêmica;

- ao doutor Lucas Augusto Kaminski, meu coorientador informal cuja contribuição tem sido fundamental;

- ao doutor Sebastián F. Sendoya, que pacientemente tem contribuído com análises estatísticas;

- às secretárias (Renata Andrade Cavallari e Vera Cassia C. de Lucca) e professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da FFCLRP/USP pela crescente contribuição durante os quatro anos de doutorado;

- ao professor Carlos Alberto Garófalo e seus solícitos e queridos alunos: Patrícia, Morgana, Ana, Caroline, Elisa e Léo. Pessoas que juntamente com Maria Juliana e Annelise contribuíram de alguma forma com minha vida acadêmica em Ribeirão Preto;

- aos colegas do Laboratório de Ecologia Comportamental e de Interações – LECl;

- à Fapesp, pelo suporte financeiro para os meus estudos (processo 2010/52231-8) e contribuição efetiva à minha vida acadêmica;

- à diretoria do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, por disponibilizar a área de estudo;

- a todos os amigos e colegas mineiros, paulistas, catarinenses que de alguma maneira tem me ajudado e me apoiado.

ÍNDICE

RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
Objetivos gerais.....	4
Referências bibliográficas.....	5

CAPÍTULO I – Padrões ecológicos de uma comunidade de licenídeos florívoros: sazonalidade, plantas hospedeiras, parasitóides e associações com formigas.....

Resumo.....	9
Introdução.....	10
Material e métodos.....	13
Resultados.....	17
Discussão.....	30
Referências bibliográficas.....	34

CAPÍTULO II - O papel de plantas com nectários extraflorais e formigas na comunidade de borboletas mirmecófilas (Lepidoptera: Lycaenidae).....

Resumo.....	44
Introdução.....	45
Material e métodos.....	48
Resultados.....	53
Discussão.....	67
Referências bibliográficas.....	71

CAPÍTULO III - O papel das formigas atendentes na seleção de planta hospedeira e parasitismo de ovos de duas borboletas mirmecófilas facultativas.....

Resumo.....	78
-------------	----

Introdução.....	79
Material e métodos.....	82
Resultados.....	87
Discussão.....	90
Referências bibliográficas.....	94

CAPÍTULO IV - O padrão de oviposição da borboleta mirmecófila *Leptotes cassius* (Lycaenidae) não é baseado na presença de formigas atendentes.....

atendentes.....	99
Resumo.....	100
Introdução.....	101
Material e métodos.....	103
Resultados.....	106
Discussão.....	108
Referências bibliográficas.....	111

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	115
ANEXOS.....	117

RESUMO

Borboletas neotropicais, como os licenídeos, são conhecidas pela notável diversidade, entretanto aspectos ecológicos fundamentais desse grupo taxonômico, particularmente dos imaturos, como informações sobre suas plantas hospedeiras e interações mirmecófilas são praticamente desconhecidos para a maioria das comunidades neotropicais. Além do que, o conhecimento limitado da história natural desses insetos, impede uma melhor compreensão do seu papel ecológico-evolutivo. Com isso, a presente tese teve como objetivo inicial caracterizar a comunidade de imaturos de licenídeos florívoros em uma área de cerrado, descrevendo o padrão de sazonalidade, identificando as plantas hospedeiras, a amplitude de dieta e interações com formigas e inimigos naturais. A partir dessa base de informações, o objetivo seguinte foi avaliar a ocorrência de licenídeos florívoros no cerrado de acordo com fatores ligados à disponibilidade de alimento nas plantas e à presença de formigas. Adicionalmente, foram estudados diferentes sistemas de interação licenídeos-plantas-formigas com o intuito de inferir o papel da formiga sobre a seleção de plantas hospedeiras. Em suma, nosso estudo mostrou uma comunidade composta por 31 espécies de Lycaenidae registradas em 41 espécies (17 famílias) de plantas hospedeiras e caracterizada pela marcante sazonalidade, cuja ocorrência de imaturos foi maior durante a estação seca. De forma geral, a comunidade de licenídeos apresentou variação de acordo com a oferta temporal de alimento, acompanhando a fenologia de suas plantas hospedeiras disponíveis no campo. Contudo, a comunidade estudada aqui, formada por licenídeos oligófagos e polífagos teve uma tendência em utilizar plantas com menor quantidade de botões e também selecionar plantas que possuem nectários extraflorais e plantas ocupadas por formigas. Particularmente, nosso estudo revelou que a seleção de plantas hospedeiras mediadas por formigas pode variar de acordo com o sistema estudo.

Licenídeos como *Allosmaitia strophius* e *Rekoa marius* utilizaram a presença de formigas como pista durante a seleção de plantas *Heteropterys byrsonimifolia*, porém os ovos presentes em ramos com formigas sofreram maior ação de parasitóides. Enquanto que *Leptotes cassius* mostrou selecionar inflorescências de *Bionia coriacea* independente da presença de *Camponotus*, formigas as quais mantém associações facultativas.

ABSTRACT

The Lycaenidae butterflies are known for their remarkable diversity in the Neotropics; however basic ecological features of this group, especially of the immature stages, such as information about host plants and ant-interactions (myrmecophily) are barely known for most species. Therefore the limited knowledge of lycaenids' natural history restrains a better understanding of important ecological-evolutionary aspects. In this thesis we initially characterized the community of florivorous lycaenids in a Brazilian Savanna area, describing the seasonal occurrence of immatures, identifying host plants, the diet breadth and interactions with ants and natural enemies. Then, we evaluated the occurrence of the lycaenids according to factors related to resource availability (host plants) and the presence/absence of ants. In summary, we sampled 31 species of Lycaenidae in 41 plant species (17 families). Immatures were more abundant in the dry season indicating a seasonal pattern of occurrence; in addition lycaenids were related to the temporal availability of food resource, following the phenology of the host plants in the field. The oligophagous and polyphagous species were found predominately in plants which produce few flowers buds. The presence of immatures in extrafloral nectaried plants was commonplace, which was expected given that larvae can benefit from living with ants. A further detailed experimental study revealed that ant presence is a cue for female oviposition in two facultative myrmecophilous lycaenid species *Allosmaitia strophius* and *Rekoa marius*, but contrary to our predictions, ants failed to protect lycaenid eggs from parasitoids. In other study system, *Leptotes cassius* did not discriminate between plants with or without ants, despite the fact that larvae had stable association with ants. Our study indicates that there can be striking differences among lycaenid species with regard to association with ants and the benefits granted

from these associations. So generalizations about lycaenid ant associations should be avoided and every study system must be examined with detail.

INTRODUÇÃO GERAL

Considerado um dos grupos de seres vivos mais diversificados, os insetos juntamente com as plantas representam a maior parte da biomassa terrestre. Recentes estimativas mostram que esse grupo de artrópodes é composto por pelo menos 925 mil espécies (Grimaldi & Engel 2005). Cerca de metade dessas espécies apresentam íntima relação com as plantas, então classificados como herbívoros por utilizarem material vegetal vivo como alimento (Schoonhoven et al. 2005; Del-Claro e Torezan-Silingardi 2012). Lepidoptera, ordem que compreende borboletas e mariposas, é predominantemente um grupo de insetos herbívoros cujas larvas, em sua vasta maioria de espécies, é folívora (Dyer et al. 2007). Há ainda reduzido grupo de lepidópteros que utilizam as demais partes da planta como alimento (botões florais, flores e mesmo frutos) entre os quais estão muitas larvas de Lycaenidae (Robbins & Aiello 1982, Fiedler 1991, Silva et al. 2011).

Lycaenidae é uma das famílias mais ricas de borboletas com valor estimado em 4000 espécies. Parte dessa diversidade encontra-se em regiões neotropicais e, primariamente por espécies da tribo Eumaeini (1058 espécies). Para América do Sul duas subfamílias são reconhecidas: Polyommatainae e Theclinae, o qual a tribo Eumaeini pertence (Brown 1993, Robbins 2004). A florivoria é comum entre larvas de Eumaeini, havendo exceções como, por exemplo, larvas detritívoras (algumas espécies de *Calycopis*, Duarte et al. 2005, Duarte & Robbins 2009). Há ainda outras larvas de Lycaenidae, entretanto de diferentes subfamílias, que são categorizadas como carnívoras. É o interessante exemplo das larvas de *Miletus biggsii* que se alimentam de afídeos atendidos por formigas (Lohman & Samarita 2009). Outras ainda são classificadas como parasíticas. Neste caso as larvas são capazes de parasitar ninhos de formigas através de complexa camuflagem e mimetismo químico. Assim as larvas vivem dentro dos

ninhos de formigas onde são protegidas e alimentadas (via trofalaxia). *Maculinea rebeli* e formigas do gênero *Myrmica* (Akino et al. 1999) é um exemplo dessa complexa interação.

Interações simbióticas entre larvas e formigas são amplamente conhecidas para duas famílias de borboletas: Riodinidae e Lycaenidae e (Fiedler 1991, Pierce et al. 2002). Nesse tipo de interação as larvas geralmente possuem adaptações morfológicas (órgãos nectaríferos) cuja função é apaziguar as formigas e atraí-las oferecendo alimento nutritivo (Malicky 1970). Em troca, as formigas passam a antenar as larvas, protegendo-as (Fiedler 1991, Pierce et al. 2002, Kaminski & Rodrigues 2011). Para isso, larvas de licenídeos podem apresentar diferentes órgãos nectaríferos: o órgão nectarífero dorsal (DNO) ou órgão de Newcomer, constituído por uma estrutura única posicionada dorsalmente no sétimo segmento abdominal capaz de secretar conteúdo nutricional rico em aminoácidos, fonte de alimento para as formigas (Newcomer 1912, Malicky 1970, DeVries & Baker 1989, Fiedler 1991); os órgãos perfurados em forma de cúpula (PCOs) representados por glândulas epidermais unicelulares presentes em quase todos os Lycaenidae e Riodinidae que possivelmente produzem voláteis importantes no apaziguamento das formigas (Malicky 1970, Kaminski 2006) e ainda os órgãos tentaculares (TOs) eversíveis que aparecem pareados em algumas larvas de Lycaenidae e produzem substâncias voláteis que induzem comportamento de alerta e agressividade nas formigas atendentes (DeVries Fiedler 1991, Axén et al. 1996).

O grau da associação entre larvas de licenídeos e formigas pode variar de facultativo à obrigatório e até mesmo não apresentar aparente associação com formigas. A mirmecofilia obrigatória é caracterizada pela estreita relação em que a borboleta passa a depender de específica formiga para sobreviver em algum estágio do seu ciclo de vida. As larvas com interações facultativas podem ou não ser encontradas com formigas, são atendidas geralmente por grande variedade de espécies de formigas (comparada às larvas obrigatórias), todavia não dependem delas para sobreviverem (Fiedler 1991, Pierce et al. 2002). Até o momento, não se

tem registro de mirmecofilia obrigatória para larvas Eumaeini, apenas registros de espécies facultativas e não-mirmecófilas (Robbins 1991; Monteiro 1991; Ballmer & Pratt 1988; Duarte et al. 2005; Kaminski & Freitas 2010, Kaminski et al. 2012).

Para vários licenídeos, a mirmecofilia pode estar associada à amplitude de dieta larval dessas borboletas. Alguns estudos têm mostrado que fêmeas de borboletas com mirmecofilia obrigatória são capazes de utilizar a presença de formiga como pista durante a seleção da planta hospedeira (Atsatt 1981, Pierce & Elgar 1985). Pelo fato da mirmecofilia obrigatória ocorrer em associações específicas larva-formiga, esse tipo de oviposição mediada por formiga foi inicialmente demonstrada apenas para licenídeos obrigatórios. Contudo, alguns autores têm provado que esse tipo de oviposição também ocorre em espécies facultativas (Wagner & Kurina 1997, Kaminski et al. 2010, Tragger et al. 2013).

Assim como ocorre em várias florestas tropicais, a vegetação do cerrado apresenta notável riqueza de insetos, sobretudo elevada abundância de formigas cuja marcante presença é justificada pelos vários recursos que as plantas oferecem às formigas, entre eles o líquido açucarado produzido pelos nectários extraflorais (Oliveira et al. 2002, Rico-Gray & Oliveira 2007). Com isso, o cerrado tem se tornado um bioma possuidor de bons modelos de estudos em sistemas planta-formiga-herbívoro (Oliveira & Del-Claro 2005, Del-Claro & Silingardi 2009), incluindo interações mirmecófilas com herbívoros florais como os licenídeos (Morais et al. 2009, Silva et al. 2001).

A presente tese teve como objetivo principal caracterizar uma comunidade de licenídeos florívoros identificando os principais fatores ecológicos que condicionam sua ocorrência no cerrado. A tese foi dividida em capítulos conforme seus **objetivos gerais** para facilitar a compreensão dos diferentes temas abordados dentro de Lycaenidae e visando futuras publicações.

Capítulo 1. Padrões ecológicos de uma comunidade de licenídeos florívoros: sazonalidade, plantas hospedeiras, parasitóides e associações com formigas;

Objetivo geral:

- caracterizar a comunidade de Lycaenidae florívoros descrevendo o padrão de sazonalidade, identificando as plantas hospedeiras, a amplitude de dieta e interações com formigas e inimigos naturais.

Capítulo 2. O papel de plantas com nectários extraflorais e formigas na comunidade de borboletas mirmecófilas (Lepidoptera: Lycaenidae) de uma área de cerrado;

Objetivo geral:

- avaliar a ocorrência de licenídeos florívoros de acordo com fatores ligados à presença de formigas e disponibilidade de alimento nas plantas;

Capítulo 3. O papel das formigas atendentes na seleção de planta hospedeira e parasitismo de ovos de duas borboletas mirmecófilas facultativas

(artigo publicado na revista Naturwissenschaften)

Objetivo geral:

- testar se a presença de formigas interfere na seleção de planta hospedeira e consequentemente na taxa de parasitismo de ovos de licenídeos;

Capítulo 4. O padrão de oviposição da borboleta mirmecófila *Leptotes cassius* não é baseado na presença de formigas atendentes

Objetivo geral:

- avaliar se o padrão de oviposição de *Leptotes cassius* é influenciado pelas formigas *Camponotus* nas plantas hospedeiras.

Referências bibliográficas

- Akino T, Knapp J, Thomas J, Elmes G (1999) Chemical mimicry and host specificity in the butterfly *Maculinea rebeli*, a social parasite of *Myrmica* ant colonies. *P Roy Soc Lond B Bio* 266: 1419-1426
- Atsatt PR (1981) Ant-dependent food plant selection by the mistletoe butterfly *Ogyris amaryllis* (Lycaenidae). *Oecologia* 48: 60-63
- Axén AH, Leimar O, Hoffman V (1996) Signalling in a mutualistic interaction. *Anim Behav* 52: 321-333
- Ballmer GR, Pratt GF (1988) A survey of the last instar larvae of the Lycaenidae (Lepidoptera) of California. *J R Lepidoptera* 27:1-81
- Brown Jr KS (1993) Selected Neotropical species, pp. 146–149. In New, T. R., ed. *Conservation Biology of Lycaenidae (Butterflies)*. IUCN, Gland, Switzerland
- Del-Claro K, Torezan-Silingardi HM (2009) Insect-plant interactions: new pathways to a better comprehension of ecological communities in Neotropical savannas. *Neotrop Entomol* 38: 159-164
- DeVries P, Baker I (1989) Butterfly exploitation of an ant-plant mutualism: adding insult to herbivory. *J N Y Entomol Soc* 97: 332-340
- DeVries P (1988) The larval ant-organs of *Thisbe irenea* (Lepidoptera: Riodinidae) and their effects upon attending ants. *Zool J Linn Soc* 94: 379-393
- Duarte M, Robbins RK (2009) Immature stages of *Calycopis bellera* (Hewitson) and *C. janeirica* (Felder) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini): taxonomic significance and new evidence for detritivory. *Zootaxa* 2325: 39-61
- Duarte M, Robbins RK, Mielke OH (2005) Immature Stages of *Calycopis caulonia* (Hewitson, 1887) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini), with Notes on Rearing Detritivorous Hairstreaks on Artificial Diet. *Zootaxa* 1063: 1-31.
- Dyer LA, Singer M, Lill J, Stireman J, Gentry G, Marquis RJ, Ricklefs R, Greeney HF, Wagner DL, Morais H (2007) Host specificity of Lepidoptera in tropical and temperate forests. *Nature* 448: 696-699
- Fiedler K (1991). Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the Lycaenidae (Insecta: Lepidoptera:Papilionoidea). *Bonn Zool Monogr* 31: 1-210
- Grimaldi D, Engel MS (2005) *Evolution of the Insects*. Cambridge University Press

- Kaminski LA, Freitas AV (2010). Natural history and morphology of immature stages of the butterfly *Allosmaitia strophius* (Godart) (Lepidoptera: Lycaenidae) on flower buds of Malpighiaceae. *Stud Neotrop Fauna E* 45: 11-19
- Kaminski LA, Rodrigues D (2011) Species-specific levels of ant attendance mediate performance costs in a facultative myrmecophilous butterfly. *Physiol Entomol* 36: 208-214
- Kaminski LA, Freitas AV, Oliveira PS (2010b). Interaction between mutualisms: ant-tended butterflies exploit enemy-free space provided by ant-treehopper associations. *Am Nat* 176: 322-334
- Kaminski LA, Rodrigues D, Freitas AV (2012) Immature stages of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae): host plants, tending ants, natural enemies and morphology. *J N Hist* 46: 645-667
- Lohman DJ, Samarita VU (2009) The biology of carnivorous butterfly larvae (Lepidoptera: Lycaenidae: Miletinae: Miletini) and their ant-tended hemipteran prey in Thailand and the Philippines. *J N Hist* 43: 569-581
- Malicky H (1970) New aspects of the association between lycaenid larvae (Lycaenidae) and ants (Formicidae, Hymenoptera). *J. Lepid. Soc.* 24: 190-202
- Monteiro R (1991) Cryptic larval polychromatism in *Rekoa marius* Lucas and *R. palegon* Cramer (Lycaenidae: Theclinae). *J Res Lepidoptera* 29: 77-84
- Morais HC, Hay JDV, Diniz IR (2009) Brazilian cerrado folivore and florivore caterpillars: how different are they? *Biotropica* 41: 401-405
- Newcomer EJ (1912) Some observations on the relation of ants and lycaenid caterpillars, and a description of the relational organs of the latter. *J N Y Entomol Soc* 20: 31-36.
- Oliveira PS, Del-Claro K (2005) Multitrophic interactions in a Neotropical savanna: ant-hemipteran systems, associated insect herbivores and a host plant. Pp 414-438. In: D.F.R.P. Burslem, M.A. Pinard & S.E. Hartley (eds.), *Biotic Interactions in the Tropics*. Cambridge University Press, Cambridge
- Oliveira PS, Freitas AVL, Del-Claro K (2002) Ant foraging on plant foliage: contrasting effects on the behavioral ecology of insects herbivores. Pp 287-305. In: P.S. Oliveira & R.J. Marquis (eds.), *The cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*. Columbia University Press, New York
- Pierce NE, Elgar MA (1985) The influence of ants on host plant selection by *Jalmenus evagoras*, a myrmecophilous lycaenid butterfly. *Behav Ecol Sociobiol* 16: 209-222

- Pierce NE, Braby MF, Heath A, Lohman, DJ, Mathew J, Rand DB, Travassos MA (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Annu Rev Entomol* 47: 733-771
- Rico-Gray V, OLIVEIRA PS (2007) The ecology and evolution of ant-plant interactions. University of Chicago Press, Chicago.
- Robbins RK, Aiello A (1982) Foodplant and oviposition records for Panamanian Lycaenidae and Ridonidae. *J Lepid Soc* 36: 65-75
- Robbins RK (1991) Cost and evolution of a facultative mutualism between ants and lycaenid larvae (Lepidoptera). *Oikos* 62: 363-369
- Robbins RK. 2004. Lycaenidae. Theclinae. Eumaeini. Pp 118–137. In: Lamas G, editor. Checklist: Part 4A. Hesperioidea—Papilionoidea. In: Heppner JB, editor. Atlas of Neotropical Lepidoptera. Volume 5A. Gainesville (FL): Association for Tropical Lepidoptera, Scientific Publishers.
- Schoonhoven LM, Van Loon JJ, Dicke M (2005) Insect-plant biology. Oxford University Press
- Silva NAP, Duarte M, Diniz IR, Morais HC (2011) Host plants of Lycaenidae on inflorescences in the central Brazilian cerrado. *J Res Lepidoptera* 44: 95-105
- Trager MD, Thom MD, Daniels JC (2013) Ant-Related Oviposition and Larval Performance in a Myrmecophilous Lycaenid. *International Journal of Ecology* DOI: 10.1155/2013/152139
- Wagner D, Kurina L (1997) The influence of ants and water availability on oviposition behaviour and survivorship of a facultatively ant-tended herbivore. *Ecol Entomol* 22: 352-360

CAPÍTULO I

PADRÕES ECOLÓGICOS DE UMA COMUNIDADE DE LICENÍDEOS FLORÍVOROS: SAZONALIDADE, PLANTAS HOSPEDEIRAS, PARASITÓIDES E ASSOCIAÇÕES COM FORMIGAS

Alexandra Bächtold¹, Lucas A. Kaminski² & Kleber Del-Claro³

1. Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 14040-901, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.
2. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, C. P. 6109, 13083-970 Campinas São Paulo, Brasil.
3. Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia 38400-902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Padrões ecológicos de uma comunidade de licenídeos florívoros: sazonalidade, plantas hospedeiras, parasitóides e associações com formigas

Alexandra Bächtold, Lucas A. Kaminski & Kleber Del-Claro

Resumo

Borboletas neotropicais, como os licenídeos, são conhecidas pela notável diversidade, entretanto aspectos ecológicos fundamentais desse grupo taxonômico, particularmente dos imaturos, como informações sobre suas plantas hospedeiras e interações mirmecófilas permanecem insuficientemente conhecidas quando considerado comunidades neotropicais. Com isso, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a comunidade de imaturos de licenídeos florívoros em uma área de cerrado, descrevendo o padrão de sazonalidade, identificando as plantas hospedeiras, a amplitude de dieta e interações com formigas e inimigos naturais. Foram encontradas 31 espécies de licenídeos registrados em 41 espécies de plantas (17 famílias). Os licenídeos apresentaram sazonalidade visto que a ocorrência de imaturos foi maior na estação seca, mesmo com baixa riqueza de plantas hospedeiras. Nesse mesmo período, houve um aumento na taxa de parasitismo à medida que ocorria uma redução na abundância de licenídeos. Na escala local, a maioria das espécies apresentou oligofagia, ou seja, se alimentaram de apenas uma família de plantas. Atributos ecológicos como distribuição geográfica das borboletas e sua amplitude de dieta larval são importantes pontos aqui discutidos e que precisam ser considerados sobre a ecologia de borboletas neotropicais. Além disso, foi registrada uma baixa frequência de interações entre formigas e larvas no campo e envolvendo apenas duas espécies de licenídeos, o que revelou uma comunidade com baixo grau de associação com formigas.

Palavras-chave: Lycaenidae, plantas hospedeiras, formigas atendentes, Cerrado

Introdução

Assim como demais insetos holometábolos, os lepidópteros (borboletas e mariposas) possuem estágios larvais e consequentemente apresentam distintos hábitos e recursos alimentares comparados à fase adulta (Scoble 1995). A maioria das larvas é herbívora, enquanto que os adultos se alimentam de néctar, pólen e líquido de frutos fermentados; ainda, algumas espécies são detritívoras ou hematófagas ou mesmo não se alimentam durante a vida adulta (Duarte et al. 2012). Esses distintos hábitos estão diretamente associados à ecologia nutricional desses insetos e podem influenciar na sobrevivência dos adultos e a reprodução (Bogs 1987). Neste caso, estudos têm mostrado que diferentes dietas das larvas podem resultar em maior tempo de vida do adulto (Brakefield & Kesbeke 1995) e maior viabilidade de seus ovos (Mevi-Schütz & Erhardt 2005).

As borboletas estão entre os insetos mais estudados com sistemática relativamente bem definida, sucesso possivelmente explicado pela vantagem da facilidade da coleta (até mesmo realizada por amadores) e da identificação desses insetos que é baseada nos adultos (Daily & Ehrlich 1995, Freitas et al. 2003). Por outro lado, informações ecológicas particulares do ciclo de vida que permitem conhecer a ecologia da comunidade de borboletas, ainda são escassas quando comparadas aos estudos relacionados exclusivamente à vida dos adultos (Moraes & Hay 2009). Informações ecológicas como a distribuição, abundância e qualidade da planta hospedeira são fatores que influenciam a escolha de oviposição das borboletas fêmeas e, por conseguinte a ocorrência das lagartas (Thompson & Pellmyr 1991, Quinn et al. 1998, Novicki et al. 2005), visto que larvas de ínstaes iniciais apresentam baixa mobilidade e não se dispersam para outra planta (Zalucki et al 2002). A habilidade das fêmeas em detectar predadores sobre

a vegetação e então selecionar plantas livres de inimigos naturais é outro importante mecanismo para as lagartas uma vez que minimiza a mortalidade das mesmas (Schmitz et al. 2004, Sendoya et al. 2009). Contudo, na presença de predadores e parasitóides, algumas larvas são capazes de construir refúgios foliares em suas plantas hospedeiras a fim de evitar estes inimigos naturais (Jones et al. 2002); outras larvas ainda podem associar-se com formigas (no caso de larvas mirmecófilas) como forma de proteção (Pierce et al. 2002). Do mesmo modo que as larvas de lepidópteros podem apresentar diversas estratégias de defesas (Stamp & Casey 1993, Salazar & Whitman 2001), os parasitóides, por sua vez, podem utilizar voláteis das plantas ou mesmo dos herbívoros como pistas químicas para reconhecer seus hospedeiros (Takabayashi et al. 2006, Schröder et al. 2008).

A fenologia das plantas hospedeiras é outro fator que condiciona a ocorrência das lagartas (Wolda 1988, Janzen 1993, Morais et al. 1999, Vilela et al 2014) sendo também responsável pela sazonalidade desses e de demais herbívoros (Braby 1995, Silva & Oliveira 2010, Muniz et al. 2012). Entretanto, informações básicas como o conhecimento das espécies de plantas hospedeiras de borboletas neotropicais ainda são insuficientes, especialmente para Lycaenidae (Becalloni et al. 2008, Silva et al. 2011, Kaminski et al. 2012, Vargas & Duarte 2014).

Lycaenidae é uma família de borboletas que se destaca pela riqueza em espécies na região Neotropical (aproximadamente 1200), sendo a maioria (~90%) pertencente à tribo Eumaeini (Robbins 2004). A maioria das larvas de Eumaeini é florívora, se alimentando de partes reprodutivas de várias espécies de plantas (Robbins & Aiello 1982, Fiedler 1991, Brown 1993, Silva et al. 2011). Outra característica relevante para essa tribo é o fato de muitas larvas serem polípagas (encontradas em duas ou mais famílias de plantas hospedeiras) (Silva et al. 2011, Kaminski et al. 2012). Para muitas espécies polípagas, a utilização de um amplo conjunto de plantas hospedeiras pode ser vantajosa visto que botões e flores são recursos efêmeros

(Smallegange et al. 2007), embora o uso de diferentes espécies de hospedeiras possa incluir plantas de baixa qualidade nutricional (Rodrigues et al. 2010).

A escolha de plantas com baixa qualidade nutricional pode ser recompensada pela existência de espaço livre de inimigos, especialmente no caso de herbívoros mirmecófilos (Singer et al. 2004, Rodrigues et al. 2010). Para muitos licenídeos, a associação simbiótica de suas larvas com formigas (mirmecofilia) representa uma proteção contra inimigos naturais (Pierce & Eastal 1986, Weeks 2003), enquanto as formigas recebem alimento produzido pelas larvas (Fiedler 1991, Pierce et al. 2002). Para alguns licenídeos essa associação com formigas é tão estreita que as fêmeas são capazes de utilizar a presença da formiga como pista durante a seleção da planta hospedeira (Pierce & Elgar 1985, Fiedler & Maschwitz 1989), estabelecendo assim importante papel sobre o uso de plantas hospedeiras.

Embora as espécies de licenídeos neotropicais representem notável diversidade a nível global (Robbins 2004), a ecologia desse grupo taxonômico (incluindo informações sobre suas plantas hospedeiras, biologia e história natural) é ainda limitada quando comparado ao banco de dados de outras regiões biogeográficas (Fiedler 1991, 2001, Pierce et al. 2002). Contudo, o crescente número de trabalhos com licenídeos nos neotrópicos evidencia importantes esforços para suprir essa lacuna de conhecimento (Duarte et al. 2001, Duarte et al. 2005, Beccaloni et al. 2008, Duarte & Robbins 2009, Kaminski & Freitas 2010, Kaminski et al. 2010, Silva et al. 2011, Kaminski et al. 2012, Bächtold et al. 2013, Vargas & Duarte 2014).

Nesse sentido, o presente estudo objetivou caracterizar a comunidade de Lycaenidae florívoros descrevendo o padrão de sazonalidade, identificando as plantas hospedeiras, a amplitude de dieta e interações com formigas e inimigos naturais. Para tal, o estudo foi realizado através de levantamento sistemático de imaturos de licenídeos abordando as seguintes questões: (1) Há sazonalidade na comunidade de licenídeos florívoros do cerrado? (2) Qual a amplitude de dieta numa escala local? Ela é diferente quando consideramos escalas maiores? (3) Quão

frequente é a taxa de parasitismo sobre a comunidade de licenídeos ao longo do ano? (4) Quão frequentes são as interações entre larvas de licenídeos e formigas no campo? Nós hipotetizamos que a sazonalidade é marcante dentre as espécies de Lycaenidae no cerrado, devido à forte estação seca característica desse bioma (Morais et al. 1999) e que as interações com formigas são frequentes, dada a abundância e diversidade desses táxons nos neotropicos (Brown 1993, Rico-Gray & Oliveira 2007).

Material e métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado em uma área de cerrado *sensu strictu* localizada na Reserva Ecológica do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia – CCPIU (18°59'S – 48°18'W) em Uberlândia, Minas Gerais, no período de fevereiro de 2011 a janeiro de 2012. A vegetação da área (cerca de 230 ha) é composta predominantemente por estrato herbáceo, gramíneas, arbustos (<1.5 m) e árvores que atingem até 4 metros de altura. O clima é caracterizado por duas estações bem definidas, verão chuvoso (outubro a março) e inverno seco (abril a setembro) (Figura 1) (Laboratório de Climatologia, Universidade Federal de Uberlândia).

Figura 1. Variáveis climáticas (temperatura e precipitação) durante o período de estudo. A área sombreada corresponde à estação seca.

Amostragem de licenídeos e suas plantas hospedeiras

A comunidade de licenídeos florívoros foi descrita a partir dos imaturos (ovos e larvas) coletados mensalmente em um transecto de aproximadamente 3 km. Foram examinadas as plantas em período de floração localizadas a 5 m de cada lado desse transecto, perfazendo assim uma área de amostragem de 30000 m² (3 ha) (Figura 2).

Figura 2. Área de cerrado *sensu stricto* (contorno de linha azul) dentro do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, CCPIU. A linha verde indica o transecto percorrido durante o estudo (fevereiro/2011 a janeiro/2012). Escala: 500 metros. Fonte: Google Earth™ 2014.

Durante esta amostragem, todas as plantas (aqui árvores e arbustos) que floresceram foram investigadas quanto à presença de imaturos de licenídeos. Ao final do estudo, inflorescências de 85 espécies de plantas (em 29 famílias) localizadas dentro da área do

transecto foram examinadas foram inspecionadas, porém foram consideradas plantas hospedeiras somente aquelas em que imaturos de Lycaenidae foram encontrados se alimentando. A cada inspeção nas plantas, as inflorescências eram longa e cuidadosamente examinadas, já que o hábito críptico de algumas espécies (adquirir cores similares às flores – Monteiro 1991, Kaminski et al. 2012) pode dificultar o encontro de algumas larvas. Além disso, ovos que se localizam em flores (sépalas e pétalas) podem ser também difíceis de serem encontrados à primeira vista. As coletas foram realizadas em dias ensolarados, e incluíam, naturalmente somente as plantas em floração.

As larvas encontradas nas inflorescências foram cuidadosamente coletadas com pincel. Já os ovos foram levados a laboratório juntamente com a estrutura na qual estavam fixos (flores ou botões florais), visto que a retirada manual dos ovos poderia provocar danos letais. Os imaturos (ovos e larvas) coletados no campo foram criados em laboratório para obtenção de adultos. Além disso, a emergência de parasitoides de ovos, larvas e pupas também foi registrada.

Ovos e larvas foram individualizados e criados em potes plásticos separados, de diferentes volumes (30 ml para ovos, 250 ml para larvas). A reposição de alimento fresco (inflorescências das mesmas plantas de onde os imaturos foram encontrados) foi realizada *ad libitum*, enquanto a limpeza dos potes foi diária. Adultos obtidos durante a criação em laboratório foram posteriormente identificados a nível específico, sempre que possível. Parasitóides de ovos, larvas e pupas foram fixados em solução de Dietrich (600 mL de álcool etílico 96°GL, 300 mL de água destilada, 100 mL de formol a 40% e 20 mL de ácido acético).

As plantas foram comumente identificadas no campo, por se tratarem de espécimes de cerrado bem conhecidas na área. Quando a identificação não foi possível, ou quando havia dúvidas quanto à espécie, as plantas foram coletadas, herborizadas e depositadas no *Herbarium Uberlandensis* (Universidade Federal de Uberlândia) para comparar com demais espécimes da

região.

Dados climáticos (temperatura e pluviosidade) foram avaliados como possíveis fatores sobre a ocorrência de licenídeos.

Amplitude de dieta e associações com formigas

As espécies de Lycaenidae coletadas durante o estudo foram classificadas quanto ao tipo de dieta: oligofagia - uso de plantas pertencentes a uma única família e poligafia - uso de duas ou mais famílias de plantas (Bernays & Chapman 1994). A monofagia (uso de única espécie de hospedeira) não foi utilizada na classificação visto que espécies tropicais monófagas são raras e pouco distribuídas (Novotny et al. 2002). Nossos dados também foram utilizados para se comparar a dieta “local” (dados registrados no presente estudo) com a “global” (dados disponíveis na literatura, ver Tabela 1).

O registro de formigas atendentes foi feito concomitantemente à amostragem dos imaturos nas plantas hospedeiras. Foram consideradas atendentes as formigas que antenaram intensamente sobre os últimos segmentos abdominais das larvas (próximo aos órgãos nectaríferos, como o órgão nectarívoro dorsal– DNO) (veja Malicky 1970, Kaminski & Rodrigues 2011).

Análises estatísticas

Para avaliar a relação entre a riqueza mensal de espécies de licenídeos e de plantas hospedeiras foi utilizado o Coeficiente de Correlação de Pearson visto que os dados referentes a essas variáveis apresentaram distribuição normal (teste de Lilliefors $p > 0.05$). Para verificar se houve diferença na riqueza mensal de espécies de plantas hospedeiras entre as estações (seca e chuvosa), foi utilizado o teste t de Student. Para avaliar a sazonalidade dos licenídeos foi utilizada a análise de estatística circular (Programa Oriana) através dos dados da abundância

relativa mensal dos imaturos registrados durante os doze meses de estudo. Os meses foram convertidos em variáveis numéricas (1-12) e combinados com seus respectivos valores de abundância dos licenídeos. Entre os valores calculados pela estatística circular, dois deles são importantes na análise da sazonalidade: (i) o vetor r que indica se a ocorrência de licenídeos foi sazonal e (ii) o teste de Rayleigh (z) que indica se a sazonalidade foi significativa (Fischer 1996). Para avaliar a relação entre imaturos de licenídeos e parasitismo (imaturos de licenídeoa parasitados), foi utilizado teste de teste de regressão linear simples.

Foram construídos modelos lineares generalizados (GLM) para avaliar a influência dos fatores abióticos (temperatura e precipitação) sobre a abundância de licenídeos. O modelo foi ajustado com distribuição de Poisson para a variável resposta (abundância de licenídeos) considerando que são dados contados (Zuur et al. 2009). Após detectar sobredispersão nos dados, os mesmos tiveram os erros padrões corrigidos usando um modelo quasi-GLM (Zuur et al. 2009). As análises GLM foram realizadas no programa estatístico R environmet (R Development Core Team 2012).

Resultados

Amostragem de licenídeos e suas plantas hospedeiras

Foram amostrados 365 imaturos de Lycaenidae em 31 espécies ($n = 29$ Eumaeini; $n = 2$ Polyommatainae). Das 85 espécies de plantas investigadas durante a amostragem anual, 41 delas (em 17 famílias) foram consideradas como plantas hospedeiras de licenídeos, devido à presença e alimentação dos imaturos (ovos e larvas) nestas plantas (Tabela 1, Anexo 1). Ao todo, nosso estudo reportou 87 registros de plantas hospedeiras para as 31 espécies de licenídeos incluindo novos registros de famílias. Desse total de licenídeos, 13 espécies tiveram novos registros de famílias de plantas hospedeiras. Como por exemplo, *R. marius* foi registrada pela primeira vez

em Caryocaraceae (*Caryocar brasiliense* Camb.), Erythroxylaceae (*Erythroxylum suberosum* St. Hil.) e Symplocaceae (*Symplocos rhamnifolia* A.DC.) (tabela 1).

A comunidade de plantas hospedeiras foi caracterizada pela significativa presença de espécies lenhosas (65.8%, $n = 27$ espécies) comparado ao número de espécies herbáceas (34.2%, $n = 14$ espécies). Malpighiaceae foi a família mais representativa ($n = 9$ espécies de plantas) dentre as hospedeiras de licenídeos, seguida por Bignoniaceae ($n = 7$ espécies), Fabaceae ($n = 6$ espécies) e Myrtaceae ($n = 4$ espécies). As demais famílias botânicas apresentaram uma riqueza menor de espécies. A planta hospedeira com maior riqueza de licenídeos ($n = 7$, *Allosmaitia strophius*, *Electrostrymon endymion*, *Leptotes cassius*, *Ostrinotes empusa*, *Parrhasius polibetes*, *Rekoa marius*, *Tmolus venustus*) foi *Banisteriopsis laevifolia* (A. Juss.) B.Gates (Malpighiaceae), uma espécie lenhosa (< 1.5 m) que apresenta flores e botões amarelos, nectários extraflorais nas folhas e floresce durante o pico da estação seca, em julho e agosto.

Juntamente com Malpighiaceae, Ochnaceae foi uma das famílias com maior riqueza de licenídeos, seguida por Fabaceae, Myrtaceae e Bignoniaceae. As demais famílias botânicas apresentaram menos três espécies de licenídeos associadas (Figuras 3 e 4). Quantos aos licenídeos, *Rekoa marius*, *Parrhasius polibetes*, *Allosmaitia strophius* e *Michaelus ira* foram as espécies mais abundantes registradas no estudo (Tabela 1, Figura 4).

Figura 3. Riqueza de licenídeos registrada nas principais famílias de plantas hospedeiras (Malp- Malpighiaceae, Och- Ochnaceae, Faba- Fabaceae, Myrt- Myrtaceae, Bign- Bignoniaceae, Cary- Caryocaraceae, Chry- Chrysobalanaceae, Lora- Loranthaceae, Symp- Symplocaceae). As famílias botânicas com menos de duas espécies de licenídeos associados não foram mostradas.

Tabela 1. Espécies de Lycaenidae e suas plantas hospedeiras no cerrado de Uberlândia, MG: abundância de adultos obtidos em laboratório, famílias e espécies de plantas hospedeiras, dieta local e global, famílias de plantas hospedeiras de outras áreas e suas respectivas referências. Famílias com asteriscos representam novos registros para a espécie de licenídeos. Espécies de hospedeiras em negrito indicam novos registros para a espécie de licenídeo correspondente. Dieta: O – oligófaga; P – polífaga; ? – sem informações.

Espécies de Lycaenidae	Adultos	Plantas hospedeiras no presente estudo	Dieta		Famílias de plantas hospedeiras em outras áreas	Referências
			local	total		
<i>Rekoa marius</i> (Lucas, 1857)	64		P	P	Apocynaceae, Araliaceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Combretaceae, Fabaceae, Malpighiaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Ochnaceae, Polygonaceae, Proteaceae, Sapindaceae, Verbenaceae, Vochysiaceae	2, 3, 9, 13, 17, 20
<i>Parrhasius polibetes</i> (Stoll, 1781)	33		P	P	Araliaceae, Bignoniaceae, Chrysobalanaceae, Combretaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lithraceae, Malpighiaceae, Malvaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Proteaceae, Sapotaceae, Sapindaceae, Styracaceae, Vochysiaceae	9, 10, 13, 16, 17, 20, 21
<i>Allosmaitia strophius</i> (Godart, 1824)	23		O	O	Malpighiaceae	14, 17, 20, 21
<i>Michaelus ira</i> (Hewitson, 1867)	19		O	O	Bignoniaceae	10, 18
<i>Leptotes cassius</i> (Cramer, 1775)	16		P	P	Fabaceae (Caesalpinioideae, Mimosoideae, Papilionoideae), Plumbaginaceae	10

<i>Strymon bubastus</i> (Stoll, 1780)	17	O	P	Boraginaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, Malvaceae, Portulacaceae	10, 17
<i>Michaelus thordesa</i> (Hewitson, 1867)	9	O	P	Bignoniaceae, Fabaceae	1, 15, 17
<i>Calycopis calor</i> (H.H. Druce, 1907)	8	O	P	Calophyllaceae, Caryocaraceae, Malpighiaceae, Vochysiaceae	9, 7, 11, 17
<i>Panthiades hebraeus</i> (Hewitson, 1867)	8	P	P	Fabaceae (Mimosoideae, Papilionoideae), Malpighiaceae, Rosaceae	10, 21
<i>Kolana</i> sp1.	6	?	?		
<i>Panthiades phaleros</i> (L., 1767)	5	P	P	Fabaceae (Caesalpinioideae), Ochnaceae	10, 20
<i>Tmolus venustus</i> (H.H. Druce, 1907)	6	P	P	Fabaceae, Malpighiaceae, Melastomataceae, Ochnaceae	9, 17
<i>Strymon mulucha</i> (Hewitson, 1867)	4	P	P	Alstroemeriacae, Bignoniaceae, Connaraceae, Fabaceae, Malpighiaceae, Malvaceae, Melastomataceae, Ochnaceae, Orchidiaceae, Salicaceae, Sapindaceae	1, 5, 10, 17, 21
<i>Ostrinotes empusa</i> (Hewitson, 1867)	4	P	P	Malpighiaceae, Proteaceae, Sterculiaceae	10, 17
<i>Nicolaea</i> sp.1	3	?	?		
<i>Nicolaea socia</i> (Hewitson, 1868)	3	P	P	Araliaceae, Caryocaraceae, Connaraceae, Malpighiaceae, Melastomataceae, Proteaceae, Vochysiaceae	17

<i>Rekoa palegon</i> (Cramer, 1780)	3	O	P	Araliaceae, Asteraceae, Boraginaceae, Cannabaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Melastomataceae, Ochnaceae, Polygonaceae, Solanaceae, Verbenaceae, Ulmaceae	1, 3, 10, 13, 17, 20
<i>Thereus ortalus</i> (Godman & Salvin, 1887)	3	O	O	Loranthaceae	10
<i>Thereus cithonius</i> (Godart,[1824])	3	O	O	Loranthaceae	
<i>Hemiargus hanno</i> (Stoll, 1790)	2	O	P	Fabaceae, Malpighiaceae, Oxalidaceae	10, 17, 19
<i>Chlorostrymon telea</i> (Hewitson, 1868)	2	P	P	Fabaceae, Malvaceae, Proteaceae, Sapindaceae, Sterculiaceae	10, 17, 20
<i>Electrostrymon endymion</i> (Fabricius, 1775)	1	O	O	Vochysiaceae (fallen flowers)	17
<i>Gargina thyesta</i> (Hewitson, 1869)	1	O	P	Proteaceae, Asteraceae, Trigoniaceae	17, 20
<i>Kolana ergina</i> (Hewitson, 1867)	1	O	P	Araliaceae, Connaraceae, Malpighiaceae, Melastomataceae, Ochnaceae, Vochysiaceae	8, 13, 17
<i>Nicolaea cauter</i> (H. Druce, 1907)	1	O	P	Ochnaceae, Proteaceae, Vochysiaceae	10, 17
<i>Olynthus</i> aff. <i>punctum</i> (Herrich-Schäffer, [1853])	1	O	O	Caryocaraceae	17
<i>Pseudolycaena marsyas</i> (L., 1758)	1	O	P	Anacardiaceae, Combretaceae, Fabaceae, Meliaceae, Myrtaceae, Ochnaceae, Polygonaceae, Resedaceae, Rosaceae, Sapotaceae, Sterculiaceae, Ulmaceae	10, 17
<i>Rekoa stagira</i> (Hewitson, 1867)	1	O	P	Araliaceae, Fabaceae, Malpighiaceae, Proteaceae	3, 13, 17

<i>Cyanophrys herodotus</i> (Fabricius, 1793)	1	O	P	Adoxaceae, Anacardiaceae, Araliaceae, Asteraceae, Boraginaceae, Malvaceae, Proteaceae, Rubiaceae, Sambucaceae, Verbenaceae	6, 17, 20
<i>Strymon cyanofusca</i> K. Johnson, Eisele & MacPherson, 1990	1	O	P	Oxalidaceae	17
<i>Ministrymon azia</i> (Hewitson, 1873)	1	O	P	Anacardiaceae, Fabaceae	4, 12, 17
total	251				

¹Monteiro 1990; ²Monteiro 1991; ³Robbins 1991^a; ⁴Miller & Miller 1997; ⁵Canals 2003; ⁶Robbins & Duarte 2005; ⁷Duarte et al. 2005; ⁸Flinte et al. 2006; ⁹Torezan-Silingardi 2007; ¹⁰Beccaloni et al. 2008; ¹¹Duarte & Robbins 2009; ¹²Vargas & Parra 200; ¹³Kaminski 2010; ¹⁴Kaminski & Freitas 2010; ¹⁵Kaminski et al. 2010; ¹⁶Rodrigues et al. 2010; ¹⁷Silva et al. 2011; ¹⁸Bächtold & Alves-Silva 2012; ¹⁹Duarte et al. 2001; ²⁰Janzen & Hallwachs 2013; ²¹Bächtold et al. 2013.

Figura 4. Espécies vegetais das cinco principais famílias de plantas hospedeiras e espécies de licenídeos mais abundantes registradas durante o estudo em cerrado de Uberlândia, MG: (A) *Ouratea spectabilis* (Ochnaceae); (B) *Myrcia uberavensis* (Myrtaceae); (C) *Jacaranda ulei* (Bignoniaceae); (D) *Banisteriopsis campestris* (Malpighiaceae); (E); *Senna velutina* (Fabaceae); (F) *Rekoa marius*; (G) *Parrhasius polibetes*; (H) *Allosmaitia strophius*; (I) *Michaelus ira*.

A amostragem anual não apontou relação significativa entre a riqueza mensal de licenídeos e riqueza mensal de plantas hospedeiras em período de floração ($r = 0.352$; $gl = 12$; $p = 0.262$) (Figura 5A). O número total de espécies de hospedeiras foi maior durante a estação chuvosa ($n = 30$ espécies), porém tanto a riqueza, quanto a abundância de licenídeos foram maiores na estação seca. Das 31 espécies de licenídeos registradas ao longo da amostragem, 28 estavam presentes durante a estação seca e 14 espécies foram registradas na estação chuvosa sendo que 11 espécies de licenídeos ocorreram em ambas as estações. A abundância também foi três vezes maior na estação seca, comparada com a estação chuvosa (Figura 5B).

Entre as espécies de licenídeos mais abundantes (Tabela 1), *R. marius* esteve presente praticamente ao longo de todo o estudo, exceto no mês de março, já *A. strophius* foi registrada em nove dos doze meses de amostragem (fevereiro a outubro) (detalhes no Anexo 2).

A comunidade de licenídeos, representada pelo número de imaturos coletados, foi maior na estação seca (abril a agosto), sendo que a maioria dos licenídeos foi registrada no mês de junho (vetor $r = 0.47$; Rayleigh $z = 22.11$; $P < 0.0001$). A sazonalidade dos licenídeos revela também que a taxa de parasitismo aumenta à medida que a abundância de imaturos de licenídeos diminui no final da estação seca ($r^2 = 0.489$, $F_{1,10} = 9.594$, $p = 0.011$) (Figura 5C).

Figura 5. Comunidade de lichenídeos amostrados no cerrado no período de fevereiro de 2011 a janeiro de 2012: (A) riqueza de lichenídeos e plantas hospedeiras (durante o período de floração); (B) proporção de riqueza de plantas hospedeiras e abundância de lichenídeos (imatuross) amostrados na estação chuvosa e seca; (C) abundância de imatuross de lichenídeos e consequentemente de imatuross parasitados. Áreas sombreadas em (A) e (C) correspondem à estação seca.

Conforme o modelo linear generalizado gerado (Tabela 2), a precipitação foi o único parâmetro associado com a abundância de licenídeos (intercepto: 7.283, inclinação: -0.005, $gl = 11$, $p = 0.0149$, $r^2 = 0.781$, $F_{1,10} = 9.536$; Tabela 2) com significativo desvio explicado (desvio nulo: 208.113, desvio residual: 56.278). Mesmo que a temperatura não tenha sido diretamente associada à abundância de imaturos, a interação entre essas variáveis climáticas mostrou forte relação com a ocorrência dos licenídeos (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados do Modelo Generalizado Linear testando os efeitos dos fatores abióticos (temperatura e precipitação) sobre a abundância de licenídeos registrados em área de cerrado localizada em Uberlândia, Minas Gerais entre os meses de fevereiro de 2012 a janeiro de 2013.

	Variáveis	Coefficiente	SE	<i>t</i>	<i>p</i>
<i>Principais fatores</i>	Constante (licenídeos)	7.283	2.101	3.467	0.007
	Temperatura	-0.151	0.096	-1.573	0.150
	Precipitação	-0.005	0.001	-3.001	0.015
<i>Efeito das interações</i>	Temperatura*Precipitação	0.007	0.003	2.452	0.004

Amplitude de dieta e associações com formigas

Quinze espécies de licenídeos (48.4% das espécies) foram registradas em somente uma planta hospedeira; 19.35% ($n = 6$ espécies de licenídeos) foram encontrados em duas espécies de hospedeiras e demais licenídeos (32.25%; 10 espécies) foram encontrados em pelo menos três espécies de plantas (Tabela 1). Portanto, localmente 61.3% das espécies são oligófagas e 32.2% são polífagas (6.5% representam duas espécies que não tiveram sua dieta delimitada por apresentar identificação incompleta). Essa tendência é oposta quando comparada com a dieta global: apenas 19.35% das espécies são oligófagas

enquanto que a maioria das espécies (74.2%) é polífaga. Interações entre formigas e larvas de licenídeos ocorreram com baixa frequência no campo. Considerando o total de plantas registradas com larvas, as interações mirmecófilas ocorreram em 9% (em 15 das 166 plantas com larvas) das plantas examinadas. Larvas de *Parrhasius polibetes* foram observadas associadas às formigas *Camponotus blandus* (Smith, 1858) (n = 3 registros) e *C. crassus* Mayr, 1862 (n = 1 registro). Do mesmo modo, larvas de *R. marius* foram antenadas por *C. blandus* (n = 9 registros) e *C. crassus* (n = 2 registros) (Figura 6).

Figure 6. Associações com formigas registradas no campo no período de fevereiro/2011 a janeiro/2012 em área de cerrado de Uberlândia, MG: larva de *Rekoa marius* atendida por *Camponotus blandus* (A), larva de *Parrhasius polibetes* atendida por *Camponotus crassus* (B). Tamanho das formigas: *C. blandus* – 6.5mm; *C. crassus* – 5.0 mm.

Discussão

O presente estudo revelou notável diversidade de licenídeos florívoros, que comparado aos demais licenídeos registrados em outra área de cerrado (Silva et al. 2011), mostrou alto índice de similaridade entre as espécies (>0.724 , índice de Shannon). Várias espécies que ocorrem em ambas as áreas de cerrado (Uberlândia e Distrito Federal) possuem ampla distribuição geográfica e são menos exigentes quanto ao alimento larval (altamente polífagas) como, por exemplo, *P. polibetes* e *R. marius* (Monteiro 1991, Kaminki et al. 2012). Enquanto que espécies oligófagas como *A. strophius* (Godart, 1824), amplamente distribuída pela América do Sul, utiliza inflorescências de Malpighiaceae como recurso larval, plantas comumente encontradas no cerrado (Kaminski & Freitas 2010, da Conceição et al. 2011, Vilela et al 2014).

Além de registrar uma comunidade de licenídeos neotropicais, este estudo foi o primeiro a descrever interações ecológicas entre Lycaenidae, plantas e formigas, incluindo o padrão de uso de plantas hospedeiras. Nossos resultados também suportaram a hipótese de que a sazonalidade é uma característica marcante para os licenídeos no cerrado uma vez que a comunidade apresentou maior abundância de imaturos na estação seca. Em termos gerais, esse padrão sazonal encontrado para comunidade de licenídeos é conhecido para muitas espécies de lagartas do cerrado, inclusive as construtoras de refúgios, cujo pico de maior abundância ocorrem no início da estação seca (Moraes et al. 1999, Scherrer et al. 2010, Diniz et al. 2012).

Para lepidópteros tropicais, especialmente espécies do cerrado, o nível de parasitismo larval acompanha a abundância de seus hospedeiros (Moraes et al. 1999, Rodovalho et al. 2007). Similarmente, nosso estudo revela o mesmo padrão ocorrido quanto à ação de parasitóides sobre a comunidade de licenídeos. Inimigos naturais de

larvas de lepidópteros, como os parasitóides, são importantes para entender a dinâmica populacional desses herbívoros já que podem regular a comunidade de lagartas (Stireman & Singer 2003, Rodovalho et al. 2007). Por outro lado, populações de herbívoros são condicionadas pela distribuição e abundância de suas plantas hospedeiras e consequentemente pela fenologia de suas plantas (Wolda 1988, Bernays & Chapman 1994, Muniz et al. 2012).

Plantas do cerrado são conhecidas por exibirem diferentes estratégias fenológicas. Espécies herbáceas mostram uma tendência em ter seus eventos fenológicos (incluindo a floração) ligados à estação chuvosa, enquanto que as lenhosas apresentam tais eventos independentes da estação, sendo que várias delas florescem na estação seca (Oliveira 2008). Outras espécies ainda, como plantas da família Malpighiaceae, podem exibir floração sequencial durante o ano (Vileta et al. 2014). Para *Allosmaitia strophius*, licenídeo cuja dieta é restrita a inflorescências de Malpighiaceae (Kaminski & Freitas 2010) é importante a oferta de recurso distribuída ao longo do ano por diferentes flores de Malpighiaceae visto que essa espécie foi encontrada durante a maior parte do ano no presente estudo. Contudo, do ponto de vista da comunidade, nosso estudo mostra uma tendência dos licenídeos em utilizar plantas hospedeiras lenhosas, grupo vegetal caracterizado por exibir a floração na estação seca o que consequentemente pode explicar a sazonalidade registrada nos licenídeos.

Assim como várias espécies de Eumaeini, a maioria dos licenídeos registrados no presente estudo e avaliados numa escala mais ampla, é polífaga (Robbins & Aiello 1982, Fiedler 1991, Monteiro 1991, Brown 1993, Silva et al. 2011, Kaminski et al. 2012). O sucesso para manutenção de uma dieta tão ampla como a polifagia não é conclusivo para os licenídeos. Algumas hipóteses têm sido propostas para entender tal sucesso, como a vantagem de utilizar grande variedade de hospedeiras diminuindo assim a competição

com demais florívoros (Chew & Robbins 1984; Rodrigues et al. 2010), a morfologia do botão floral que serve como pista visual para oviposição ou simplesmente o uso de várias plantas para garantir recursos larvais em períodos de baixa disponibilidade de alimento (Monteiro 1990). Adicionalmente, a distribuição geográfica de borboletas Lycaenidae pode também influenciar esse padrão de dieta, como o sugerido por Silva e colaboradores (2011) cujo estudo aponta essa possível relação para algumas espécies como *Kolana ergina* (Hewitson, 1867) e *Strymon mulucha* (Hewitson, 1867), larvas altamente polífagas, em nível local, e que apresentam ampla distribuição geográfica. Por outro lado, essa relação não explica a ocorrência de uma borboleta endêmica do cerrado, *Nicolaesa socia* (Hewitson, 1868), em muitas famílias de plantas hospedeiras. Diferente desses autores, nosso estudo não mostra uma dieta tão ampla para *K. ergina* e *S. mulucha*, porém confirma o padrão de dieta encontrado para *N. socia* e ainda evidencia a oligofagia para espécies do gênero *Michaelus*. Assim como Silva e colaboradores (2011), nosso estudo confirma a necessidade em prover informações sobre as plantas hospedeiras e consequentemente a distribuição desses licenídeos para diferentes regiões neotropicais uma vez que são fundamentais para entender o padrão de dieta dessas borboletas.

Outra característica comum encontrada em licenídeos Eumaeini é o baixo grau de associações mirmecófilas (Robbins 1991, Monteiro 1991, Ballmer & Pratt 1988, Duarte et al. 2005, Kaminski & Freitas 2010). De fato, nosso estudo corrobora esse padrão em que foram poucas associações observadas no campo e todas elas caracterizadas por licenídeos mirmecófilos facultativos (*P. polibetes*, *R. marius*). Com isso, nossa hipótese de que tais interações com formigas são frequentes no campo foi refutada. Um dos possíveis fatores que explicam essa baixa frequência é que as larvas mostradas no campo variaram quanto ao tamanho e tempo de desenvolvimento o que pode ter subestimado o número de associações mirmecófilas uma vez que para

muitos licenídeos mirmecófilos facultativos, inclusive para *P. polibetes* e *R. marius*, apenas larvas maduras (3º e 4º instar) são capazes de estabelecer associações com formigas (Monteiro 1991, Kaminski et al. 2012)

Em resumo, nosso estudo evidencia uma comunidade diversa de licenídeos florívoros para uma área de cerrado e conseguinte, caracterizada pela sazonalidade com maior ocorrência de imaturos na estação seca e pelo predomínio de uma dieta mais especializada (oligofagia) em escala local. Atributos ecológicos como distribuição geográfica das borboletas e sua amplitude de dieta larval são importantes pontos aqui discutidos e que precisam ser considerados sobre a ecologia de borboletas neotropicais. Além disso, a baixa frequência de interações entre larvas e formigas observada no campo corrobora o padrão delineado para os Eumaeini neotropicais, com poucas espécies mirmecófilas e portanto, baixo grau de associação com formigas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia onde o estudo foi realizado, à Ana Isa Machado, André Moreira, Alisson Rodrigues de Rezende, Diana Salles Sampaio, Priscila Rosa Oliveira e Rafael Felipe de Almeida pela identificação de plantas; ao Pietro K.M. Mendonça pelo auxílio nas análises estatísticas (GLM); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes); ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pelo apoio financeiro.

Referências bibliográficas

- Alves-Silva E, Del-Claro K (2013) Effect of post-fire resprouting on leaf fluctuating asymmetry, extrafloral nectar quality, and ant–plant–herbivore interactions. *Naturwissenschaften* 100: 525-532
- Atsatt PR (1981) Ant-dependent food plant selection by the mistletoe butterfly *Ogyris amaryllis* (Lycaenidae). *Oecologia* 48: 60-63
- Bächtold A, Alves-Silva E (2012). Behavioral strategy of a lycaenid (Lepidoptera) caterpillar against aggressive ants in a Brazilian savanna. *Acta Ethol* 16: 83-90
- Bächtold A, Alves-Silva E, K Del-Claro (2013) Lycaenidae larvae feeding on *Peixotoa parviflora* (Malpighiaceae) in a semi-deciduous forest in southeastern Brazil. *J Lep Soc* 67: 65-67
- Beccaloni G, Hall S, Vilorio A, Robinson G (2008) Host-plants of the Neotropical butterflies: A catalogue/catálogo de las plantas huésped de las mariposas neotropicales. SEA/RIBESCYTED/The Natural History Museum/Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas
- Ballmer GR, Pratt GF (1988) A survey of the last instar larvae of the Lycaenidae (Lepidoptera) of California. *J Res Lepid* 27:1–81
- Bernays EA, Chapman RF (1994) Hostplant Selection by Phytophagous Insects . Chapman and Hall, New York
- Boggs CL (1987) Ecology of nectar and pollen feeding in Lepidoptera. In Slansky FJR, Rodriguez JG (eds). *Nutritional Ecology of Insects, Mites, Spiders and Related Invertebrates*. New York, John Wiley and Sons, pp. 369–391
- Braby M (1995) Seasonal-changes in relative abundance and spatial-distribution of Australian lowland tropical Satyrine butterflies. *Aust J Zoo* 43: 209-229
- Brakefield PM, Kesbeke F (1995) Raised adult lifespan and female fecundity in tropical fruit-feeding *Bicyclus* butterflies. *Proc Exp Appl Entomol* 6:93–98
- Brower JE, Zar JH (1984) Field and laboratory methods for general ecology. 2.ed.Iowa: Wm. C. Brown Company
- Brown Jr KS (1993) Selected Neotropical species. In New TR (ed). *Conservation Biology of Lycaenidae (Butterflies)*. Gland, Switzerland,IUCN, pp. 146-149
- Canals GR (2003) Mariposas de Misiones/Butterflies of Misiones.L.O.L.A/Literature of Latin America, Buenos Aires

- Chew FS, Robbins RK (1984) Egg-laying in butterflies, p. 65–79. In Wane-Wright, R. I. and P. R. Ackery, eds. The biology of butterflies, Symposium of the Royal Entomological Society of London Number 11. Academic Press, London, England
- da Conceição GM, Ruggieri AC, dos Santos Rodrigues M (2011) Malpighiaceae do cerrado do Parque Estadual do Mirador, Maranhão, Brasil. Scientia Plena 7: 021201
- Daily GC, Ehrlich PR (1995) Preservation of biodiversity in small rainforest patches: rapid evaluations using butterfly trapping. Biodiversity Conserv 4: 35-55
- Dejean A, Beugnon G (1996) Host-ant trail following by myrmecophilous larvae of Liphyrinae (Lepidoptera, Lycaenidae). Oecologia 106: 57-62
- DeVries P, Chacon I, Murray D (1994) Toward a better understanding of host use and biodiversity in riordinid butterflies (Lepidoptera). J Res Lepidoptera 31: 103-126
- Diniz I R, Hay JD, Rico-Gray V, Greeney HF, Morais HC (2012) Shelter-building caterpillars in the cerrado: seasonal variation in relative abundance, parasitism, and the influence of extra-floral nectaries. Arthropod-Plant Inte 6: 583-589
- Duarte M, Robbins RK (2009) Immature stages of *Calycopis bellera* (Hewitson) and *C. janeirica* (Felder) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini): taxonomic significance and new evidence for detritivory. Zootaxa 2325: 39-61.
- Duarte M, Almeida GLd, Casagrande MM, Mielke OH (2001) Notes on the last instar larva and pupa of *Hemiargus hanno* (Stoll)(Lepidoptera, Lycaenidae, Polyommatainae). Rev Bras Zoo 18: 1097-1105
- Duarte M, Robbins RK, Mielke OH (2005) Immature Stages of *Calycopis caulonia* (Hewitson, 1887) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini), with Notes on Rearing Detritivorous Hairstreaks on Artificial Diet. Zootaxa 1063: 1-31.
- Duarte M MG, Specht A, Casagrande MM (2012) Lepidoptera In Rafael JA, Melo GAR, Carvalho CJB de, Casari AS, Constantino R (eds) Insetos do Brasil. Holos, Ribeirão Preto, pp 625-682
- Edge DA, Van Hamburg H (2010) Larval feeding behaviour and myrmecophily of the Brenton Blue, *Orachrysops niobe* (Trimen) (Lepidoptera: Lycaenidae). J R Lepidoptera 42: 21-33
- Fiedler K (1991) Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the Lycaenidae (Insecta: Lepidoptera: Papilionoidea). Bonn Zool Monogr 31: 1-210

- Fiedler K (1994) Lycaenid butterflies and plants: is myrmecophily associated with amplified hostplant diversity? *Ecol Entomol* 19: 79-82
- Fiedler K (1995) Lycaenid butterflies and plants: hostplant relationships, tropical versus temperate. *Ecotropica* 1: 51-58
- Fiedler K (2001) Ants that associate with Lycaeninae butterfly larvae: diversity, ecology and biogeography. *Divers Distrib* 7: 45-60.
- Fisher NI (1996) *Statistical Analysis of Circular Data*. Cambridge University Press, Cambridge
- Flinte VC, Araújo CO, Macedo MV, Monteiro RF (2006) Insetos fitófagos associados ao muriti da praia, *Byrsonima sericea* (Malpighiaceae), na restinga de Jurubatiba (RJ). *Rev Bras Entomol* 50: 512-523
- Freitas A, Francini R, Brown Jr K (2003) Insetos como indicadores ambientais. In Cullen LJr., Valladares-Pádua C & Rudran R (eds). *Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre*. Curitiba, Editora da UFPR, pp. 125-151
- Janzen DH. 1993. Caterpillar seasonality in a Costa Rican dry for-est. In: Stamp NE, Casey TM (eds). *Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging*. New York: Chapman & Hall, pp. 448-477
- Janzen DH, Hallwachs W (2010) Dynamic database for an inventory of the macrocaterpillar fauna, and its food plants and parasitoids, of the Area de Conservacion Guanacaste (ACG), northwestern Costa Rica. Available from: <http://janzen.sas.upenn.edu> [accessed 2013 May 10]
- Jones MT, Castellanos I, Weiss MR (2002) Do leaf shelters always protect caterpillars from invertebrate predators? *Ecol Entomol* 27: 753-757
- Kaminski LA (2008) Polyphagy and obligate myrmecophily in the butterfly *Hallonympha paucipuncta* (Lepidoptera: Riodinidae) in the Neotropical Cerrado savanna. *Biotropica* 40: 390-394
- Kaminski LA (2010) Mirmecofilia em *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae): história natural, custos, seleção de planta hospedeira e benefícios da co-ocorrência com hemípteros mirmecófilos [tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas
- Kaminski LA, Freitas AV (2010). Natural history and morphology of immature stages of the butterfly *Allosmaitia strophius* (Godart) (Lepidoptera: Lycaenidae) on flower buds of Malpighiaceae. *Stud Neotrop Fauna E* 45: 11-19

- Kaminski LA, Rodrigues D (2011) Species-specific levels of ant attendance mediate performance costs in a facultative myrmecophilous butterfly. *Physiol Entomol* 36: 208-214
- Kaminski LA, Sendoya SF, Freitas AV, Oliveira PS (2009) Ecologia comportamental na interface formiga-planta-herbívoros: interações entre formigas e lepidópteros. *Oecologia Brasiliensis* 13: 27-44
- Kaminski LA, Thiele SC, Iserhard CA, Romanowski HP, Moser A (2010) Natural history, new records, and notes on the conservation status of *Cyanophrys bertha* (Jones) (Lepidoptera: Lycaenidae). *P Entomol Soc Wash* 112: 54-60
- Kaminski LA, Rodrigues D, Freitas AV (2012) Immature stages of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae): host plants, tending ants, natural enemies and morphology. *J N Hist* 46: 645-667
- Malicky H (1970) New aspects of the association between lycaenid larvae (Lycaenidae) and ants (Formicidae, Hymenoptera). *J Lepid Soc* 24: 190-202
- Mevi-Schutz J, Erhardt A (2005) Amino acids in nectar enhance butterfly fecundity: a long-awaited link. *Am Naturalist* 165:411–419
- Miller LD, Miller JY (1997) You caught what in your backyard? *J Lepid Soc* 51: 184-187
- Monteiro RF (1990) Aspectos ecológicos de teclíneos (Lep.: Lycaenidae) com especial referência à coloração críptica de duas espécies de *Rekoa* Kaye [tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas
- Monteiro R (1991) Cryptic larval polychromatism in *Rekoa marius* Lucas and *R. palegon* Cramer (Lycaenidae: Theclinae). *J Res Lepidoptera* 29: 77-84
- Morais HC, Diniz IR, Silva D (1999) Caterpillar seasonality in a central Brazilian cerrado. *Rev Biol Trop* 47: 1025-1033
- Morais HC, Hay JDV, Diniz IR (2009) Brazilian cerrado folivore and florivore caterpillars: how different are they? *Biotropica* 41: 401-405
- Muniz DG, Freitas AVL, Oliveira PS (2012) Phenological relationships of *Eunica bechina* (Lepidoptera: Nymphalidae) and its host plant, *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae), in a Neotropical savanna. *Stud Neotrop Fauna E* 47: 111-118
- Novotny V, Basset Y, Miller SE, Weiblen GD, Bremer B, Cizek L, Drozd P (2002) Low host specificity of herbivorous insects in a tropical forest. *Nature* 461: 841–844
- Nowicki P, Witek M, Skorka P, Woyciechowski M (2005) Oviposition patterns in the myrmecophilous butterfly *Maculinea alcon* Denis &

- Schiffmueller (Lepidoptera: Lycaenidae) in relation to characteristics of foodplants and presence of ant hosts. *Pol J Ecol* 53: 409-417
- Oliveira PE (2008) Fenologia e biologia reprodutiva das espécies de Cerrado. In Sano SM, Almeida SP (Eds) *Cerrado: ambiente e flora*, EMBRAPA - Cerrados, Planaltina, pp. 169-188
- Pierce NE, Elgar MA (1985) The influence of ants on host plant selection by *Jalmenus evagoras*, a myrmecophilous lycaenid butterfly. *Behav Ecol Sociobiol* 16: 209-222
- Pierce NE, Eastal S (1986) The selective advantage of attendant ants for the larvae of a lycaenid butterfly, *Glaucopsyche lygdamus*. *J Anim Ecol* 55: 451-462
- Pierce NE, Braby MF, Heath A, Lohman, DJ, Mathew J, Rand DB, Travassos MA (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Annu Rev Entomol* 47: 733-771
- Quinn RM, Caston KJ, Roy DB (1998) Coincidence in the distributions of butterflies and their foodplants. *Ecography* 21: 279-288
- R Development Core Team (2012) R: A language and environment for Statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, <http://www.R-project.org/>
- Robbins RK (1980) The lycaenid “false head” hypothesis: historical review and quantitative analysis. *J Lepid Soc* 34:194–208
- Robbins RK (2004) Introduction to the checklist of Eumaeini (Lycaenidae). In: Lamas G, editor. *Checklist: Part 4A. Hesperioidea—Papilionoidea*. In Heppner JB, editor. *Atlas of Neotropical Lepidoptera. Volume 5A*. Gainesville: Association for Tropical Lepidoptera, Scientific Publishers. p. xxiv–xxx
- Robbins RK, Aiello A (1982) Foodplant and oviposition records for Panamanian Lycaenidae and Riodinidae. *J Lepid Soc* 36: 65-75
- Robbins RK, Small Jr GB (1981) Wind dispersal of Panamanian hairstreak butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae) and its evolutionary significance. *Biotropica*: 308-315
- Rodvalho SR, Laumann RA, Diniz IR (2007) Ecological aspects of lepidopteran caterpillar parasitoids from *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) in a cerrado *sensu stricto* of Central Brazil. *Biota Neotrop.* 7: 239-243
- Rodrigues D, Kaminski LA, Freitas AVL, Oliveira PS (2010) Trade-offs underlying polyphagy in a facultative ant-tended florivorous butterfly: the role of host plant quality and enemy-free space. *Oecologia* 163: 719-728

- Salazar B, Whitman D (2001) Defensive tactics of caterpillars against predators and parasitoids. Insect and plant defense dynamics. Science Publisher, Enfield, UK: pp.161-207
- Scherrer S, Diniz IR, Morais HCd (2010) Climate and host plant characteristics effects on lepidopteran caterpillar abundance on *Miconia ferruginata* DC. and *Miconia pohliana* Cogn (Melastomataceae). Braz J Biol 70: 103-109
- Schmid S, Schmid VS, Kamke, R, Steiner J, Zillikens A (2010) Association of three species of *Strymon* Hübner (Lycaenidae: Theclinae: Eumaeini) with bromeliads in southern Brazil. J Res Lepid 42: 50-55
- Schmitz OJ, Krivan V, Ovadia O (2004) Trophic cascades: the primacy of trait-mediated indirect interactions. Ecology Letters 7: 153-163
- Schröder R, Wurm L, Varama M, Meiners T, Hilker M (2008) Unusual mechanisms involved in learning of oviposition-induced host plant odours in an egg parasitoid? Animal Behaviour 75: 1423-1430
- Scoble MJ (1995) The Lepidoptera. Form, function and diversity. Oxford University Press, Oxford
- Seufert P, Fiedler K (1996) The influence of ants on patterns of colonization and establishment within a set of coexisting lycaenid butterflies in a south-east Asian tropical rain forest. Oecologia 106: 127-136
- Singer MS, Rodrigues D, Stireman III JO, Carrière Y (2004) Roles of food quality and enemy-free space in host use by a generalist insect herbivore. Ecology 85: 2747-2753
- Silva NAP, Duarte M, Diniz IR, Morais HC (2011) Host plants of Lycaenidae on inflorescences in the central Brazilian cerrado. J Res Lepidoptera 44: 95-105
- Silva DP, Oliveira PS (2010) Field biology of *Edessa rufomarginata* (Hemiptera: Pentatomidae): phenology, behavior, and patterns of host plant use. Environ Entomol 39: 1903-1910
- Smallegange R, Van Loon J, Blatt S, Harvey J, Agerbirk N, Dicke M (2007) Flower vs. leaf feeding by *Pieris brassicae*: glucosinolate-rich flower tissues are preferred and sustain higher growth rate. J Chem Ecol 33: 1831-1844
- Stamp N, Casey TM. (1993) Caterpillars: Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging. Chapman & Hall, London
- Stireman JO III, Singer MS (2003) Determinants of parasitoid-host associations: insights from a natural tachinid-lepidopteran community. Ecology 84: 296-310

- Stoepler TM, Lill JT, Murphy SM (2011) Cascading effects of host size and host plant species on parasitoid resource allocation. *Ecol Entomol* 36: 724-735
- Takabayashi J, Sabelis MW, Janssen A, Shiojiri K, van Wijk M (2006) Can plants betray the presence of multiple herbivore species to predators and parasitoids? The role of learning in phytochemical information networks. *Ecol Res* 21: 3-8
- Thompson JN, Pellmyr O (1991) Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 36: 65-89
- Torezan-Silingardi HM (2007) A influência dos herbívoros florais, dos polinizadores e das características fenológicas sobre a frutificação de espécies da família Malpighiaceae em um cerrado de Minas Gerais [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo
- Vargas HA, Duarte M (2014) First Host Plant Record for *Thaëides muela* (Lepidoptera, Lycaenidae: Theclinae: Eumaeini). *Fla Entomol* 97: 288-290
- Vargas HA, Parra LE (2009) Prospección de lepidópteros antófagos asociados a *Acacia macracantha* Willd. (Fabaceae) en el norte de Chile. *Rev Bras Entomol* 53: 291-293
- Vilela AA, Torezan-Silingardi HM, Del-Claro K (2014) Conditional outcomes in ant-plant-herbivore interactions influenced by sequential flowering. *Flora* 209: 359-336
- Weeks JA (2003) Parasitism and ant protection alter the survival of the lycaenid *Hemiargus isola*. *Ecol. Entomol.* 28: 228-232
- Wolda H (1988) Insect seasonality: why? *Ann Rev Entomol Syst* 19:1-18
- Zalucki MP, Clarke AR, Malcolm SB (2002) Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 47: 361-393
- Zuur AF, Ieno E N, Walker NJ, Saveliev AA, Smith G M (2009) Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer, New York

Anexo 1. Presença de plantas hospedeiras em período de floração durante o estudo (fevereiro de 2011 a janeiro de 2012) em área de cerrado de Uberlândia, MG. Área sombreada corresponde à estação seca.

Plantas hospedeiras	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J
<i>Macroptilium atropurpureum</i> (DC.) Urb.												
<i>Adenocalymma nodosum</i> (S. M.) L.G.Lohmann												
<i>Heteropteris pteropetala</i> A. Juss.												
<i>Caamembeca ulei</i> (Taub.) J.F.B.Pastore												
<i>Senna velutina</i> (Vogel) H. S. Irwin & Barneby												
<i>Evolvulus pterocaulon</i> Moric.												
<i>Banisteriopsis stellaris</i> (Griseb.) B. Gates												
<i>Bionia coriacea</i> (Nees & Mart.) Benth												
<i>Banisteriopsis malifolia</i> (Nees. & Mart.) B. Gates												
<i>Mimosa setosa</i> var. <i>paludosa</i> (Benth.) Barneby												
<i>Styrax ferrugineus</i> Nees. & Mart.												
<i>Ouratea hexasperma</i> St. Hil. (Baill.)												
<i>Ouratea spectabilis</i> (Mart. ex Engl.) Engl.												
<i>Peixotoa tomentosa</i> A. Juss.												
<i>Banisteriopsis laevifolia</i> A. Juss. B. Gates												
<i>Myrcia uberavensis</i> Brandão & Laca-Buendia												
<i>Eugenia punicifolia</i> (Kunth) DC.												
<i>Licania humilis</i> Cham. & Schldtl.												
<i>Matayba guianensis</i> (Aubl.) DC.												
<i>Jacaranda macrantha</i> Cham.												
<i>Amphilophium elongatum</i> (Vahl) L.G. Lohmann												
<i>Byrsonima pachyphylla</i> A. Juss.												
<i>Erythroxylum suberosum</i> St. Hill.												
<i>Bauhinia rufa</i> (Bong.) Steud.												
<i>Jacaranda ulei</i> Bureau & K. Schum.												
<i>Myrcia guianensis</i> (Aubl.) Kuntze												
<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.												
<i>Struthantus polyanthus</i> Mart.												
<i>Byrsonima intermedia</i> A. Juss.												
<i>Couepia grandiflora</i> Benth.												
<i>Andira humilis</i> Mart. ex Benth.												
<i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.) Stellf. ex de Souza												
<i>Connarus suberosus</i> Planch.												
<i>Symplocos</i> aff. <i>rharnifolia</i>												
<i>Miconia</i> sp.												
<i>Myrcia variabilis</i> DC.												
<i>Qualea multiflora</i> Mart.												
<i>Adenocalymma peregrinum</i> Miers L.G.Lohmann												
<i>Fridericia platyphylla</i> (Cham.) L.G. Lohmann												
<i>Banisteriopsis campestris</i> (A. Juss.)												
<i>Banisteriopsis anisandra</i> A. Juss.												

Anexo 2. Presença de imaturos de licenídeos registrada sobre as plantas hospedeiras durante estudo (fevereiro de 2011 a janeiro de 2012) em área de cerrado de Uberlândia, MG. Área sombreada corresponde à estação seca.

Licenídeos	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J
<i>Hemiargus hanno</i>												
<i>Calycopis calor</i>												
<i>Leptotes cassius</i>												
<i>Michaelus thordesa</i>												
<i>Rekoa marius</i>												
<i>Allosmaitia strophius</i>												
<i>Parrhasius polibetes</i>												
<i>Rekoa stagira</i>												
<i>Chlorostrymon telea</i>												
<i>Strymon bubastus</i>												
<i>Tmolus venustus</i>												
<i>Nicolaea socia</i>												
<i>Panthiades hebraeus</i>												
<i>Panthiades phaleros</i>												
<i>Michaelus ira</i>												
<i>Cyanophrys herodotus</i>												
<i>Ostrinotes empusa</i>												
<i>Nicolaea cauter</i>												
<i>Kolana ergina</i>												
<i>Nicolaea sp.1</i>												
<i>Thereus ortalus</i>												
<i>Strymon mulucha</i>												
<i>Kolana sp.1</i>												
<i>Pseudolycaena marsyas</i>												
<i>Rekoa palegon</i>												
<i>Strymon cyanofusca</i>												
<i>Electrostrymon endymion</i>												
<i>Ministrymon azia</i>												
<i>Thereus citonius</i>												
<i>Olynthus aff. punctum</i>												
<i>Gargina thyesta</i>												

CAPÍTULO II

O PAPEL DE PLANTAS COM NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS E FORMIGAS NA COMUNIDADE DE BORBOLETAS MIRMECÓFILAS (LEPIDOPTERA: LYCAENIDAE)

Alexandra Bächtold¹, Lucas A. Kaminski² & Kleber Del-Claro³

1. Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 14040-901, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.
2. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, C. P. 6109, 13083-970 Campinas São Paulo, Brasil.
3. Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia 38400-902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

O papel de plantas com nectários extraflorais e formigas na comunidade de borboletas mirmecófilas (Lepidoptera: Lycaenidae) de uma área de cerrado

Alexandra Bächtold, Lucas A. Kaminski & Kleber Del-Claro

Resumo

Vários fatores ecológicos podem influenciar a seleção de plantas hospedeiras por herbívoros, especialmente características que representam disponibilidade e qualidade de alimento. Contudo, para herbívoros mirmecófilos, como as larvas de licenídeos, utilizar plantas que possuem recursos atrativos às formigas pode ser vantajoso e mais comum que o esperado. Nosso estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de licenídeos florívoros no cerrado de acordo com fatores ligados à disponibilidade de alimento nas plantas e à presença de formigas (i.e. nectários extraflorais - NEFs). A comunidade de licenídeos, composta por 15 espécies, variou de acordo com a disponibilidade temporal de seus recursos (floração das plantas), especialmente no caso do licenídeo *Rekoa marius*, cuja dieta é altamente polífaga. Além disso, a comunidade mostrou uma tendência em utilizar plantas que produzem menor quantidade de botões e também uma predileção por plantas hospedeiras com NEFs e consequentemente plantas visitadas por formigas atendentes como espécies dos gêneros *Camponotus* e *Ectatomma*. Nesse sentido, o presente estudo mostrou como a presença dos NEFs influencia a ocorrência de licenídeos florívoros no cerrado inferindo assim sobre a manutenção de associações mirmecófilas entre formigas e licenídeos neotropicais.

Palavras-chave: Licenídeos, diversidade, mirmecofilia, florivoria, Cerrado

Introdução

Lycaenidae é uma família de borboletas que se destaca pela riqueza em espécies na região Neotropical (aproximadamente 1200), sendo a maioria (~90%) pertencente à tribo Eumaeini (Robbins 2004). As borboletas Eumaeini, em geral, são pequenas e possuem um padrão de coloração que consiste em uma superfície azul brilhante metálico sob as asas dorsais enquanto as ventrais possuem uma coloração uniforme de marrom acinzentado (Robbins 1980). A maioria das larvas de Eumaeini é polífaga (encontradas em duas ou mais famílias de plantas) e florívora, se alimentando de partes reprodutivas de várias espécies de plantas (Robbins & Aiello 1982, Fiedler 1991, Brown 1993, Silva et al. 2011).

Uma importante característica de muitas espécies de Eumaeini é o fato de suas larvas associarem-se com formigas, através de uma interação simbiótica conhecida como mirmecofilia, que consiste na troca de benefícios entre as larvas e as formigas (Fiedler 1991, Pierce et al., 2002, Kaminski & Rodrigues 2011). As larvas mirmecófilas apresentam adaptações morfológicas e comportamentais para conviver com formigas, como por exemplo, a presença de glândulas exócrinas especializadas na produção de líquidos nutritivos e a ausência do comportamento reflexo de se debater quando perturbadas (Malicky 1970, Fiedler 1991, Pierce et al. 2002). As formigas se alimentam das soluções produzidas pelas larvas e em contrapartida as protegem de inimigos naturais (Fiedler 1991). Em geral, as larvas de Lycaenidae podem ser classificadas conforme o grau de mirmecofilia, que abrange desde a ausência da associação (não-mirmecófila), às associações facultativas e obrigatórias (ver Fiedler 1991, Pierce et al. 2002). Até o momento, todos os Eumaeini Neotropicais conhecidos possuem baixo grau de mirmecofilia (i. e. facultativa) não havendo qualquer registro de mirmecofilia obrigatória

(Kaminski et al. 2012). As formigas podem exercer forte impacto sobre a vida de herbívoros, desde predação à simbiose, como é o caso de muitos licenídeos (Kaminski et al. 2009). Para licenídeos, compartilhar a mesma planta hospedeira colonizada por formigas agressivas pode ser um alto risco se a larva não é mirmecófila. Por outro lado, se o licenídeo apresenta mecanismos que os tornam capazes de coexistir com as formigas, a presença destas pode representar uma vantagem (Seufert & Fiedler 1996, Forister et al. 2010).

Para borboletas mirmecófilas é importante conhecer quais são as espécies de formigas parceiras nessa interação e quais as características ecológicas desses himenópteros (e.g. dominância hierárquica e distribuição geográfica) (Bächtold et al. 2013), visto que são importantes atributos que podem explicar a ocorrência e a diversidade de associações entre licenídeos e formigas (Fiedler 2001). De acordo com a literatura, formigas dominantes, territoriais e que formam grandes colônias são prováveis gêneros associados à licenídeos de forma obrigatória (Dejean & Beugnon 1996). Por sua vez, formigas que frequentemente forrageiam sobre plantas com nectários extraflorais, como por exemplo, *Camponotus*, são mais generalistas, ou seja, ocorrem em uma grande variedade de plantas (Oliveira & Freitas 2004, Lange & Del-Claro 2014). Estas formigas, em particular, estabelecem associações facultativas com licenídeos (Fiedler 2001, 2006).

Tão importante quanto identificar a formiga associada à larva de licenídeo e consequentemente o grau de mirmecofilia, é conhecer a amplitude de dieta larval dessas borboletas. Lycaenidae é conhecida por apresentar muitas espécies polífagas assim como a maioria dos licenídeos registrada em regiões tropicais (Robbins & Aiello 1982, Fiedler 1995). Essa ampla dieta parece ser uma característica comum entre as espécies neotropicais, porém o conhecimento de suas plantas hospedeiras é ainda limitado para determinar padrões de dieta se comparado ao banco de dados de outras regiões

biogeográficas (Duarte et al. 2005, Beccaloni et al. 2008, Duarte & Robbins 2009, Kaminski & Freitas 2010, Kaminski et al. 2010a, Silva et al. 2011, Kaminski et al. 2012). Por outro lado, esses estudos representam importantes esforços que juntamente com demais áreas, como a sistemática e a história natural (Duarte et al. 2005, Duarte & Robbins 2010, Robbins & Glassberg 2013, Vargas & Duarte 2014), contribuem para melhor entendimento da ecologia e evolução de licenídeos neotropicais.

Estudos recentes têm mostrado que a ocorrência de licenídeos em plantas com nectários extraflorais (NEFs) é comum (Kaminski et al. 2012; Bächtold et al. 2013; Bächtold & Alves-Silva 2013). Estas plantas em particular, por possuírem NEFs, são frequentemente visitadas por uma diversa gama de formigas, muitas das quais se associam mutualisticamente com a planta, pois esta última fornece néctar para as formigas que atuam na proteção da planta contra herbívoros (Oliveira & Freitas 2004, Lange & Del-Claro 2014). Uma vez que estas mesmas formigas atendem insetos mirmecófilos (Fiedler 2001, Stadler & Dixon 2005), não seria incomum encontrar uma maior abundância e até diversidade de licenídeos em plantas com NEFs. Evidências mostram que plantas com NEFs possuem mais formigas que plantas vizinhas sem NEFs (Oliveira et al. 1987, Oliveira et al. 1995), especialmente formigas oportunistas que utilizam várias fontes de alimento (Yamamoto & Del-Claro 2008). Além disso as fêmeas adultas de licenídeos usam formigas como pista visual para oviposição (Pierce & Elgar 1985, Wagner & Kurina 1997, Kaminski et al. 2010b).

A disponibilidade de alimento é também um fator chave para a ocorrência de herbívoros florais (Piña et al. 2010). Mesmo em insetos polípagos que ocorrem o ano todo, as espécies tendem a selecionar determinadas espécies de plantas. Normalmente a abundância, o desenvolvimento, a reprodução e outras características relacionadas à performance larval do inseto são superiores em uma planta, relativamente a outras (ver

Milne & Walter 2000; Rodrigues et al. 2010). Desta forma, a ocorrência de insetos no campo apresenta fortes variações sazonais, que dependem da disponibilidade de suas plantas (Braby 1995, Muniz et al. 2012). A sazonalidade é uma característica marcante em lagartas registradas em ambientes tropicais como o Cerrado, padrão predominante em espécies folívoras (Rodovalho et al. 2007, Scherrer et al. 2010, Diniz et al. 2012) e praticamente desconhecido para lagartas florívoras como os licenídeos (Brown 1993).

O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de licenídeos florívoros de acordo com fatores ligados à presença de formigas e disponibilidade de alimento nas plantas. Além disso, buscou-se relacionar a presença de licenídeos e de plantas com NEFs. As seguintes hipóteses foram estabelecidas (i) a comunidade de licenídeos apresenta marcante sazonalidade seguindo o padrão registrado em lagartas do Cerrado; (ii) a ocorrência dos licenídeos varia temporalmente de acordo com a disponibilidade de alimento; (iii) licenídeos são mais abundantes em plantas com NEFs devido à maior frequência de formigas nestas plantas e (iv) as formigas mais frequentes sobre as plantas ocupadas por licenídeos são as caracterizadas pelo alto grau de oportunismo ecológico influenciado pela presença dos NEFs.

Material e métodos

Área de estudo

A amostragem de licenídeos, características de suas plantas hospedeiras e registro de formigas sobre as mesmas foram realizados no período de maio de 2012 a abril de 2013. O estudo foi feito em uma área de cerrado localizada na Reserva Ecológica do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia – CCPIU (18°59'S – 48°18'W), Uberlândia, Brasil, cuja vegetação é caracterizada pela diversidade de arbustos e árvores conhecida

como cerrado *sensu stricto* (Alves-Silva et al. 2013). O clima da região apresenta estações bem definidas, uma estação chuvosa que vai de outubro a março (precipitação, 214 ± 31.6 mm; temperatura, $23.6 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$) e uma estação seca que vai de abril a setembro (precipitação, 54.6 ± 27 mm; temperatura, $22 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$). Dados (média $\pm$ erro padrão) são referentes ao período de estudo os quais foram retirados de acordo com a Estação Climatológica da Universidade Federal de Uberlândia.

Plantas hospedeiras estudadas

As plantas hospedeiras foram selecionadas a partir de uma lista prévia contendo as 41 espécies (A. Bächtold, dados não publicados) registradas na mesma área de estudo. Para cada espécie de hospedeira foram marcados 20 indivíduos no campo caracterizados por similar fenofase (pré-antese), ou seja, todos os indivíduos deveriam apresentar botões florais para então iniciar a avaliação. Com isso foram avaliadas 22 espécies, sendo que 14 delas apresentam NEFs (*Banisteriopsis campestris*, *B. laevifolia*, *B. malifolia*, *B. stellaris*, *Bauhia rufa*, *Bionia coriacea*, *Caamembeca ulei*, *Caryocar brasiliense*, *Heteropterys pteropetala*, *Ouratea hexasperma*, *O. spectabilis*, *Peixotoa tomentosa*, *Qualea multiflora* e *Senna velutina*) e as demais oito espécies não possuem NEFs (*Byrsonima intermedia*, *Erythroxylum suberosum*, *Eugenia punicifolia*, *Evolvulus pterocaulon*, *Matayba guianensis*, *Myrcia uberabensis*, *M. variabilis*, *Struthanthus polyanthus*). *Caamembeca ulei* foi a única espécie que foi avaliada através de 15 indivíduos, devido à baixa abundância desse arbusto no campo.

Licenídeos e formigas

A ocorrência de imaturos de licenídeos (ovos e larvas) bem como a presença de formigas sobre as inflorescências foram registradas quinzenalmente através de uma a

quatro amostragens, de acordo com o tempo de duração de floração de cada espécie de hospedeiras. Para identificação dos licenídeos, os mesmos foram levados a laboratório para criação e obtenção de adultos. A criação dos imaturos foi de acordo com Bächtold et al. (2013), com reposição de alimento fresco e limpeza diária de cada pote de criação (larvas criadas em potes separados). As formigas, quando não identificadas no campo, foram coletadas ao final da última amostragem para serem identificadas com ajuda de especialistas. A presença de nectários extraflorais (NEFs) nas hospedeiras foi registrada no campo e confirmada pela literatura.

Análises estatísticas

Os dados quantitativos foram apresentados como média $\pm$ erro padrão. Testes estatísticos não-paramétricos foram usados sempre que os dados originais, mesmo após transformações, não se adequaram à distribuição normal. Para a descrição da comunidade de licenídeos foram usados os seguintes índices/parâmetros.

Riqueza – número de espécies de licenídeos amostradas.

Índice de diversidade de Simpson (1-D) – representa a probabilidade de que dois indivíduos de licenídeos amostrados aleatoriamente pertençam à mesma espécie. O índice de Simpson utilizado no estudo varia de 0 (diversidade nula) a 1 (diversidade máxima). A fórmula usada foi $D = \sum n(n-1)/N(N-1)$, onde n se refere à abundância total de cada espécie e N é a soma das abundâncias de todas as espécies de licenídeos (Brower & Zarr 1984).

Índice de diversidade de Shannon (H') – leva em consideração a abundância de cada espécie para criar um índice de diversidade. Neste estudo foi usado para comparar, por exemplo, a abundância de licenídeos em cada espécie de planta hospedeira. A

fórmula usada foi $H' = -\sum [(p_i) \times \ln(p_i)]$, onde é a proporção de cada espécie na amostra. Um valor de H' baixo reflete baixa diversidade (Magurran 1988).

Índice de dominância – a dominância de cada espécie de licenídeo na comunidade foi calculada pela fórmula $D\%=(n/N).100$, onde n é o número total de indivíduos de uma dada espécie e N se refere ao total de indivíduos coletados na amostra. As categorias foram de dominância foram delimitadas em eudominante $>10\%$; dominante = $5-9\%$; subdominante = $2-4\%$; eventual = 1% e raro $< 1\%$ (adaptado de Friebe 1983).

A sazonalidade (ocorrência que segue padrão não-aleatório) de licenídeos foi examinada através de estatística circular, utilizando-se a abundância mensal média, a riqueza e a diversidade de licenídeos como parâmetros. Através do vetor ' r ' fornecido pelo teste, é possível verificar a intensidade da sazonalidade na ocorrência de licenídeos. O vetor ' r ' varia de 0 a 1, sendo que 1 indica sazonalidade máxima. Além disso, o teste também fornece o período em que a abundância de licenídeos foi mais pronunciada (Fisher 1996; Morellato et al. 2000; Bächtold et al. 2014).

A diferença de licenídeos (abundância, riqueza e diversidade) nas estações seca (abril a setembro) e chuvosa (outubro a março) foi comparada com o teste U de Mann-Whitney ou o teste t de Student, dependendo da distribuição (normal ou não) dos dados. A relação entre as variáveis climáticas e abundância, riqueza e diversidade de licenídeos foi examinada com correlações de Pearson. A influência do período de floração de cada hospedeira (em meses) sobre a abundância de licenídeos avaliada através de teste de regressão linear simples, enquanto que a relação entre a disponibilidade de plantas hospedeiras (número de indivíduos por mês) e a abundância mensal de licenídeos foi verificada a partir do teste de correlação de Spearman. A diferença na produção de botões florais por espécie de hospedeira foi comparada através da Análise de variância (Anova). A proporção de botões florais produzidos na estação

seca e chuvosa foi comparada com um teste G. A produção de botões em plantas com e sem NEFs foi comparada com o teste U de Mann-Whitney. A relação entre a produção de botões florais e a abundância de licenídeos por espécie de hospedeira foi examinada através de um teste de regressão linear. A relação entre o número mensal de imaturos de *Allosmaitia strophius* e a quantidade mensal (número de indivíduos) de suas respectivas plantas hospedeiras registradas em período de floração no campo foi verificada através do teste de correlação de Spearman. Esses mesmos dados mensais de registros de *A. strophius* foram utilizados para examinar se houve alguma relação entre a ocorrência dos mesmos (imaturos) e o número de botões produzidos mensalmente por suas respectivas plantas hospedeiras através do teste de correlação de Spearman. Enquanto a relação entre a ocorrência de *Rekoa marius* (registro mensal de imaturos) e os mesmos fatores (número mensal de plantas hospedeiras de *R. marius* em período de floração e o respectivo número mensal de botões produzidos) foram avaliados separadamente através do teste de correlação de Pearson. A diferença na proporção de licenídeos amostrados em cada planta foi examinada com um teste G. Este teste também foi usado para verificar as diferenças na proporção de formigas em plantas com e sem NEFs. A abundância de licenídeos em plantas com e sem NEFs foi verificada com o teste U de Mann-Whitney; já a riqueza e diversidade de licenídeos nesses dois grupos de plantas foram comparadas com testes t de Student.

Isolando-se somente as plantas com NEFs, examinou-se se a abundância (%) de licenídeos foi maior em plantas com ou sem formigas, e o teste utilizado foi o teste G. Considerando-se todas as plantas, tanto com e sem NEFs, a abundância de licenídeos foi comparada em plantas com e sem formigas, e para tal utilizou-se o teste U de Mann-Whitney. A relação entre a abundância de licenídeos de acordo com as diferentes espécies de formigas foi verificada com o teste de Kruskal-Wallis. A variação sazonal das formigas

foi examinada com estatística circular. A frequência de formigas nas estações seca e chuvosa foi comparada com o teste *U* de Mann-Whitney; a abundância das espécies de formigas mais representativas (*C. crassus*; *C. blandus* e *E. tuberculatum*) nas estações seca e chuvosa foram comparadas com testes *G* e a relação entre a frequência dessas três espécies de formigas e a proporção de plantas hospedeiras com NEFs ao longo do ano foi avaliada através de teste de correlação de Pearson ou Spearman, respectivamente.

Resultados

Riqueza e diversidade de licenídeos

Foram encontradas 176 larvas de licenídeos, divididas em 11 gêneros e 15 espécies (Tabela 1). Do total de imaturos coletadas no campo, 88.06% ($n = 155$) foram criadas com sucesso em laboratório até o estágio adulto, enquanto que 11.94% ($n = 21$) sofreram mortalidade devido à ação de parasitóides ou por causas desconhecidas. *Rekoa marius* foi a espécie com maior número de registros (frequência) em plantas hospedeiras ($n = 7$ espécies de plantas), seguida por *Allosmaitia strophius* e *Parrhasius polibetes* ($n = 5$ espécies). Das espécies de licenídeos encontradas, nove delas foram registradas em somente uma planta hospedeira. Não houve relação significativa entre a abundância de licenídeos e o número de espécies de plantas hospedeiras em que foram amostrados ($rs = 0.4927$; $n = 15$ pares; $P > 0.05$). Por exemplo, a espécie mais abundante, *Panthiades phaleros* ($n = 38$ imaturos), foi encontrada somente em *Caamembeca ulei*, enquanto que outras espécies menos abundantes de licenídeos foram registradas em mais plantas hospedeiras (Tabela 1). A frequência dos licenídeos também foi baixa, visto que foram encontrados somente em 29.83% ($n = 88$) das plantas examinadas ($n = 295$ indivíduos de

plantas). As espécies eudominantes na comunidade foram *P. phaleros*, *A. strophius* e *R. marius*, que juntas foram responsáveis por 63.9% dos licenídeos amostrados no estudo. Já as espécies raras (*Chlorystrymon telea*, *Electrostrymon endmyon* e *Panthiades hebraeus*) contribuíram com somente 1.8% para a abundância total dos licenídeos.

O índice de diversidade de Shannon para a comunidade de licenídeos foi de 2.125 e o índice de Simpson, que é influenciado pelas espécies mais abundantes foi de 0.846, indicando uma diversidade alta destes insetos na área de estudo.

Houve sazonalidade na ocorrência de licenídeos (Rayleigh $Z = 11.7085$; $r = 0.9757$; $P < 0.01$), sendo que janeiro foi o mês que apresentou a maior abundância de imaturos ($n = 40$) com predomínio da espécie *P. phaleros* (95%, $n = 38$), enquanto que nos meses de outubro e novembro, nenhum licenídeo foi coletado (Figura 1a). A riqueza de espécies foi maior em maio e julho ($n = 6$ espécies em cada mês) (Rayleigh $Z = 11.9857$; $r = 0.9994$; $P < 0.01$). A diversidade, por sua vez, foi maior em julho (Rayleigh $Z = 11.9989$; $r = 1$; $P < 0.01$) (Figura 1a).

Tabela 1. Dados quantitativos (média e erro padrão) de uma comunidade de licenídeos em uma área de cerrado. ‘%’ se refere à porcentagem de cada espécie de licenídeo frente à comunidade. Ed – eudominante; D – dominante; Sd – subdominante; Ev – eventual; Rr – raro. ‘Plantas’ – se refere às espécies botânicas em que cada espécie de licenídeo foi encontrada. Abreviações: Pt - *Peixotoa tomentosa*; Bc - *Bionia coriacea*; Bs - *Banisteriopsis stellaris*; Oh - *Ouratea hexasperma*; Mu - *Myrcia uberavensis*; Bl - *Banisteriopsis laevifolia*; Os - *Ouratea spectabilis*; Sp - *Struthanthus polyanthus*; Mg - *Matayba guianensis*; Cu - *Caamembeca ulei*; Hp - *Heteropterys pteropetala*; Ep - *Evolvulus pterocaulon*; Br - *Bauhinia rufa*; Sv - *Senna velutina*; Bm - *Banisteriopsis malifolia*.

Espécies de licenídeos	média ± EP (n)	%	Plantas
<i>Panthiades phaleros</i> (Linnaeus, 1767)	2.53 ± 2.54 (38)	24.5 (Ed)	Cu
<i>Allosmaitia strophius</i> (Godart [1824])	2.47 ± 1.43 (37)	23.9 (Ed)	Pt; Bs, Bl, Hp
<i>Rekoa marius</i> (Lucas, 1857)	1.60 ± 0.55 (24)	15.5 (Ed)	Bc, Bs, Oh, Mu, Bl, Sv, Bm
<i>Parrhasius polibetes</i> (Stoll, 1781)	0.87 ± 0.44 (13)	8.4 (D)	Os, Oh, Mg, Sv, Bm
<i>Strymon bubastus</i> (Comstock & Huntington, 1943)	0.73 ± 0.73 (11)	7.1 (D)	Ep
<i>Leptotes cassius</i> (Cramer, 1775)	0.53 ± 0.53 (8)	5.2 (D)	Bc
<i>Tmolus venustus</i> (H. Druce, 1907)	0.40 ± 0.19 (6)	3.9 (Sd)	Pt, Oh, Mu, Bm
<i>Strymon mulucha</i> (Hewitson, 1867)	0.27 ± 0.15 (4)	2.6 (Sd)	Pt, Mu, Bl
<i>Thereus ortalus</i> (Godman & Salvin, 1887)	0.27 ± 0.27 (4)	2.6 (Sd)	Sp
<i>Calycopis calor</i> (H. Druce, 1907)	0.20 ± 0.20 (3)	1.9 (Ev)	Bc
<i>Kolana</i> sp.	0.13 ± 0.09 (2)	1.3 (Ev)	Os, Bm
<i>Strymon cyanofusca</i> K. Johnson, Eisele & MacPherson, 1990	0.13 ± 0.13 (2)	1.3 (Ev)	Mu
<i>Chlorystrymon telea</i> (Hewitson, 1868)	0.07 ± 0.07 (1)	0.6 (Rr)	Os
<i>Electrostrymon endmyon</i> (Fabricius, 1775)	0.07 ± 0.07 (1)	0.6 (Rr)	Bl
<i>Panthiades hebraeus</i> (Hewitson, 1867)	0.07 ± 0.07 (1)	0.6 (Rr)	Bc

Licenídeos e variáveis climáticas

Comparando-se a comunidade de licenídeos nas estações seca (maio a setembro) e chuvosa (outubro a abril) (figura 1b), percebe-se que a abundância destes insetos foi maior na estação seca, porém essa diferença não foi estatisticamente observada entre as estações ($U = 12.5$; $P > 0.05$); a riqueza foi maior (marginalmente significativa) na estação seca ($t = 2.1530$, $gl = 10$, $P > 0.0567$). Já a diversidade também foi maior na estação seca, porém o teste não foi estatisticamente significativo ($t = 1.5740$, $gl = 10$, $P > 0.05$) (Figura 1c).

Figura 1. (a) Variação temporal na abundância (média ± erro padrão), riqueza e diversidade de líquens c. (b) Temperatura (°C) e precipitação (mm) durante o período de estudo. (c) Comparação da abundância, riqueza e diversidade (Shannon) de líquens, por planta, nas duas estações típicas do cerrado. ‘*’ = $P < 0.057$ (marginalmente significativo), ns – não significativo (ver texto para detalhes dos testes). Áreas sombreadas em (a) e (b) correspondem à estação seca.

Fenologia das plantas

A produção de botões florais das plantas examinadas variou de um a três meses e sobreposição da fenologia foi comum, exceto para os meses de novembro, dezembro e abril, quando somente uma espécie de planta apresentava botões. Em outubro nenhuma planta foi observada com botões florais. Já o mês de janeiro foi o que se verificou uma maior sobreposição de plantas florescendo ($n = 5$), seguido pelos meses de julho e fevereiro ($n = 4$ plantas cada mês; Tabela 2). Além disso, verificou-se que a abundância de licenídeos aumentou à medida que o período de floração da planta hospedeira diminuiu ($r^2 = -0.540$, $F_{1,13} = 15.26$, $p = 0.0018$) e que a abundância mensal de imaturos apresentou forte correlação com a disponibilidade de plantas hospedeiras (número de indivíduos por mês) em período de floração ($rs = 0.8077$; $n = 12$ pares; $P < 0.01$).

Tabela 2. Fenologia reprodutiva baseada na presença/ausência de botões florais nas 15 espécies de plantas registradas com licenídeos. Espécies com ‘Nef’ sobrescrito apresentam nectários extraflorais. Os meses em cinza representam a estação seca.

Espécies de plantas	2012					2013							
	Maio	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	
<i>Peixotoa tomentosa</i> ^{Nef}	■	■											
<i>Bionia coriacea</i> ^{Nef}	■	■											
<i>Banisteriopsis stellaris</i> ^{Nef}	■	■											
<i>Ouratea hexasperma</i> ^{Nef}	■	■	■										
<i>Myrcia uberavensis</i>	■	■	■	■									
<i>Banisteriopsis laevifolia</i> ^{Nef}	■	■	■	■	■								
<i>Ouratea spectabilis</i> ^{Nef}	■	■	■	■	■								
<i>Struthanthus polyanthus</i>	■	■	■	■	■								
<i>Matayba guianensis</i>							■	■					
<i>Caamembeca ulei</i> ^{Nef}									■	■			
<i>Heteropterys pteropetala</i> ^{Nef}									■	■	■		
<i>Evolvulus pterocaulon</i>									■	■	■		
<i>Bauhinia rufa</i> ^{Nef}									■	■	■		
<i>Senna velutina</i>									■	■	■		
<i>Banisteriopsis malifolia</i> ^{Nef}									■	■	■	■	

A produção de botões florais variou consideravelmente entre as plantas e entre os meses do ano. *Struthanthus polyanthus* se destacou pela alta produção de botões, excedendo em 673 vezes o número de botões comparado à produção de *Evolvulus pterocaulon* ($F_{14,285} = 150.3158$, $P < 0.0001$; Tabela 3). A produção de botões alcançou um pico em setembro e novembro, enquanto que no mês de outubro nenhum botão floral foi verificado (Figura 2). Considerando-se a totalidade das espécies vegetais amostradas, a maioria dos botões florais (59%) foi amostrada na estação seca, porém não houve diferença significativa na proporção de botões produzidos entre as estações seca e chuvosa ($G = 3.3577$, $gl = 1$, $P > 0.05$). Das 15 plantas investigadas no estudo, 66.7% ($n = 10$) possuem NEFs (Tabela 2) e a produção de botões foi significativamente maior nas plantas sem NEFs (122819.5 ± 18.99) em comparação com as plantas com NEFs (32910.91 ± 14.5) ($U = 7366$, $P < 0.001$).

Tabela 3. Produção (média $\pm$ erro padrão), em ordem decrescente, dos botões florais nas plantas estudadas. Espécies com ‘Nef’ sobrescrito apresentam nectários extraflorais.

Espécie de planta	Botões florais média $\pm$ EP
<i>Struthanthus polyanthus</i>	4446.45 $\pm$ 405.39
<i>Matayba guianensis</i>	1348.75 $\pm$ 171.91
<i>Banisteriopsis malifolia</i> ^{Nef}	329.41 $\pm$ 62.72
<i>Heteropterys pteroptela</i> ^{Nef}	307.18 $\pm$ 55.82
<i>Ouratea spectabilis</i> ^{Nef}	302.01 $\pm$ 30.80
<i>Myrcia uberavensis</i>	298.28 $\pm$ 41.65
<i>Ouratea hexasperma</i> ^{Nef}	262.04 $\pm$ 52.97
<i>Banisteriopsis laevifolia</i> ^{Nef}	259.85 $\pm$ 37.63
<i>Peixotoa tomentosa</i> ^{Nef}	86.78 $\pm$ 11.62
<i>Bionia coriacea</i> ^{Nef}	43.90 $\pm$ 4.97
<i>Senna velutina</i>	40.90 $\pm$ 6.04
<i>Banisteriopsis stellaris</i> ^{Nef}	39.33 $\pm$ 7.33
<i>Bauhinia rufa</i> ^{Nef}	8.65 $\pm$ 1.40
<i>Caamembeca ulei</i> ^{Nef}	8.53 $\pm$ 1.40
<i>Evolvulus pterocaulon</i>	6.60 $\pm$ 0.38

Figura 2. Variação temporal (média $\pm$ erro padrão) na produção de botões florais nas 15 espécies de plantas hospedeiras onde licenídeos foram amostrados. Áreas sombreadas correspondem à estação seca. Os dados originais foram *log* transformados para se adequarem melhor ao gráfico.

Houve uma relação negativa entre a produção de botões e a abundância de licenídeos por planta (inclinação da reta = -0.0888; Figura 3), porém o teste não foi estatisticamente significativo ($F_{1,13} = 3.5694$, $r^2 = 0.2154$, $P = 0.0814$).

Figura 3. Relação entre a abundância de licenídeos e a produção de botões florais por espécie de planta hospedeira. A relação entre estas duas variáveis foi negativa, porém não foi estatisticamente significativa.

A abundância de licenídeos variou marcadamente entre as plantas, sendo maior em *Caamembeca ulei*. Por outro lado, *M. guianensis* foi a planta com o menor número de licenídeos encontrados (Tabela 4). A diferença na proporção de licenídeos amostrados em cada planta foi estatisticamente significativa ($G = 69.3403$, $gl = 14$, $P < 0.0001$).

Tabela 4. Abundância (média $\pm$ erro padrão), em ordem decrescente, de licenídeos de acordo com as plantas amostradas. Espécies com ‘Nef’ sobrescrito apresentam nectários extraflorais.

Espécie de planta	Licenídeos média $\pm$ EP (n)
<i>Caamembeca ulei</i> ^{Nef}	2.53 $\pm$ 2.53 (38)
<i>Peixotoa tomentosa</i> ^{Nef}	1.53 $\pm$ 1.15 (23)
<i>Banisteriopsis laevifolia</i> ^{Nef}	1.07 $\pm$ 0.54 (16)
<i>Banisteriopsis malifolia</i> ^{Nef}	0.93 $\pm$ 0.38 (14)
<i>Bionia coriacea</i> ^{Nef}	0.87 $\pm$ 0.38 (13)
<i>Evolvulus pterocaulon</i>	0.73 $\pm$ 0.45 (11)
<i>Ouratea hexasperma</i> ^{Nef}	0.53 $\pm$ 0.20 (8)
<i>Myrcia uberavensis</i>	0.47 $\pm$ 0.12 (7)
<i>Ouratea spectabilis</i> ^{Nef}	0.33 $\pm$ 0.11 (5)
<i>Banisteriopsis stellaris</i> ^{Nef}	0.27 $\pm$ 0.09 (4)
<i>Heteropterys pteroptela</i> ^{Nef}	0.27 $\pm$ 0.13 (4)
<i>Struthanthus polyanthus</i>	0.27 $\pm$ 0.12 (4)
<i>Bauhinia rufa</i> ^{Nef}	0.20 $\pm$ 0.09 (3)
<i>Senna velutina</i>	0.20 $\pm$ 0.06 (3)
<i>Matayba guianensis</i>	0.13 $\pm$ 0.04 (2)

Relação recurso alimentar x dieta oligófaga

Allosmaitia strophius (n = 37 imaturos) foi encontrada apenas em inflorescências de espécies de Malpighiaceae (quatro das seis espécies estudadas; tabela 1) sendo que 86.5% (n = 32) dos imaturos foram registrados durante os meses na estação seca. A ocorrência mensal desse licenídeo oligófago não apresentou correlação com a quantidade de plantas hospedeiras em floração ($r_s = 0.4332$; n = 12 pares; $P = 0.1594$), assim como não teve qualquer relação com a quantidade de botões produzidas pelas espécies de Malpighiaceae disponíveis no campo ($r_s = 0.2772$; n = 12 pares; $P = 0.3830$).

Relação recurso alimentar x dieta polífaga

Rekoa marius foi registrada em sete espécies de plantas de diferentes famílias (n = 24 imaturos) e 66,67% desses imaturos foram registrados durante a estação seca, sendo os demais 33,33% registrados durante a estação chuvosa. A população de *R. marius*

mostrou uma ligeira inclinação em ocorrer nos períodos de floração de suas plantas hospedeiras ($r = 0.5259$, $gl = 10$, $P = 0.079$), porém essa ocorrência não teve relação com a quantidade de botões produzidas por essas plantas ($r = 0.4348$, $gl = 10$, $P = 0.1577$).

Formigas

Licenídeos foram encontrados com as seguintes espécies de formigas: *Camponotus blandus*, *C. crassus*, *Camponotus* sp., *Ectatomma tuberculatum*, *E. edentatum* e *Crematogaster* sp. Destas as mais frequentes nas plantas foram as espécies de *Camponotus*, que foram encontradas em todas as espécies vegetais, exceto em *Evolvulus pterocaulon* (Figura 4).

Figura 4. Frequência (%) das principais espécies de formigas amostradas em todas as plantas investigadas para a presença de licenídeos. ‘NEFs’ – nectários extraflorais. ‘Outras formigas’ se refere à *Crematogaster* sp. e à *Camponotus* sp.

As formigas foram significativamente mais frequentes em indivíduos de plantas com NEFs (78% dos registros) do que em plantas sem estas estruturas ($G = 45.7187$, $gl = 1$, $P < 0.0001$) (Figura 5a). No entanto, mesmo em plantas sem NEFs, formigas foram observadas em alguns indivíduos marcados (Figura 4), principalmente em *Myrcia uberavensis*, onde 50% dos indivíduos possuíam *Camponotus* (*blandus* e *crassus*). Em comparação, *M. guianensis* apresentou baixa frequência de formigas, sendo estas registradas em 30% dos indivíduos.

Setenta por cento dos registros de licenídeos ($n = 62$ indivíduos de plantas) ocorreram em plantas com NEFs. Além disso, a abundância de licenídeos foi muito maior em plantas com NEFs ($n = 10$ espécies de plantas e $n = 128$ licenídeos) comparado às plantas sem NEFs ($n = 5$ espécies de plantas e $n = 27$ licenídeos) ($U = 491.5$, $P < 0.01$)

(Figura 5b). A riqueza e diversidade de licenídeos também foram maiores em plantas com NEFs, embora de forma não significativa (riqueza: $t = 0.5672$, $gl = 13$, $P > 0.05$; diversidade $t = 0.2258$, $df = 13$, $P > 0.05$) (Figura 5c).

Quando foram consideradas somente as plantas com NEFs ($n = 10$ espécies de plantas e $n = 126$ licenídeos), notou-se que 90% dos imaturos ocorreram em plantas com formigas (Figura 5d), indicando uma relação significativa entre a presença de licenídeos e formigas em plantas com NEFs ($G = 73.6128$, $gl = 1$, $P < 0.0001$).

Figura 5. (a) Frequência de formigas em plantas com e sem nectários extraflorais (NEFs). (b) Abundância média ($\pm$ DP) de licenídeos amostrados em plantas com e sem NEFs. (c) Riqueza e diversidade média ($\pm$ DP) de licenídeos em plantas com e sem NEFs. (d) Abundância relativa de licenídeos de acordo com a presença de NEFs e de formigas nas plantas. ‘*’ indica diferença estatística (ver texto); ‘ns’ – diferenças estatisticamente não significativas.

Considerando-se todas as plantas, tanto com e sem NEFs, a maioria dos imaturos de licenídeos (80.65%; $n = 125$ imaturos) foi encontrada em plantas com formigas ($U = 59.5$; $P < 0.05$) (Figura 6a) e houve uma predominância (porém não significativa) de licenídeos em plantas com *C. blandus* (34.16%; $n = 53$ licenídeos) ($H = 5.8145$; $gl = 3$; $P > 0.05$) (Figura 6b).

Figura 6. (a) Abundância de licenídeos (média $\pm$ EP) em plantas com e sem formigas. O símbolo ‘*’ indica diferença significativa de acordo com o teste U de Mann-Whitney. (b) Abundância de licenídeos (média $\pm$ EP) de acordo com as diferentes espécies de formigas.

A ocorrência de cada espécie de licenídeo variou em relação às formigas e ainda que a maioria dos imaturos tenha sido encontrada em plantas com formigas, algumas espécies de licenídeos, como *S. bubastus* e *S. cyanofusca*, foram amostrados somente em plantas sem formigas (Figura 7).

Figura 7. Lícnidos (%) amostrados em plantas com as diferentes espécies de formigas e em plantas sem formigas.

As formigas, assim como os lícnidos apresentaram variação temporal (Figura 8a) cuja ocorrência tende a ser maior na estação seca (maio a setembro), onde 58% ($\pm 4.94\%$) das plantas possuíam formigas, enquanto que na estação chuvosa este valor foi de 34% (13.50%), porém esta diferença não foi significativa ($U = 7$, $P > 0.05$). As três espécies de formigas mais comuns no estudo (*C. blandus*, *C. crassus* e *E. tuberculatum*) foram mais frequentemente encontradas na estação seca (*C. blandus*: $G = 9.1401$, $gl = 1$, $P < 0.01$; *C. crassus*: $G = 16.2624$, $gl = 1$, $P < 0.0001$; *E. tuberculatum*: $G = 18.1991$, $gl = 1$, $P < 0.0001$) (Figura 8b). Além disso, a frequência dessas três espécies de formigas mostrou relação positiva com a proporção de plantas com NEFs presentes ao longo do ano (*C. blandus*: $r = 0.7279$, $gl = 10$, $P < 0.01$; *C. crassus*: $r = 0.6191$, $P < 0.05$, $gl = 10$, $P < 0.05$; *E. tuberculatum*: $rs = 0.7715$, $n = 12$ pares, $P < 0.01$) (Figura 8c).

Figura 8. (a) Variação temporal da frequência de plantas ocupadas por espécies de formigas mais comuns no estudo juntamente com a variação de lichenídeos; (b) Comparação da frequência de espécies de formigas de acordo com as estações do ano; (c) Proporção de plantas hospedeiras com nectários extraflorais registrados durante o estudo.

Discussão

A comunidade de licenídeos florívoros estudada no cerrado apresentou variação temporal com considerável inclinação sazonal. A riqueza, a diversidade e a abundância dos licenídeos foram maiores na estação seca, embora sem significância estatística para diversidade e abundância. Considerando essa tendência sazonal dos licenídeos, nosso estudo corrobora o padrão encontrado para lagartas do cerrado (Morais et al. 1999, Rodovalho et al. 2007, Scherrer et al. 2010) uma vez que a ocorrência desses insetos foi mais frequente durante a estação seca. Contudo, esse padrão é baseado em espécies folívoras, dieta predominante entre a fauna de lepidópteros do Cerrado e que corresponde ao grupo de lepidópteros mais bem conhecido (Brown & Gifford 2002, Moraes et al. 2009) quando comparado às lagartas florívoras aqui estudadas.

Para herbívoros florais, alimentar-se de recursos como botões e flores pode ser vantajoso, pois comparado às folhas, as partes reprodutivas da planta tendem a ser mais nutritivas contendo baixo teor de fibras e diferentes defesas químicas influenciando assim positivamente o desenvolvimento das larvas (Held & Potter 2004, Smallegange et al. 2007). Por outro lado, botões e flores são recursos efêmeros cuja fenologia pode limitar a ocorrência de seus herbívoros (Phillimore et al. 2012). Nosso estudo abordou dois importantes fatores relacionados à disponibilidade de alimento: a oferta temporal (período de floração das hospedeiras) e a oferta quantitativa (a produção de botões). Para o primeiro fator, verificou-se que a maioria dos licenídeos utilizaram plantas hospedeiras com períodos curtos de floração, enquanto que para o segundo fator, a comunidade de licenídeos mostrou uma tendência em selecionar plantas que produzem menor quantidade de botões. Ambos os fatores foram utilizados para avaliar uma comunidade composta por diferentes espécies de licenídeos caracterizados por diferentes amplitudes de dietas (oligofagia e polifagia). No caso de *A. strophius*, o fato de suas larvas utilizarem apenas

inflorescências de plantas de Malpighiaceae (Kaminski & Freitas 2010) condiciona o licenídeo a uma maior dependência sobre a floração de suas hospedeiras do que uma espécie com dieta mais ampla como *Rekoa marius* (Monteiro 1991). Nosso estudo mostrou que a disponibilidade temporal de recursos e a quantidade são fatores que podem condicionar a ocorrência de imaturos de *A. strophius*, possivelmente sem restringir essa população em escala local uma vez que sua população não variou conforme os recursos disponíveis. Por outro lado, a população amostrada de *R. marius* revelou uma certa tendência em acompanhar o período de floração de suas plantas hospedeiras, possivelmente sob a vantagem de ter mais opções de recursos localmente. Assim como as espécies de licenídeos se diferem quanto à dieta, as plantas hospedeiras também apresentam características intrínsecas (físicas, químicas e morfológicas) que interferem no comportamento de oviposição das borboletas (Thompson & Pellmyr 1991, Mugrabi-Oliveira & Moreira 1996, Rodrigues et al. 2010) e que podem explicar a seleção de plantas e consequentemente a ocorrência de licenídeos florívoros em ambientes sazonais como o cerrado.

Uma característica comum encontrada na maioria das plantas utilizadas pela comunidade de licenídeos no cerrado foi a presença de NEFs e consequentemente, a presença de formigas. Por um lado, esse resultado é esperado visto o comum registro de lagartas de licenídeos tropicais em plantas com NEFs somado ao fato da riqueza de plantas que possuem NEFs em regiões tropicais como o cerrado (Fiedler 1994, Oliveira & Freitas 2004, Kaminski et al. 2012, Bächtold et al. 2013). Por outro, esse resultado contraria a idéia geral de Fiedler (1995), o qual sugere que licenídeos não possuem preferências por plantas hospedeiras com NEFs, em vista do baixo número de registro de hospedeiras conhecidas por possuírem NEFs e também pela baixa representatividade de licenídeos mirmecófilos cuja associação estável com formigas (caracterizada pela

funcionalidade do DNO nas larvas) capacita as larvas a explorar espaço livre de inimigos, o que é decorrente da presença de formigas (Atsatt 1981). De fato, a extrema carência de informações sobre a fauna de licenídeos neotropicais e suas plantas hospedeiras (mas veja Beccaloni et al. 2008, Silva et al. 2011, Kaminski et al. 2012) pode apontar para padrões ecológicos esperados não condizentes com os dados observados. Além do mais, caracterizar o grau de mirmecofilia através da funcionalidade do DNO presente na larva é cabível de diferentes opiniões. Enquanto alguns trabalhos consideram apenas a existência do órgão DNO como responsável pela estabilidade da associação com formigas (Kitching & Luke 1985), demais trabalhos acreditam que as larvas devem ser capazes de produzir líquido açucarado através do DNO para manterem associadas às formigas (ver Pierce et al. 2002). Para licenídeos neotropicais, o que se tem mostrado é a presença de espécies mirmecófilas facultativas e algumas espécies não associadas às formigas (e.g. Robbins 1991; Ballmer & Pratt 1988; Duarte et al. 2005) e entre as mirmecófilas, larvas que são atendidas mesmo sem a produção do líquido pelo DNO (Kaminski et al. 2012, Silva et al. in press). Esses e demais licenídeos mirmecófilos facultativos caracterizam a comunidade estudada aqui no qual revela em utilizar plantas com NEFs e, por conseguinte, plantas visitadas por formigas.

Associações mirmecófilas facultativas são também muito comuns e amplamente conhecidas a nível global (Fiedler 2006) e tal sucesso tem sido creditado ao alto grau de oportunismo ecológico registrado e em sistemas mirmecófilos mediados pela presença de plantas com NEFs (Fiedler 2001) e pelo baixo custo da associação para as larvas de licenídeos (Wagner 1993, Kaminski & Rodrigues 2011). De acordo com o presente estudo, as principais espécies de formigas encontradas em plantas ocupadas por licenídeos são caracterizadas pela ecologia oportunista. *Camponotus blandus*, *C. crassus* e *E. tuberculatum* são onívoras, comumente registradas em plantas com NEFs no cerrado

(Oliveira & Freitas 2004, Lange et al. 2013), e são conhecidas por estabelecer associações facultativas com licenídeos (Fiedler 1991, Robbins 1991, Kaminski et al. 2012). O presente estudo mostrou também que a presença dessas três espécies de formigas está fortemente relacionada com a presença de plantas com NEFs, o que evidencia a importância desse recurso pelo fato de atrair formigas sobre as plantas, influenciando assim na seleção de plantas hospedeiras por parte dos licenídeos. Estudos têm apontado NEFs como fundamentais sobre a manutenção de associações mirmecófilas, incluindo organismos trofobiontes como afídeos e licenídeos (Engel 2001, Fiedler 2006, Vilela et al. 2014). No caso de licenídeos, o fato de espécies facultativas também utilizarem formigas como pistas visuais (Wagner & Kurina 1997, Kaminski et al. 2010b), reforça a discussão de que plantas que apresentam recursos energéticos podem aumentar a previsibilidade da presença de formigas, como os NEFs, influenciando a manutenção de associações mirmecófilas entre formigas e licenídeos (Atsatt 1981, Del-Claro & Oliveira 1993). Pois não basta a presença de formiga durante a seleção da plantas, mas também é necessária a frequência constante das formigas durante o desenvolvimento larval do licenídeo sobre a planta para assegurar que as larvas sejam atendidas (Trager et al. 2013).

Em resumo, nosso estudo mostrou que licenídeos florívoros selecionam plantas hospedeiras com NEFs no cerrado, e estes são responsáveis pela presença marcante de espécies de formigas caracterizadas pelo alto grau de oportunismo ecológico, como é o caso de *C. blandus*, *C. crassus* e *Ectatomma tuberculatum*. Demais fatores como características nutricionais das plantas e a presença de predadores e parasitóides também devem ser considerados, pois podem influenciar o padrão de uso de plantas hospedeiras (Lill et al. 2002, Scherrer et al. 2010). Ademais, o comportamento de atendimento das formigas no campo também revela ser promissor para compreender sistemas de interação entre formiga e borboleta (Kaminski & Rodrigues 2011).

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia onde o estudo foi realizado, à Renata Pacheco e Jonas Maravalhas pela identificação das formigas; ao Estevão Alves-Silva pelo auxílio nas análises estatísticas; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes); ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pelo apoio financeiro.

Referências bibliográficas

- Atsatt PR (1981) Lycaenid butterflies and ants - selection for enemy-free space. *Am Nat* 118: 638-654
- Bächtold A, Alves-Silva E (2013) Behavioral strategy of a lycaenid (Lepidoptera) caterpillar against aggressive ants in a Brazilian savanna. *Acta Ethol* 16: 83-90
- Bächtold A, Alves-Silva E, Del-Claro K (2013) Lycaenidae larvae feeding on *Peixotoa parviflora* (Malpighiaceae) in a semi-deciduous forest in southeastern Brazil. *J Lep Soc* 67: 65-67
- Bächtold A, Lange D, Del-Claro K (2014) Influence, or the lack thereof, of host phenology, architecture and climate on the occurrence of *Udranomia spitzzi* (Hesperiidae: Lepidoptera). *Entomol Sci* 17: 66-74
- Ballmer GR, Pratt GF (1988) A survey of the last instar larvae of the Lycaenidae (Lepidoptera) of California. *J R Lepidoptera* 27:1-81
- Beccaloni G, Hall S, Vilorio A, Robinson G (2008) Host-plants of the Neotropical butterflies: A catalogue/catálogo de las plantas huésped de las mariposas neotropicales. SEA/RIBESCYTED/The Natural History Museum/Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas
- Braby M (1995) Seasonal-changes in relative abundance and spatial-distribution of Australian lowland tropical Satyrine butterflies. *Aust J Zool* 43: 209-229

- Brower JE, Zar JH (1984) Field & laboratory methods for general ecology. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa
- Brown Jr KS, Gifford DR (2002) Lepidoptera in the cerrado landscape and the conservation of vegetation, soil and topographical mosaics. In Oliveira PS, Marquis RJ (eds) The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna. Columbia Univ. Press, New York, pp. 201-217
- Brown Jr KS (1993) Selected Neotropical species. In New TR (ed) Conservation Biology of Lycaenidae (Butterflies). IUCN, Gland, Switzerland, pp. 146–149.
- Dejean A, Beugnon G (1996) Host-ant trail following by myrmecophilous larvae of Liphyrinae (Lepidoptera, Lycaenidae). *Oecologia* 106: 57-62
- Del-Claro K, Oliveira PS (1993) Ant-Homoptera interaction: do alternative sugar sources distract tending ants? *Oikos*: 202-206
- Del-Claro K, Berto V, Réu W (1996) Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). *J Trop Ecol* 12: 887-892
- Diniz IR, Hay JD, Rico-Gray V, Greeney HF, Morais HC (2012) Shelter-building caterpillars in the cerrado: seasonal variation in relative abundance, parasitism, and the influence of extra-floral nectaries. *Arthropod-Plant Inte* 6: 583-589
- Duarte M, Robbins RK (2009) Immature stages of *Calycopis bellera* (Hewitson) and *C. janeirica* (Felder) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini): taxonomic significance and new evidence for detritivory. *Zootaxa* 2325: 39-61
- Duarte M, Robbins RK (2010) Description and phylogenetic analysis of the Calycopidina (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini): a subtribe of detritivores. *Rev Bras Entomol* 54: 45-65
- Duarte M, Robbins RK, Mielke OH (2005) Immature Stages of *Calycopis caulonia* (Hewitson, 1887) (Lepidoptera, Lycaenidae, Theclinae, Eumaeini), with Notes on Rearing Detritivorous Hairstreaks on Artificial Diet. *Zootaxa* 1063: 1-31
- Engel V, Fischer MK, Wäckers FL, Völkl W (2001) Interactions between extrafloral nectaries, aphids and ants: are there competition effects between plant and homopteran sugar sources? *Oecologia* 129: 577-584
- Fiedler K (1994) Observations on the biology of *Eooxylides tharis* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Nachrichten des Entomologischen Vereins Apollo, Frankfurt (Neue Folge)* 14: 325-337

- Fiedler K (1995) Lycaenid butterflies and plants: hostplant relationships, tropical versus temperate. *Ecotropica* 1: 51-58
- Fiedler K (2001) Ants that associate with Lycaeninae butterfly larvae: diversity, ecology and biogeography. *Divers Distrib* 7: 45-60
- Fiedler K (2006) Ant-associates of Palaearctic lycaenid butterfly larvae (Hymenoptera: Formicidae; Lepidoptera: Lycaenidae)—a review. *Myrmecol Nachr* 9: 77-87
- Fisher NI (1996) *Statistical Analysis of Circular Data*. Cambridge University Press, Cambridge
- Frieb B (1983) Zur Biologie eines Buchenwaldbodens. *Die Käferfauna*. *Carolinea* 41:45-80
- Held DW, Potter DA (2004) Floral affinity and benefits of dietary mixing with flowers for a polyphagous scarab, *Popillia japonica* Newman. *Oecologia* 140: 312-320
- Kaminski LA, Freitas AV (2010). Natural history and morphology of immature stages of the butterfly *Allosmaitia strophius* (Godart) (Lepidoptera: Lycaenidae) on flower buds of Malpighiaceae. *Stud Neotrop Fauna E* 45: 11-19
- Kaminski LA, Rodrigues D (2011) Species-specific levels of ant attendance mediate performance costs in a facultative myrmecophilous butterfly. *Physiol Entomol* 36: 208-214
- Kaminski LA, Sendoya SF, Freitas AV, Oliveira PS (2009) Ecologia comportamental na interface formiga-planta-herbívoros: interações entre formigas e lepidópteros. *Oecologia Brasiliensis* 13: 27-44
- Kaminski L A, Thiele SC, Iserhard CA, Romanowski HP, Moser A (2010) Natural history, new records, and notes on the conservation status of *Cyanophrys berthia* (Jones) (Lepidoptera: Lycaenidae). *P Entomol Soc Wash* 112: 54-60
- Kaminski LA, Freitas AV, Oliveira PS (2010b). Interaction between mutualisms: ant-tended butterflies exploit enemy-free space provided by ant-treehopper associations. *Am Nat* 176: 322-334
- Kaminski LA, Rodrigues D, Freitas AV (2012) Immature stages of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae): host plants, tending ants, natural enemies and morphology. *J N Hist* 46: 645-667
- Lange D, Dattilo W, Del-Claro K (2013) Influence of extrafloral nectary phenology on ant-plant mutualistic networks in a neotropical savanna. *Ecol Entomol* 38: 463-469

- Lange D, Del-Claro K (2014) Ant-Plant Interaction in a Tropical Savanna: may the network structure vary over time and influence on the outcomes of associations. DOI: 10.1371/journal.pone.0105574
- Lill J, Marquis R, Ricklefs R (2002) Host plants influence parasitism of forest caterpillars. *Nature* 417: 170-173
- Magurran AE (1988) *Ecological Diversity and its Measurement*. Princeton University Press, Princeton, USA
- Malicky H (1970) New aspects of the association between lycaenid larvae (Lycaenidae) and ants (Formicidae, Hymenoptera). *J Lepid Soc* 24: 190-202
- Milne M, Walter G (2000) Feeding and breeding across host plants within a locality by the widespread thrips *Frankliniella schultzei*, and the invasive potential of polyphagous herbivores. *Divers and distrib* 6: 243-257
- Morais HC, Diniz IR, Silva D (1999) Caterpillar seasonality in a central Brazilian cerrado. *Rev Biol Trop* 47: 1025-1033
- Morais HC, Hay JDV, Diniz IR (2009) Brazilian cerrado folivore and florivore caterpillars: how different are they? *Biotropica* 41: 401-405
- Morellato LPC, Talora DC, Takahasi A, Bencke CC, Romera EC, Zipparro VB (2000) Phenology of Atlantic Rain Forest Trees: A Comparative Study1. *Biotropica* 32: 811-823
- Muniz DG, Freitas AV, Oliveira PS (2012) Phenological relationships of *Eunica bechina* (Lepidoptera: Nymphalidae) and its host plant, *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae), in a Neotropical savanna. *Stud Neotrop Fauna E*: 111-118
- Oliveira PS, Freitas AV (2004) Ant-plant-herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. *Naturwissenschaften* 91: 557-570
- Phillimore AB, Stålhandske S, Smithers RJ, Bernard R. (2012) Dissecting the contributions of plasticity and local adaptation to the phenology of a butterfly and its host plants. *Amer Nat* 180: 655-670
- Pierce NE, Elgar MA (1985) The influence of ants on host plant selection by *Jalmenus evagoras*, a myrmecophilous lycaenid butterfly. *Behav Ecol Sociobiol* 16: 209-222
- Pierce NE, Braby MF, Heath A, Lohman, DJ, Mathew J, Rand DB, Travassos MA (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Annu Rev Entomol* 47: 733-771

- Piña HH, Montaña C, Mandujano MdC (2010) *Olycella* aff. *junctolineella* (Lepidoptera: Pyralidae) florivory on *Opuntia microdasys*, a Chihuahuan Desert endemic cactus. J Arid Environ 74: 918-923
- Robbins RK (1980) The lycaenid “false head” hypothesis: historical review and quantitative analysis. J Lepid Soc 34:194–208
- Robbins RK (1991) Cost and evolution of a facultative mutualism between ants and lycaenid larvae (Lepidoptera). Oikos 62: 363-369
- Robbins RK. 2004. Lycaenidae. Theclinae. Eumaeini. In: Lamas G, editor. Checklist: Part 4A. Hesperioidea—Papilionoidea. In: Heppner JB, editor. Atlas of Neotropical Lepidoptera. Volume 5A. Gainesville (FL): Association for Tropical Lepidoptera, Scientific Publishers, pp. 118–137
- Robbins RK, Aiello A (1982) Foodplant and oviposition records for Panamanian Lycaenidae and Ridonidae. J Lepid Soc 36: 65-75
- Robbins RK, & Glassberg J (2013) A butterfly with olive green eyes discovered in the United States and the Neotropics (Lepidoptera, Lycaenidae, Eumaeini). ZooKeys, 305: 1-20
- Rodvalho SR, Laumann RA, Diniz IR (2007) Ecological aspects of lepidopteran caterpillar parasitoids from *Caryocar brasiliense* Camb.(Caryocaraceae) in a cerrado sensu stricto of Central Brazil. Biota Neotrop 7: 239-243
- Rodrigues D, Kaminski LA, Freitas AVL, Oliveira PS (2010) Trade-offs underlying polyphagy in a facultative ant-tended florivorous butterfly: the role of host plant quality and enemy-free space. Oecologia 163: 719-728
- Scherrer S, Diniz IR, Morais HCd (2010) Climate and host plant characteristics effects on lepidopteran caterpillar abundance on *Miconia ferruginata* DC. and *Miconia pohliana* Cogn (Melastomataceae). Braz J Biol 70: 103-109
- Seufert P, Fiedler K (1996) The influence of ants on patterns of colonization and establishment within a set of coexisting lycaenid butterflies in a south-east Asian tropical rain forest. Oecologia 106: 127-136
- Silva NAP, Duarte M, Diniz IR, Morais HC (2011) Host plants of Lycaenidae on inflorescences in the central Brazilian cerrado. J Res Lepidoptera 44: 95-105
- Silva NAP, Duarte M, Araujo EB, Morais HC (in press) Larval biology of anthophagous Eumaeini (Lepidoptera: Lycaenidae, Theclinae) in the Cerrado of central Brazil

- Smallegange R, Van Loon J, Blatt S, Harvey J, Agerbirk N, Dicke M (2007) Flower vs. leaf feeding by *Pieris brassicae*: glucosinolate-rich flower tissues are preferred and sustain higher growth rate. *J Chem Ecol* 33: 1831-1844
- Stadler B, Dixon AF (2005) Ecology and evolution of aphid-ant interactions. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 36: 345-372
- Trager MD, Thom MD, Daniels JC (2013) Ant-Related Oviposition and Larval Performance in a Myrmecophilous Lycaenid. *Int J Ecol* DOI: 10.1155/2013/152139
- Vargas HA, Duarte M (2014) First Host Plant Record for *Thaeides muela* (Lepidoptera, Lycaenidae: Theclinae: Eumaeini). *Fla Entomol* 97: 288-290
- Vilela AA, Torezan-Silingardi HM, Del-Claro K (2014) Conditional outcomes in ant–plant–herbivore interactions influenced by sequential flowering. *Flora* 209: 359-336
- Wagner D, Kurina L (1997) The influence of ants and water availability on oviposition behaviour and survivorship of a facultatively ant-tended herbivore. *Ecol Entomol* 22: 352-360
- Wagner D (1993) Species-specific effects of tending ants on the development of lycaenid butterfly larvae. *Oecologia* 96: 276-281
- Yamamoto M, Del-Claro K (2008) Natural history and foraging behavior of the carpenter ant *Camponotus sericeiventris* Guérin, 1838 (Formicinae, Campotonini) in the Brazilian tropical savanna. *Acta Ethol* 11: 55-65

CAPÍTULO III

O PAPEL DAS FORMIGAS ATENDENTES SOBRE A SELEÇÃO DE PLANTA HOSPEDEIRA E PARASITISMO DE OVO EM DUAS BORBOLETAS MIRMECÓFILAS FACULTATIVAS*

Alexandra Bächtold¹, Estevão Alves-Silva², Lucas A. Kaminski³ & Kleber Del-Claro^{2,4}

1. Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 14040-901, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.
2. Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia 38400-902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.
3. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, C. P. 6109, 13083-970 Campinas São Paulo, Brasil.
4. Autor para correspondência: delclaro@ufu.br

* Artigo publicado na Naturwissenschaften (veja anexo)

O papel das formigas atendentes sobre a seleção de plantas hospedeiras e parasitismo de ovos em duas borboletas mirmecófilas facultativas

Alexandra Bächtold, Estevão Alves-Silva, Lucas A. Kaminski & Kleber Del-Claro

Resumo

Para o comportamento de oviposição em borboletas mirmecófilas é esperado que possam fêmeas selecionem suas plantas baseado na presença de formigas uma vez que tal escolha pode aumentar a sobrevivência de sua prole. Muitas das larvas mirmecófilas podem produzir líquido que servem de alimento às formigas, em troca, as formigas protegem as larvas contra seus inimigos naturais. Entretanto, uma abordagem raramente investigada é se formigas parceiras podem também estender seu comportamento defensivo aos ovos de licenídeos. Aqui nós investigamos se o padrão de oviposição relacionado à formiga de *Allosmaitia strophius* e de *Rekoa marius*. Então nós comparamos o parasitismo de ovos de acordo com a presença de formigas. A oviposição dos licenídeos e o parasitismo de ovos (%) foram comparados experimentalmente entre ramos com e sem formigas. A planta estudada, *Heteropterys byrsonimifolia*, é um arbusto que possui nectários extraflorais e assim visitados por várias espécies de formigas. Foram amostrados 280 ovos, dos quais 39.65% pertencem a *A. strophius* e 60.35% to *R. marius*. Ambas as espécies de licenídeos foram significativamente mais abundantes em ramos com formigas, especialmente em ramos com formigas *Camponotus crassus* e *C. blandus*, duas espécies de formigas conhecidas por atender larvas de licenídeos. O parasitismo de *A.strophius* e de *R. marius* foi 4.5 e 2.4 vezes maior, respectivamente, em ramos tratamento (sem formigas), mas os resultados não foram estatisticamente significativos. Nosso estudo mostra que a seleção de plantas hospedeiras mediadas por formigas em

licenídeos pode ser mais comum do que o esperado, e não apenas restrito à espécies com mirmecofilia obrigatória. Formigas atendentes podem ser consideradas ineficientes quanto à proteção de ovos de licenídeos, porque ao contrário das larvas, as quais secretam líquidos açucarados, ovos não oferecem recurso óbvio às formigas. Formigas podem afugentar os parasitóides das larvas, de acordo com estudos, porém nossos resultados mostram que interações positivas entre licenídeos e formigas são condicionais e podem depender da ontogenia dos imaturos.

Palavras-chave: *Allosmaitia*, Cerrado, *Camponotus*, *Heteropterys*, Lycaenidae, *Rekoa*

Introdução

Formigas são importantes inimigos naturais de larvas de lepidópteros (Scoble 1995; Salazar & Whitman 2001) e muitas espécies tem desenvolvido defesas contra formigas, como escolas, camuflagem, impalatabilidade e se esconder em refúgios (Dyer 1997; Seufert & Fiedler 1996; Bächtold & Alves-Silva 2013). Em alguns casos, as fêmeas adultas podem visualmente detectar a presença de formigas predadoras e assim evitar ovipor onde o risco de predação é maior (Schmitz et al. 2004, Sendoya et al. 2009).

No entanto, para um grupo de borboletas, Lycaenidae, a presença de formigas sobre as plantas hospedeiras é vantajoso (Fraser et al. 2002), visto que as larvas de muitas espécies dessa família são mirmecófilas (Heath & Claassens 2003), sendo atendidas ao invés de atacadas por formigas durante o estágio larval (Fiedler 1991; Pierce et al. 2002). As larvas de licenídeos possuem órgãos altamente especializados nas interações com formigas ao final do seu abdome. Esses órgãos são responsáveis pela liberação de líquido alimentar rico em aminoácidos os quais podem apaziguar a agressividade das formigas

ou atrair operárias em sua proximidade (Malicky 1970; Ballmer & Pratt 1988, 1991; Fiedler et al. 1992; Daniels et al. 2005).

Sabendo que formigas atendentes protegem seus parceiros, organismos trofobiontes (p.e. membracídeos, afídeos e larvas de borboletas) contra inimigos naturais (veja Del-Claro 2004; Stadler & Dixon 2008), é esperado que fêmeas de borboletas mirmecófilas usem formigas como pista para oviposição durante a seleção de plantas hospedeiras (Atsatt 1981b; Thompson & Pellmyr 1991; Seufert & Fiedler 1996). Kaminski et al. (2010) demonstrou que larvas de licenídeo ocorrem predominantemente em plantas onde as formigas estavam presentes, mas outros fatores como a presença de outros mirmecófilos estavam também envolvidos (veja também Rodrigues et al. 2010). De acordo com a literatura mais recente, poucos foram os estudos conduzidos em áreas da região neotropical com o objetivo de determinar se a oviposição por fêmeas de licenídeos é guiada por formigas e a importância da identidade da formiga nesta interação. Por exemplo, *Camponotus* é conhecido por ser uma importante formiga parceira de licenídeos (Monteiro 1991; Fiedler et al. 2001; Kaminski et al. 2010; Kaminski & Rodrigues 2011; Alves-Silva et al. 2013a), mas o papel de outras espécies de formigas ainda é desconhecido (Fiedler 2006).

Uma vez que fêmeas de licenídeos são propensas a escolher plantas baseado na presença de formigas (Wagner & Kurina 1997; Kaminski et al. 2010; Tragger et al. 2013), os fatores responsáveis pela manutenção das formigas sobre a planta são indiretamente importantes para a ocorrência das larvas. Nesse contexto, plantas com nectários extraflorais são promissores para estudos envolvendo interações licenídeos-formigas, mas até agora essa abordagem tem sido muito pouco explorada (Kaminski & Freitas 2010; Alves-Silva et al. 2013), especialmente nos neotrópicos onde plantas com NEFs são comuns.

Mesmo com os avanços para compreender as relações licenídeo-formiga (Cushman 1994; Weeks 2003; Forister et al. 2011, Hojo et al. 2014), duas hipóteses precisam ser melhor esclarecidas. A primeira é se formigas que se alimentam em nectários extraflorais apresentam efeito positivo sobre a oviposição de licenídeos facultativos (Wagner & Kurina 1997). A segunda é ainda mais intrigante e refere-se ao fato se formigas podem também proteger os ovos de licenídeos contra parasitóides (Attsat 1981b; Pierce & Mead 1981; Weeks 2003).

Em associações mirmecófilas, formigas podem as vezes estender seu comportamento defensivo aos ovos de seus parceiros trofobiontes, portanto diminuindo o parasitismo de ovos (veja Atsatt 1981b; Gibernau & Dejean 2001). Entretanto, em sistemas licenídeos-formigas pouco se sabe se a presença de formigas realmente afeta o parasitismo de ovos, até porque a maioria dos estudos tem focado sobre os inimigos naturais das larvas (Pierce & Easteal 1986; Seufert & Fiedler 1999; Weeks 2003; Rodrigues et al. 2010; Kaminski et al. 2010). E até onde sabemos, apenas dois estudos (ambos com species mirmecófilas obrigatórias) tem avaliado o efeito de formigas sobre as taxas de parasitismo de ovos de licenídeos. Atsatt (1981b) encontrou baixo parasitismo de ovos em plantas com formigas enquanto Pierce et al. (1987) não registrou qualquer efeito da presença de formigas sobre o parasitismo de ovos.

No presente estudo nós investigamos experimentalmente (i) o papel da comunidade de formigas (que se alimentam em nectários extraflorais) como pista de oviposição para duas espécies de licenídeos neotropicais; e (ii) o efeito das formigas sobre as taxas de parasitismo de ovos. Os resultados foram comparados entre plantas com formigas e plantas em que as formigas foram excluídas. Para isso, formulamos as seguintes hipóteses: (ia) um efeito positivo da presença de formigas sobre a abundância de licenídeos (i.e. formigas usadas como pista por fêmeas de licenídeos) e (iia) um efeito

negativo das formigas sobre as taxas de parasitismo de ovos. Esse estudo é o primeiro que ajuda a compreender como formigas associadas afetam as taxas de parasitismo de ovos nos neotrópicos, o que pode esclarecer a relativa influência das formigas no mutualismo com essas borboletas.

Material e métodos

Sistema estudado

O trabalho de campo foi realizado em área de cerrado *sensu strictu* localizada na Reserva Ecológica do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia – CCPIU (18°59'S – 48°18'W) em Uberlândia, Minas Gerais, no período de maio a agosto de 2012, o qual correspondeu ao período de floração da planta estudada (veja abaixo). Essa área é caracterizada pela presença de arbustos e árvores variando de 2 a 4 m de altura. O clima apresenta duas estações bem definidas: um verão chuvoso (outubro a abril) o qual concentra mais de 90% da média anual de precipitação; e um inverno seco (maio a setembro) caracterizado pelas temperaturas mais amenas (~22°C) e baixa umidade (<50%) (Laboratório de Climatologia, Universidade Federal de Uberlândia).

A planta estudada, *Heteropterys byrsonimifolia* A. Juss (Malpighiaceae, daqui pra frente *Heteropterys*) é um arbusto com nectários extraflorais que raramente excede 2 m de altura. A fenologia da floração dessa espécie é fortemente sazonal, ocorrendo nos meses de junho e julho. As flores de *Heteropterys* têm três cm de diâmetro, são amarelas e pentâmeras com cinco pétalas livres entre si. Os botões florais são amarelos, possuem três cm de diâmetro e são cercas por oito glândulas de óleo. Na base da folha há um par

de nectários extraflorais (NEFs), os quais são ativos durante a floração. Durante esse período específico, muitas formigas ocupam a planta, especialmente *Camponotus* spp. Assim como outras espécies de Malpighiaceae, as inflorescências de *Heteropterys* são recurso alimentar para muitas espécies de licenídeos, incluindo *Allosmaitia strophius* (Godart, 1824) e *Rekoa marius* (Lucas, 1857) (Monteiro 1991; Kaminski & Freitas 2010; Silva et al. 2011; Bächtold et al. 2013).

As larvas de *A. strophius* e *R. marius* são florívoras, com ampla distribuição geográfica nos neotrópicos, sendo encontradas desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina (Robbins 1991; Kaminski & Freitas 2010). As fêmeas de ambas as espécies põe seus ovos de forma isolada nos botões florais. As larvas de *A. strophius* são especializadas em Malpighiaceae (oligófagas) e possuem órgão nectarífero dorsal não-funcional (DNO – estrutura que libera líquido açucarado), mas pode ser ocasionalmente antenada por *Camponotus* (Kaminski & Freitas 2010; Silva et al. in press). *Rekoa marius* apresenta uma dieta larval mais ampla (polifagia) quando considerada a vegetação do cerrado. Por exemplo, na área de estudo, *R. marius* é encontrada ao longo de todo o ano e tem sido registrada em 21 espécies de plantas (em oito famílias), sendo que duas dessas plantas florescem concomitantemente com *Heteropterys*. As larvas de *R. marius* possuem DNO funcional e são atendidas por várias espécies de formigas (Monteiro 1991, 2000). Em geral, plantas da família Malpighiaceae são importantes hospedeiras tanto para *A. strophius* como para *R. marius* no Brasil (Monteiro 2000; Kaminski & Freitas 2010; Bächtold et al. 2013).

Amostragem e delineamento experimental

A busca por indivíduos de *Heteropterys* ocorreu em uma área de aproximadamente 10 ha dentro da área de estudo. Essa área foi caracterizada pela ausência de grandes

árvores e pela presença de gramíneas e arbustos, não excedendo em 1.5 m de altura. Nesse local, indivíduos de *Heteropterys* receberam luz solar direta e lateralmente ao longo do dia. Arbustos de *Heteropterys* foram marcados na última semana de maio, antecedendo à produção de suas estruturas reprodutivas sendo que foram encontrados, ao todo, 18 indivíduos dentro dessa área. *Heteropterys* não é uma espécie abundante na área de estudo, porém suporta uma fauna abundante de licenídeos, motivo esse que nos levou a estudar essa espécie particular de Malpighiaceae.

Para avaliar os efeitos da presença/ausência de formigas sobre a oviposição dos licenídeos, foram utilizados dois ramos para cada indivíduo de *Heteropterys* (n = 18 plantas) para o delineamento experimental. Foi aplicado uma resina atóxica (Tanglefoot™) na base de cada um dos ramos ‘tratamento’ para impedir o acesso das formigas. De forma a controlar o efeito da resina, Tanglefoot foi aplicada apenas em um dos lados dos ramos ‘controle’, permitindo assim a passagem das formigas sobre toda a planta. Gramíneas, folhas e outros ramos que pudessem servir de acesso às formigas aos ramos ‘tratamento’ foram removidos ou cortados. Quando necessário, a resina foi reaplicada aos ramos para assegurar que as formigas não tivessem acesso nos ramos ‘tratamento’.

Ovos de licenídeos foram amostrados ao início da floração de *Heteropterys*. As plantas foram visitadas três vezes durante o período de floração (8,18 e 25 de junho). A cada visita os ovos e larvas foram removidos das plantas. Concomitantemente à amostragem de licenídeos, as espécies de formigas foram também verificadas para cada indivíduo marcado (em ramos ‘controle’). Em agosto foi observado o término da fenofase de floração das plantas, finalizando assim o estudo no campo visto que as larvas (*A. strophius* e *R. marius*) se alimentam estritamente de botões florais e flores. Considerando que os experimentos foram realizados durante o período de maior abundância das

borboletas na área (A. Bächtold, dados não publicados), as decisões de oviposição foram assumidas ser independentes (i.e., feito por diferentes fêmeas) (conforme Kaminski et al. 2010).

Ovos de licenídeos foram cuidadosamente coletados de ramos ‘tratamento’ e ‘controle’, mantidos individualmente em potes transparentes de plástico e levados a laboratório onde foram criados até o estágio adulto seguindo Bächtold et al. (2013). Ovos parasitados foram facilmente reconhecidos no campo devido à coloração acinzentada, em contraste à coloração branca de ovos saudáveis. Assim, os ovos parasitados foram coletados e mantidos individualmente em potes pequenos (30 mL) até a emergência do parasitóide.

Durante o trabalho de campo e a amostragem de licenídeos, observações foram realizadas em cada planta de modo a examinar o comportamento das formigas sobre os ovos (se as formigas antenavam os ovos). Ao total foram 30h de observações *ad libitum* o que nos permitiu verificar a possibilidade de haver variação sobre a comunidade de formigas durante o período do estudo. Ao finalizar o trabalho de campo (início do mês de julho), as espécies de formigas de cada arbusto foram coletadas e identificadas. Seis espécies pertencentes a quatro subfamílias foram encontradas em *Heteropterys*: *Camponotus blandus* (Smith 1858), *C. crassus* (Mayr, 1862) (Formicinae); *Crematogaster* sp., *Pheidole* sp. (Myrmicinae); *Brachymyrmex* sp. (Formicinae), e *Dorymyrmex* sp. (Dolichoderinae). Houve variação na frequência entre as espécies, sendo que *C. blandus*, *C. crassus* e *Crematogaster* sp. foram registradas em sete, seis e dois arbustos respectivamente; as demais espécies de formigas foram registradas apenas em um arbusto cada. Não houve sobreposição entre as espécies de formigas sobre o mesmo arbusto, tanto é que todas as espécies foram consistentes sobre as plantas ao longo do tempo de estudo.

Análises estatísticas

Os dados quantitativos são apresentados através de média $\pm$ EP (erro padrão médio). A comparação entre a abundância cumulativa de ovos de *A. strophius* e de *R. marius* em *Heteroptery* foi feita através do teste *t* de Student (dados transformados em $\log+1$). Os efeitos da presença de formigas sobre a oviposição (abundância de ovos) para ambos os licenídeos foram avaliados através de modelo linear generalizado misto (ou generalized linear mixed-effects test – GLMM) assumindo distribuição de erro Poisson e log link (um modelo para cada espécie de licenídeo). O efeito da identidade das formigas sobre a taxa de parasitismo (%) foi também examinada através de GLMM com distribuição de erro binomial e log link. A porcentagem de parasitismo de ovos foi calculada pelo número de ovos parasitados dividido pelo número total de ovos. Os GLMMs foram ajustados considerando a presença/ausência de formigas e a identidade de formigas como fatores fixos e as plantas ($n = 18$) o tempo de amostragem (8, 18 e 25 de junho) como efeitos aleatórios. A presença/ausência de formigas e a identidade de formigas (*Camponotus blandus*, *C. crassus* e outras) foram assumidas como variáveis categóricas e a abundância de licenídeos e o parasitismo de ovos como interceptos. Todos os modelos foram feitos no programa R do pacote estatístico v. 3.0.1 (R Development Core Team 2012), utilizando a função ‘glmer’ do pacote ‘lme4’. Valores dos critérios de informação de Akaike (AIC) foram utilizados para escolha do melhor modelo de nossas análises. A comparação entre a abundância de ovos de licenídeos de acordo com cada espécie de formiga foi feita através de teste *G*. Esse teste foi também utilizado para examinar o parasitismo de ovos em plantas com diferentes espécies de formigas.

Resultados

Foram coletados 280 ovos de licenídeos em *Heteropterys*, dos quais 39.65% ($n = 111$ ovos; 6.17 ± 1.01 ovos por planta) pertenceram a *A. strophius* e 60.35% ($n = 169$ ovos; 9.39 ± 2.04 ovos por planta) pertenceram a *R. marius* ($t_{17} = 1.8450$; $P > 0.05$). A abundância de ambas as espécies foi constante sobre o tempo e os modelos (GLMMs) mostraram que ovos foram significativamente mais abundantes em ramos onde as formigas estavam presentes (Fig. 1, Tabela 1). O número de ovos de *A. strophius* em ramos com formigas foi 3.4 vezes maior em comparação aos ramos sem formigas ($n = 86$ e 25, respectivamente). Essa tendência foi observada também em *R. marius*, cujo número de ovos foi 2.3 vezes maior em ramos com a presença de formigas em relação aos ramos onde as formigas foram experimentalmente excluídas ($n = 118$ e 51, respectivamente). O teste revelou que não houve variação temporal no número de ovos de *A. strophius* em plantas com cada espécie de formigas, exceto em plantas ocupadas por *C. blandus* (Tabela 1). Dos 86 ovos de *A. strophius* encontrados em ramos com formigas, a maioria deles estava em plantas ocupadas por *C. blandus* ($G = 31.8805$; $df = 2$; $P < 0.0001$). Para *R. marius*, os ovos foram predominantemente encontrados em ramos com *C. crassus* ($G = 10.9755$; $df = 2$; $P < 0.01$) (Fig. 2).

Figura 1. Abundância (média $\pm$ EP, por planta) of (a) *Allosmaitia strophius* e (b) *Rekoa marius* de acordo com o período de amostragem e a presença e ausência de formigas em *Heteropterys*.

Tabela 1. Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMMs) testando os efeitos da presença/ausência de formigas e identidade das formigas (*Camponotus blandus*, *C. crassus* e ‘outras’) sobre a abundância e parasitismo (%) de *Allosmaitia strophius* e de *Rekoa marius* em *Heteropterys*. ‘Outras’ formigas correspondem a *Crematogaster* sp., *Brachymyrmex* sp. e *Dorymyrmex* sp.

<i>Allosmaitia strophius</i> (oviposição)					<i>Rekoa marius</i> (oviposição)				
Variáveis	Estim.	SE	z	p	Variáveis	Estim.	SE	z	p
Presença	1.236	0.233	5.29	<0.0001	Presença	0.838	0.168	4.97	<0.0001
Identidade					Identidade				
<i>C. blandus</i>	0.275	0.576	0.04	<0.01	<i>C. blandus</i>	0.33	0.587	0.12	<0.05
<i>C. crassus</i>	-0.273	0.38	-0.72	0.472	<i>C. crassus</i>	0.672	0.465	1.44	0.149
Outras	-0.174	0.382	-0.45	0.65	Outras	0.503	0.494	1.02	0.309
<i>Allosmaitia strophius</i> (parasitismo)					<i>Rekoa marius</i> (parasitismo)				
Variáveis	Estim.	SE	z	p	Variáveis	Estim.	SE	z	p
Presença	0.078	0.538	0.15	0.884	Presença	-0.057	0.376	-0.15	0.879
Identidade					Identidade				
<i>C. blandus</i>	0.629	0.638	0.72	0.353	<i>C. blandus</i>	0.452	0.588	0.37	0.593
<i>C. crassus</i>	-0.054	0.577	-0.1	0.925	<i>C. crassus</i>	0.073	0.449	0.16	0.87
Outras	-0.241	0.675	-0.36	0.72	Outras	0.531	0.498	1.07	0.287

Figura 2. Frequência relativa (%) de ovos de licenídeos de acordo com a presença de *Camponotus blandus*, *C. crassus* e ‘outras’ formigas (*Crematogaster* sp., *Brachymyrmex* sp., *Dorymyrmex* sp. e *Pheidole* sp.) em *Heteropterys*. Números dentro dos parênteses correspondem a frequência absoluta de ovos.

Figura 3 (a) Parasitismo de ovos (média $\pm$ EP, %) de *Allosmaitia strophius* e de *Rekoa marius*; em ambas as espécies o parasitismo de ovos foi maior, embora não demonstrado estatisticamente, em plantas com formigas (b) Parasitismo de ovos de licenídeos de acordo com a presença de cada espécie de formiga em *Heteropterys*. Números dentro dos parenteses correspondem a abundância de ovos parasitados.

Dos 111 ovos de *A. strophius* coletados em *Heteropterys*, 63.93% ($n = 71$) deles foram parasitados por microhimenópteros (vespas), enquanto que em *R. marius*, o nível de parasitismo foi de 47.92% ($n = 81$ ovos). Contrariamente as nossas expectativas, ramos com formigas mostraram maior nível de parasitismo de ovos (Fig. 3a). Por exemplo, para *A. strophius* o parasitismo em ovos amostrados em ramos com formigas foi quase 4.5 vezes maior do que em ovos amostrados em ramos onde as formigas foram excluídas; para *R. marius*, ramos onde as formigas estavam presentes tiveram 2.4 vezes mais ovos parasitados do que ramos sem formigas. No entanto, apesar das altas taxas de parasitismo em ramos com formigas, os resultados não foram estatisticamente significativos (Tabela 1) para ambas as espécies de licenídeos.

O parasitismo de ovos (%) foi diferente dependendo da espécie de formiga presente em *Heteropterys*. Ovos de *A. strophius* em ramos com *C. blandus* foram mais parasitados quando comparados a outras espécies de formigas ($G = 21.9217$; $df = 2$; $P < 0.0001$). No caso de *R. marius*, o parasitismo (%) foi concentrado em ramos com *C. crassus* ($G = 38.2610$; $df = 2$; $P < 0.0001$).

Discussão

Corroborando nossa primeira hipótese, a presença de formigas (que se alimentam em nectários extraflorais) teve um efeito positivo sobre a abundância de ovos de licenídeos em *Heteropterys*, indicando que fêmeas de ambas as espécies *A. strophius* e *R. marius* discriminam entre ramos com e sem formigas e põem seus ovos predominantemente em ramos com formigas. A oviposição mediada por formigas é uma característica um tanto comum entre espécies mirmecófilas obrigatórias (Atsatt 1981a; Pierce & Elgar 1985), mas há cada vez mais evidências que mesmo licenídeos

mirmecófilos facultativos usem formigas como pista de oviposição uma vez que as formigas podem também defender as larvas (Kaminski et al. 2010).

Nossos resultados são surpreendentes visto que *A. strophius* apresenta DNO não funcional (estrutura responsável pela liberação do líquido açucarado) (Kaminski & Freitas 2010). Ainda assim, essa espécie de licenídeo tem sido recentemente observada interagindo com formigas do gênero *Camponotus* e *Crematogaster* (Silva et al. in press). Vários outros fatores, além do DNO, podem estar envolvidos nas interações entre formigas e licenídeos, especialmente a identidade da formiga, espécies de plantas e a área geográfica. Por exemplo, Schmidt & Rice (2002) discutem que no passado *O. amaryllis* foi classificada como uma espécie mirmecófila obrigatória, embora os mesmos autores tenham mostrado que essa espécie estabelece associações mirmecófilas facultativas. Além disso, Robbins (1991) discute que esses órgãos, os DNOs, por si, não pode ser um preditor da associação com formigas porque mesmo algumas larvas com DNO funcional não são atendidas por formigas (Robbins & Aiello 1982). Portanto, outros mecanismos estão relacionados em associações mirmecófilas.

Em nosso estudo, 77% dos ovos de *A. strophius* foram ovipostos em plantas com formigas, indicando não haver um padrão de oviposição aleatório. De acordo com a literatura, mais da metade das plantas hospedeiras de *A. strophius* são espécies de Malpighiaceae que possuem nectários extraflorais e essas plantas geralmente são ocupadas por espécies de formigas agressivas (veja Del-Claro et al. 1997; Alves-Silva et al. 2013b; Bächtold et al. 2013). Contudo, como apontado por Kaminski & Freitas (2010), as larvas podem coexistir com formigas sem serem perturbadas ou atacadas. Diferentemente de *A. strophius*, as larvas de *R. marius* são atendidas por várias espécies de formigas incluindo *Camponotus* e ocorrem em várias famílias de plantas (Monteiro 1991; Silva et al. 2011). Para ambas as espécies de licenídeos, conviver com formigas

Camponotus, incluindo as espécies registradas em nosso estudo (*C. blandus* e *C. crassus*) pode conferir vantagens ecológicas. *Camponotus* (i) são formigas que protegem efetivamente as plantas contra herbívoros os quais podem competir com licenídeos por alimento (Del-Claro et al. 1996; Oliveira 1997); (ii) pode estabelecer associação com algumas espécies de licenídeos (Rodrigues et al. 2010; Kaminski et al. 2010) e (iii) estudos até agora tem demonstrado que *Camponotus* é incapaz de produzir injúrias às larvas de licenídeos, mesmo no caso de larvas que não são associadas às formigas (Kaminski & Freitas 2010; Bächtold & Alves-Silva 2013). As outras espécies de formigas encontradas em nosso estudo (*Crematogaster* sp., *Brachymyrmex* sp., *Dorymyrmex* sp. e *Pheidole* sp.) são conhecidas por estabelecer associações com licenídeos (Fiedler 19991, Duarte et al. 2001), porém os dados disponíveis ainda são escassos para permitir maior inferências.

A maioria dos estudos envolvendo borboletas mirmecófilas tem assumido que o atendimento das formigas provê proteção contra os inimigos naturais das lagartas (e. g. Pierce & Mead 1981; Pierce & Esteal 1986; Pierce et al. 1987; Fiedler & Maschwitz 1989; Peterson 1993; Savignano 1994; Seufert & Fiedler 1996; Seufert & Fiedler 1999; Weeks 2003); entretanto, a influência das formigas sobre a proteção de ovos de licenídeos tem sido pobremente explorada em sistemas licenídeos-formigas (except for Atsatt 1981; Pierce et al. 1987). No presente estudo foi demonstrado que formigas não conferem proteção contra os parasitóides de ovos de licenídeos. Na verdade, o nível de parasitismo foi muito maior em ramos onde as formigas estavam presentes, indicando a possível relação entre parasitóides e formigas. Nossos resultados juntamente com os de Pierce e colaboradores (1987) não mostram evidências de que as formigas protegem os ovos de licenídeos contra os parasitóides. Além disso, a taxa de parasitismo em licenídeos mirmecófilos não depende aparentemente do grau da associação com formigas, isso

porque mesmo larvas com mirmecofilia obrigatória pode ter maiores taxas de parasitismo quando comparadas às larvas com mirmecofilia facultativa (DeVries 1991; Fiedler et al. 1992; Seufert & Fiedler 1999).

De acordo com Seufert & Fiedler (1999), os parasitóides pode usar as formigas como pista para localizar seus hospedeiros, especialmente em sistemas licenídeos-formigas onde há espécies mirmecófilas obrigatórias envolvidas. Além das formigas, os parasitóides podem também ser guiados por várias pistas visuais relacionadas às características das flores da planta hospedeira (e.g. Lucchetta et al. 2008). No caso de *Heteropterys*, a coloração esbranquiça dos ovos dos licenídeos e as flores e botões amarelos se destacam na planta, tornando-os muito conspícuos para os parasitóides. Em nosso estudo, nós acreditamos que os parasitóides foram primariamente guiados pelas formigas presentes visto que o parasitismo de ovos foi maior em ramos com formigas.

As altas taxas de parasitismo de ovos encontrados em ramos com formigas faz nos pensar sobre o que motiva essas borboletas a ovipor predominantemente em plantas com formigas. De acordo com Robbins (1991), conviver com formigas parceiras tende a aumentar a sobrevivência das larvas pelo fato que são atendidas e protegidas contra seus inimigos naturais (Weeks 2003). Portanto, visto que ovos (e adultos de licenídeos) não estabelecem associações com formigas, é esperado que formigas não influenciem sobre o desenvolvimento e sobrevivência dos mesmo.

Licenídeos são amplamente conhecidos por suas interações mutualísticas com formigas e muitas espécies tem desenvolvido mecanismos para reconhecer e selecionar formigas parceiras específicas (Fiedler 1991, Pierce et al. 2002). Nesse contexto, nossos resultados (e somados aos de Kaminski et al. 2010) revelaram que a oviposição mediada pela presença de formigas para os licenídeos pode ser mais comum do que se previa e mesmo com licenídos caracterizados pela baixo grau de mirmecofilia, como é o caso de

A. strophius. Além do Além disso, escolher plantas ocupadas por formigas não significa resultar necessariamente em um baixo parasitismo de ovos, como demonstrado aqui. Nosso estudo sugere reconsiderar o que sabemos até aqui sobre as associações licenídeos-formiga pelo fato de que formigas podem ter um papel relativo, temporal e positivamente benéfico às larvas, porém não aos ovos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia onde o estudo foi realizado; à Renata Pacheco e ao Jonas Maravalhas pela identificação das formigas, ao Rafael F. Almeida pela identificação da planta hospedeira; ao Prof. Konrad Fiedler pelas sugestões iniciais; ao Sebastián Sendoya pela inestimável ajuda com as análises estatísticas (GLMM); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes); ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pelo suporte financeiro.

Referências bibliográficas

- Atsatt PR (1981a) Lycaenid butterflies and ants - selection for enemy-free space. *Am Nat* 118:638-654
- Atsatt PR (1981b) Ant-dependent food plant selection by the mistletoe butterfly *Ogyris amaryllis* (Lycaenidae). *Oecologia* 48:60-63

- Bächtold A, Alves-Silva E, Del-Claro K (2013) *Lycaenidae* larvae feeding on *Peixotoa parviflora* (Malpighiaceae) in a semi-deciduous forest in Southeastern Brazil. *J Lepid Soc* 67:65–67.
- Chew FS, Robbins RK (1984) Egg-laying in butterflies. In: Wane-Wright RI, Ackery PR (eds) *The biology of butterflies*. Academic Press, London. p. 65–79.
- Cushman JH, Rashbrook VK, Beattie AJ (1994) Assessing benefits to both participants in a lycaenid-ant association. *Ecology* 75:1031-1041
- Devries PJ (1991) Mutualism between *Thisbe irenea* butterflies and ants, and the role of ant ecology in the evolution of larval-ant associations. *Biol J Linn Soc* 43:179–195
- Dyer LA (1995) Tasty generalists and nasty specialists? Antipredator mechanisms in tropical lepidopteran larvae. *Ecology* 76:1483-1496
- Eastwood R, Fraser AM (1999) Associations between lycaenid butterflies and ants in Australia. *Aust J Ecol* 24:503-537
- Fiedler K, Maschwitz U (1989) The symbiosis between the weaver ant, *Oecophylla smaragdina*, and *Anthene emolus*, an obligate myrmecophilous lycaenid butterfly. *J Nat Hist* 23:833-846
- Fiedler K, Saam C (1995) Ants benefit from attending facultatively myrmecophilous *Lycaenidae* caterpillars: Evidence from a survival study. *Oecologia* 104:316–322
- Fiedler K (1991) Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the *Lycaenidae* (Insecta: Lepidoptera: Papilionoidea). *Bonn Zool Monogr* 31:1-210
- Fiedler K, Seufert P, Pierce NE, Pearson JG, Hans-Thomas Baumgarten H-T (1992) Exploitation of lycaenid-ant mutualisms by braconid parasitoids. *J Res Lepid* 31:153-168

- Forister ML, Gompert Z, Nice CC, Forister GW, Fordyce JA (2011) Ant association facilitates the evolution of diet breadth in a lycaenid butterfly. *Proc R Soc Lond B* 278: 1539-1547
- Hoyo MK, Yamamoto A, Akino T, et al. (2014) Ants use partner specific odors to learn to recognize a mutualistic partner. *PLoS One*. doi:10.1371/journal.pone.0086054
- Kaminski LA, Freitas AVL (2010) Natural history and morphology of immature stages of the butterfly *Allosmaitia strophius* (Godart) (Lepidoptera: Lycaenidae) on flower buds of Malpighiaceae. *Stud Neotrop Fauna Environ* 45:11-19
- Kaminski LA (2008) Immature stages of *Caria plutargus* (Lepidoptera: Riodinidae), with discussion on the behavioral and morphological defensive traits in nonmyrmecophilous riodinid butterflies. *Ann Entomol Soc Am* 101: 906-914.
- Kaminski LA, Freitas AVL, Oliveira PS (2010) Interaction between mutualisms: Ant-tended butterflies exploit enemy-free space provided by ant-treehopper associations. *Am Nat* 176:322-334
- Leimar O, Axén AH (1993) Strategic behaviour in an interspecific mutualism: Interactions between lycaenid larvae and ants. *Anim Behav* 46:1177-1182
- Lucchetta P, Bernstein C, Théry M, Lazzari C, Desouhant E (2008) Foraging and associative learning of visual signals in a parasitic wasp. *Anim Cogn* 11:525-533
- Monteiro RF (1991) Cryptic larval polychromatism in *Rekoa marius* Lucas and *R. palegon* Cramer (Lycaenidae: Theclinae). *J Res Lepid* 29:77-84
- Monteiro RF (2000) Coloração críptica e padrão de uso de plantas hospedeiras em larvas de duas espécies mirmecófilas de *Rekoa* Kaye (Lepidoptera, Lycaenidae). In: Martins RP, Lewinsohn TM and Barbeitos MS (eds) *Ecologia Comportamental de Insetos Serie Oecologia Brasiliensis*. PPGE-UFRJ, Rio de Janeiro, pp. 259-280.

- Pierce NE, Elgar MA (1985) The influence of ants on host plant selection by *Jalmenus evagoras*, a myrmecophilous lycaenid butterfly. *Behav Ecol Sociobiol* 16:209-222
- Pierce NE, Mead PS (1981) Parasitoids as selective agents in the symbiosis between lycaenid butterfly larvae and ants. *Science* 211:1185-1187
- Pierce NE, Braby MF, Heath A, Lohman DJ, Mathew J, Rand DB, Travassos MA (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Annu Rev Entomol* 47:733-771
- Pierce N, Kitching R, Buckley R, Taylor M, Benbow K (1987) The costs and benefits of cooperation between the Australian lycaenid butterfly, *Jalmenus evagoras*, and its attendant ants. *Behav Ecol Sociobiol* 21: 237-248
- Robbins RK (1991) Evolution, comparative morphology, and identification of the Eumaeine butterfly genus *Rekoa* Kaye (Lepidoptera: Theclinae). *Smithsonian Contrib Zool.* 498:1–64
- Salazar BA, Whitman DW (2001) Defensive tactics of caterpillars against predators and parasitoids. In: Ananthakrishnan TN (ed) *Insects and plant defences dynamics*. Science Publishers, Plymouth, 161-207
- Scoble MJ (1995) *The Lepidoptera. Form, function and diversity*. Oxford University Press, Oxford
- Seufert P, Fiedler K (1999) Myrmecophily and parasitoid infestation of South-East Asian lycaenid butterfly larvae. *Ecotropica* 5: 59-64
- Silva NAP, Duarte M, Diniz IR, Morais HC (2011) Host plants of Lycaenidae on inflorescences in the central Brazilian cerrado. *J Res Lepid* 44:95-105
- Silva NAP, Duarte M, Araujo EB, Morais HC (in press) Larval biology of anthophagous Eumaeini (Lepidoptera: Lycaenidae, Theclinae) in the Cerrado of central Brazil

- Stadler B, Dixon AFG (2008) Mutualism: ants and their insect partners. Cambridge University Press, Cambridge
- Stevens M (2005) The role of eyespots as anti-predator mechanisms, principally demonstrated in the Lepidoptera. Biol Rev 80:573-588
- Thompson JN, Pellmyr O (1991) Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. Annu Rev Entomol 36:65-89
- Weeks JA (2003) Parasitism and ant protection alter the survival of the lycaenid *Hemiargus isola*. Ecol Entomol 28:228-232

CAPÍTULO IV

O PADRÃO DE OVIPOSIÇÃO DA BORBOLETA MIRMECÓFILA *LEPTOTES CASSIUS* (LYCAENIDAE) NÃO É BASEADO NA PRESENÇA DE FORMIGAS ATENDENTES

Alexandra Bächtold¹ & Kleber Del-Claro²

1. Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 14040-901, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.
2. Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia 38400-902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

**O padrão de oviposição da borboleta mirmecófila *Leptotes cassius* (Lycaenidae)
não é baseado na presença de formigas atendentes**

Alexandra Bächtold & Kleber Del-Claro

Resumo

Borboletas mirmecófilas da família Lycaenidae são capazes de utilizar formigas como pista para oviposição, porém algumas espécies podem não responder à presença de formigas. As informações sobre as interações entre licenídeos mirmecófilos e formigas são ainda incipientes na região tropical e muito do que se sabe sobre este mutualismo é baseado em dados de regiões temperadas. Neste estudo investigamos se o padrão de oviposição do licenídeo *Leptotes cassius*, uma espécie mirmecófila facultativa, foi influenciado pela presença de formigas *Camponotus* nas plantas hospedeiras. Ambas as espécies de insetos ocorrem em *Bionia coriacea* (Fabaceae), uma planta com nectários extraflorais. As plantas foram separadas em grupo controle e experimental, sendo que neste último as formigas foram excluídas manualmente e o isolamento mantido com a aplicação de resina na base das plantas. As larvas de *L. cassius* foram 30% mais abundantes em plantas com formigas, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. No campo, as larvas foram vistas sendo atendidas por formigas, as quais as antenavam frequentemente nos últimos segmentos abdominais. Este estudo mostra que apesar das larvas de *L. cassius* se associarem mutualisticamente com formigas, não houve uma tendência por parte das fêmeas em ovipor em plantas com formigas. Mesmo para licenídeos mirmecófilos, outros fatores além da presença de formigas podem influenciar a oviposição das fêmeas.

Palavras-chave: Polyommatainae, *Camponotus*, mirmecofilia, nectários extraflorais

Introdução

Larvas da família Lycaenidae (Lepidoptera) se destacam por apresentarem muitas espécies que se associam com formigas (mirmecofilia) (Pierce et al. 2002). As larvas apresentam adaptações morfológicas responsáveis pela atração e manutenção das formigas, como órgãos nectaríferos dorsais (DNO), órgãos tentaculares (TO) e órgãos perfurados em forma de cúpula (PCO) (Malicky 1970, Fiedler 1991). Nesta interação mutualística, as formigas se alimentam das secreções açucaradas produzidas nos DNOs e em troca, protegem as larvas contra inimigos naturais (Pierce et al. 1987, Cushman et al. 1994). Interações entre larvas e formigas têm sido classificadas como facultativas (quando as larvas não dependem das formigas para sobreviverem) ou obrigatórias (quando as larvas sempre são encontradas com formigas específicas e existe uma dependência da associação para a sobrevivência das larvas) (ver Fiedler 1991, Pierce et al. 2002).

Para alguns licenídeos a relação com formigas é tão estreita que as fêmeas adultas usam a formiga como pista durante a seleção da planta hospedeira (Fiedler & Maschwitz 1989), como no caso de borboletas mirmecófilas obrigatórias (Atsatt 1981a, Pierce & Elgar 1985). Contudo, tem sido mostrado que licenídeos facultativos também podem utilizar formigas como pista para oviposição (Wagner & Kurina 1997, Kaminski et al. 2010), porém nem sempre (Schmidt & Rice 2002, Trager et al. 2013). Larvas de espécies facultativas podem ou não serem atendidas por formigas; entretanto a utilização de plantas visitadas por formigas pode ser vantajosa para essas espécies uma vez que formigas podem diminuir o parasitismo das larvas e limitar a ocorrência de outros insetos sobre a planta, propiciando um espaço livre de inimigos naturais (Atsatt 1981b). Nesse

sentido, é esperado que espécies de Lycaenidae com mirmecofilia facultativa também possam selecionar plantas a partir da presença de formigas, embora a falta de estudos principalmente na região tropical (~1200 espécies de Lycaenidae) limite o conhecimento a respeito dos mecanismos envolvidos na seleção de plantas hospedeiras e oviposição dos licenídeos.

Regiões tropicais como o Cerrado, possuem bons modelos de estudos de interações entre licenídeos e formigas, em vista da notável riqueza destes dois grupos (Oliveira Silva & Freitas 2004, Silva et al. 2011). Deve-se notar também a co-ocorrência de ambos nas mesmas plantas hospedeiras, notadamente em plantas com nectários extraflorais (Kaminski & Freitas 2010). *Bionia coriacea* (= *Camptosema coriaceum*) (Nees & Mart.) Benth. (Fabaceae: Faboideae) é um arbusto comum em áreas de cerrado (Kirkbride 1984). Formigas, principalmente do gênero *Camponotus*, são frequentemente vistas forrageando sobre *B. coriacea*, já que esta planta possui NEFs. Os botões florais são fonte de alimento para licenídeos florívoros, dos quais *Leptotes cassius* (Crammer, 1775) é a espécie mais comum. Este sistema é ideal como um modelo para se estudar as interações entre licenídeos e formigas, visto que *L. cassius* é uma espécie mirmecófila facultativa, com poucas informações sobre sua ecologia comportamental e de interações (Downey & Allyn 1979). Neste estudo objetivou-se verificar (i) se as larvas de *L. cassius* estabelecem associações com formigas *Camponotus*, e (ii) se as fêmeas dessa espécie de licenídeo utilizam a presença de formigas como pista de oviposição. Visto que formigas *Camponotus* são comumente parceiras de outras espécies de licenídeos (Fiedler 2006, Alves-Silva et al. 2013), nós estabelecemos a hipótese de que (ia) as larvas de *L. cassius* seriam atendidas, ao invés de atacadas pelas formigas; e (iia) plantas com formigas apresentariam maior número de ovos de *L. cassius* comparado às plantas sem formigas.

Material e Métodos

Área de estudo

Plantas de *B. coriacea*, formigas e licenídeos foram estudadas em uma área de cerrado pertencente à Reserva Ecológica do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia – CCPIU (18°59' S, 48°18' W), Uberlândia, Brasil, cuja vegetação é caracterizada como cerrado *sensu stricto* (Oliveira-Filho & Ratter 2002). O clima da região apresenta estações bem definidas, uma estação quente e úmida (de outubro a março) e outra quente e seca (de abril a setembro) (Réu & Del-Claro 2005).

Bionia coriacea, licenídeos e formigas

Bionia coriacea (anteriormente *Camptosema coriaceum*; Leguminosae: Papilionoideae) é um arbusto de hábito herbáceo que atinge até um metro de altura, comum em vegetação do Cerrado. Na área de estudo, *B. coriacea* se localiza principalmente em bordas ou áreas previamente perturbadas por queimadas ou ações antrópicas. As folhas são tipo trifoliolada; os botões florais (1-1.5 cm de comprimento) são densamente pilosos, piriformes e com ápice agudo; possuem coloração vermelho-escura quando jovens e vermelho-clara quando estão prestes a abrir. As flores (~ 3 cm de comprimento) são vermelhas de tom intenso, tubulares e ocorrem em inflorescências do tipo pseudo-racemo (Queiroz 2008) (Fig. 1A). Os NEFs de *B. coriacea* (Fig. 1A), são responsáveis pela atração e manutenção de formigas como *Camponotus* e *Ectatomma*, que são conhecidas por serem agressivas contra herbívoros (Del-Claro et al. 1996; Oliveira 1997) e por atenderem insetos mirmecófilos (Fagundes et al. 2013, Bächtold & Del-Claro 2013), incluindo larvas de licenídeos (Robbins 1991, Kaminki et al. 2012, Trager et al. 2013). Larvas de *L. cassius* (Lycaenidae, Polyommatainae) são comuns em *B.*

coriacea e se alimentam de botões florais e flores. Na presente área de estudo, a ocorrência entre *L. cassius* e formigas, especialmente *Camponotus*, é frequente (observação pessoal).

Figura 1. Inflorescência de *Bionia coriacea* e localização dos nectários extraflorais indicados pelas setas. (A) Detalhe do néctar produzido por uma das glândulas (indicado pela seta preta) e ovo eclodido de *Leptotes cassius*. (B) ovo de *L. cassius*. (C) *Camponotus blandus* atendendo larva de *L. cassius*. Seta apontada para o tentáculo branco indica o display de um dos órgãos tentaculares eversíveis da larva de *L. cassius*. Escalas: detalhe do nectário extrafloral: 0.5 mm (A); 0.5 mm (B); 5 mm (C).

Padrão de oviposição

Para se estudar se o padrão de oviposição de *L. cassius* foi baseado na presença de formigas, foram selecionados 62 indivíduos de *B. coriacea*, distribuídos em uma área

de aproximadamente 3 ha. O estudo de campo foi conduzido de março a maio de 2014, no período que corresponde à fenologia reprodutiva da planta. No início do estudo, todos os arbustos possuíam fenologia similar, com presença de botões florais e ausência de flores; e todos eram ocupados por formigas do gênero *Camponotus*. Tanto *C. crassus* Mayr, 1862 quanto *C. blandus* (Smith, F., 1858) eram comuns em *B. coriacea*, porém sempre ocorriam em arbustos diferentes. Por se tratar de espécies que apresentam comportamento similar de forrageamento, seja como formiga atendente de larvas mirmecófilas, ou como agressiva a demais herbívoros da plantam (Fiedler 1991, Pereira & Trigo 2013), ambas as espécies foram consideradas como grupo “*Camponotus*”, para facilitar as análises subsequentes.

As plantas ($n = 62$) foram divididas aleatória e igualmente em dois grupos, de acordo com a presença/ausência de formigas. Para se excluir as formigas do grupo “tratamento” ($n = 31$ plantas), foi aplicada na base do caule das plantas uma fina camada de resina atóxica (Tanglefoot), que impede a passagem das formigas para as estruturas da planta (Nahas et al. 2012). As plantas do grupo “controle” receberam resina em apenas uma parte do caule, não impedindo, portanto a passagem das formigas.

O padrão de oviposição dos licenídeos foi avaliado em duas ocasiões (2 e 16 de abril), nas quais ovos e larvas eram removidos das plantas marcadas e levados à laboratório onde eram criados (seguindo Bächtold et al. 2013) até o estágio adulto para posterior identificação. As larvas e ovos foram mantidos individualmente em potes plásticos transparentes (500 mL e 30 mL, respectivamente); botões florais de *B. coriacea* eram fornecidos *ad libitum* e a limpeza dos potes era realizada diariamente. A comparação entre a abundância de imaturos encontrada em plantas ‘tratamento’ e ‘controle’ foi feita com o teste *t* de Student, visto que os dados apresentaram distribuição normal. Nesta comparação foi utilizado o total cumulativo de imaturos registrados nas duas coletas (2 e

16 de abril). A frequência de plantas ‘controle’ e ‘tratamento’ com licenídeos foi comparada através do teste exato de Fisher.

Interações entre *L. cassius* e formigas

O comportamento de *Camponotus* sobre larvas de *L. cassius* foi examinado experimentalmente no campo no dia 28 de março de 2014. Para cada período de observação (10 minutos), uma larva foi colocada em inflorescências de *B. coriacea* ocupadas por *C. crassus* Mayr, 1862 ou *C. blandus* (Smith, F., 1858). No total foram examinadas oito larvas de terceiro ou quarto instar ($n = 4$ larvas por espécie de formiga) oriundas de coletas ocasionais e criadas em laboratório até atingirem esses instares tardios (fase que são atendidas por formigas de acordo com Downey & Allyn 1979). Portanto para cada teste, foi verificado se havia interações estáveis entre a larva e formigas, comportamento este definido como a antenação frequente e ativa da formiga sobre qualquer parte do corpo da larva (Hinton 1951, Rodrigues & Kaminski 2011). Todos os testes foram filmados (Canon Powershot A480, resolução 640 x 480 pixels), e os vídeos analisados várias vezes para avaliar detalhes das interações (Bächtold & Alves-Silva 2013).

Resultados

Ao todo, 80 imaturos (ovos e larvas) de *L. cassius* (1.29 ± 0.18 imaturos por planta) foram amostrados em *B. coriacea* (Fig. 1B e C). Outras quatro espécies de licenídeo também foram encontradas, porém em baixa abundância: *Calycopis calor* (H.H. Druce, 1907) ($n = 7$), *Panthiades hebraeus* (Hewitson, 1867) ($n = 5$), *Strymon mulucha* (Hewitson, 1867) ($n = 2$) e *Tmolus venustus* (H. H. Druce, 1907) ($n = 1$).

O número de imaturos de *L. cassius* foi maior 30% em plantas com formigas, comparado ao registrado em plantas sem formigas (Figura 2), porém, essa diferença não foi estatisticamente significativa ($t = 1.2699$; $gl = 60$; $p = 0.1045$). Do mesmo modo, a frequência de plantas ‘controle’ com imaturos foi 15% maior, porém não estatisticamente significativa (teste exato de Fisher $p = 0.4791$).

Figura 2. Abundância (média $\pm$ EP) de *Leptotes cassius* em arbustos de *Bionia coriacea* com formigas e em arbustos onde as formigas foram experimentalmente excluídas. ($p = 0.10$ de acordo com o teste t de Student).

Observações comportamentais mostraram que todas as larvas de *L. cassius* examinadas ($n = 8$) foram atendidas por *C. blandus* ou *C. crassus* e que ambas as formigas antenaram ativamente as larvas em pequenos intervalos de tempo (5-10 segundos). Duas larvas exibiram comportamento de display dos órgãos tentaculares eversíveis (TOs) quando antenadas por formigas *C. blandus* (Fig. 1C). Não foi observada qualquer secreção produzida pelo órgão nectarífero (DNO)

Entre os imaturos de *L. cassius* coletados no campo, as larvas ($n = 5$, todas de instares iniciais ~2º instar) foram observadas fazendo buracos nos botões florais (um buraco por botão), os quais serviam de entrada para os botões. As larvas permaneciam dentro dos botões florais se alimentando das estruturas reprodutivas de *B. coriacea*. Esse

mesmo comportamento também foi observado nas larvas provenientes dos ovos coletados do campo. Além de se alimentarem de botões florais e flores, algumas larvas (~1º instar) criadas em laboratório comeram parte da glândula do nectário extrafloral, quando ainda havia néctar. Isso acontecia quando o alimento repostado (a inflorescência) era fresco.

Discussão

Em nosso estudo não foram encontradas evidências que suportem que o padrão de oviposição de *L. cassius* é baseado na presença de formigas atendentes, apesar de plantas com formigas apresentarem uma abundância 30% maior de imaturos de licenídeos. A oviposição mediada por formigas além de ser vantajosa para borboletas mirmecófilas obrigatórias (Pierce et al. 1987, Weeks 2003), também tem sido demonstrada em licenídeos mirmecófilos facultativos (Wagner & Kurina 1997, Kaminski et al. 2010), com algumas exceções. Por exemplo, as fêmeas de *Cyclargus thomasi bethunebakeri* (W. Comstock & Huntington, 1943) não utilizam preferencialmente plantas com formigas atendentes mesmo que suas larvas possam ser beneficiadas com a associação (Trager et al. 2013). Além disso, os autores sugerem a importância de se avaliar componentes previsíveis e imprevisíveis do ambiente da formiga que podem afetar a percepção das fêmeas quanto ao potencial local de oviposição. O sistema avaliado no presente estudo mostra que mesmo em plantas hospedeiras que possuem recursos atrativos às formigas (i.e. nectários extraflorais) e que consequentemente aumentam as chances das larvas de *L. cassius* serem encontradas e atendidas por *Camponotus*, a presença de formigas não é relevante para seleção da planta.

Assim como demais licenídeos (Fiedler 1991), as larvas de ínstaes iniciais de *L. cassius* são pequenas o suficiente para fazerem buracos nos botões florais e utilizarem

como refúgios temporários. Esse hábito endofítico pode servir como proteção contra parasitóides para larvas de primeiro e segundo instar, fase ausente de associação com formigas (Downey & Allyn 1979) ou simplesmente é resultado de uma escolha vantajosa em que as larvas encontram alimento de melhor qualidade nas pétalas em formação (p.e. maior conteúdo de nitrogênio e água) (Held & Potter 2004). Em ambas as situações a presença de formigas não possibilita vantagens às larvas mirmecófilas pequenas, pelo contrário, as formigas ainda podem ser usadas como pistas por parasitóides (Pierce et al. 1987, Fiedler et al. 1992).

Características morfológicas dos botões florais tem sido inicialmente sugeridas como pistas visuais para a oviposição de borboletas florívoras (Robbins & Aiello 1982, Chew & Robbins 1984) e mais tarde demonstradas para licenídeos, como *Lycaeides melissa* cujas fêmeas associam a presença de flores sobre as hospedeiras durante a seleção (Forister et al. 2009) e como as fêmeas de *P. polibetes* cujos ovos foram registrados em plantas hospedeiras que apresentam botões florais maiores (Rodrigues et al. 2010).

Nossos resultados e análises de vídeos revelaram que larvas de *L. cassius* são atendidas por *Camponotus*, e o uso dos órgãos tentaculares eversíveis ajuda a manter o atendimento das formigas. Estudos têm sugerido que estes órgãos são capazes de produzir substâncias voláteis que influenciam o comportamento de alerta nas formigas atendentes, mantendo-as próximo às larvas mirmecófilas (DeVries 1988, Fiedler 1991, Axén et al. 1996).

Entre as diferentes formigas observadas como parceiras em associações com larvas de *L. cassius* (*Pheidole anastasioi* Emery, 1896; *Nylanderia bourbonica* (Forel, 1886); *Brachymyrmex heeri* Forel, 1874 e *Crematogaster ashmeadi* Mayr, 1886), a maioria é mencionada como formigas oportunistas quanto à fonte de alimento, podendo prontamente atender afídeos e se alimentar sobre nectários extraflorais quando

disponíveis (Downey & Allyn 1979). Nossos novos registros de formigas associadas à *L. cassius* corroboram esse padrão de formigas atendentes visto que *C. blandus* e *C. crassus* exibem similar comportamento de forrageamento. São formigas comumente conhecidas em associações com larvas de licenídeos, afídeos, membracídeos e forrageam sobre NEFs, inclusive no cerrado (Moreira & Del-Claro 2005, Kaminski et al. 2012, Bächtold & Del-Claro 2013, Lange et al. 2013, Alves-Silva & Del-Claro 2014). Com isso, nosso estudo mostrou que formigas *Camponotus* e licenídeos compartilham a mesma planta utilizando diferentes recursos (nectários extraflorais e botões florais), e são capazes de formar associações mirmecófilas. Entretanto, do ponto de vista do licenídeo, fêmeas de *L. cassius* não usaram a presença dessas formigas como pista de oviposição em inflorescências de *B. coriacea*.

Em vista à notável riqueza de borboletas Lycaenidae nos neotrópicos, as associações mirmecófilas desse grupo, bem como a importância das formigas atendentes ainda são muito pouco conhecidas (Brown 1993, Fiedler 2001). Dessa forma, nosso estudo contribui com informações sobre associações facultativas de licenídeos com espécies de formigas do cerrado, por mostrar que mesmo sendo atendidas por formigas, as fêmeas de *L. cassius* não utilizam formigas como pistas visuais para oviposição.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia onde o estudo foi realizado, ao Pietro K.M. Mendonça pelas informações da planta hospedeira, ao Estevão Alves Silva pelos comentários e sugestões sobre o manuscrito, ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pelo apoio financeiro.

Referências bibliográficas

- Alves-Silva E, Del-Claro K (2010) Thrips in neotropics: what do we know so far? *Trends Entomol* 6:77–88
- Alves-Silva E, Del-Claro K (2014) Fire triggers the activity of extrafloral nectaries, but ants fail to protect the plant against herbivores in a neotropical savanna. *Arthropod-Plant Interactions* 8: 233-240
- Atsatt PR (1981a) Ant-dependent food plant selection by the mistletoe butterfly *Ogyris amaryllis* (Lycaenidae). *Oecologia* 48: 60-63
- Atsatt PR (1981b) Lycaenid butterflies and ants - selection for enemy-free space. *Am Nat* 118:638-654
- Axén AH, Leimar O, Hoffman V (1996) Signalling in a mutualistic interaction. *Anim Behav* 52: 321-333
- Bächtold A, Alves-Silva E (2013). Behavioral strategy of a lycaenid (Lepidoptera) caterpillar against aggressive ants in a Brazilian savanna. *Acta Ethol* 16: 83-90
- Bächtold A, Del-Claro K (2013) Predatory behavior of *Pseudodorus clavatus* (Diptera, Syrphidae) on aphids tended by ants. *Rev Bras Entomol* 57: 437-439
- Brown Jr KS (1993) Selected Neotropical species, pp. 146–149. In New, T. R., ed. *Conservation Biology of Lycaenidae (Butterflies)*. IUCN, Gland, Switzerland
- Cushman JH, Rashbrook VK, Beattie AJ (1994) Assessing benefits to both participants in a lycaenid-ant association. *Ecology*: 1031-1041
- Del-Claro K, Torezan-Silingardi HM (2009) Insect-plant interactions: new pathways to a better comprehension of ecological communities in Neotropical savannas. *Neotrop Entomol* 38: 159-164
- De-Silva DL, Vásques AS, Mallet J (2011) Selection for enemy-free space: eggs placed away from the host plant increase survival of a neotropical ithomiine butterfly. *Ecol Entomol* 36:662-672
- DeVries P (1988) The larval ant-organs of *Thisbe irenea* (Lepidoptera: Riodinidae) and their effects upon attending ants. *Zoo J Linnean Soc* 94: 379-393
- Downey JC, Allyn ACJr (1979) Morphology and biology of the immature stages of *Leptotes cassius theonus* (Lucas) (Lepid.: Lycaenidae) *Bull Allyn Mus* 55:1-27
- Fiedler K (1991) Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the Lycaenidae (Insecta: Lepidoptera:Papilionoidea). *Bonn Zool Monogr* 31: 1-210

- Fiedler K (2001) Ants that associate with Lycaeninae butterfly larvae: diversity, ecology and biogeography. *Diversity and distributions* 7: 45-60
- Fiedler K, Maschwitz U (1989) The symbiosis between the weaver ant, *Oecophylla smaragdina*, and *Anthene emolus*, an obligate myrmecophilous lycaenid butterfly. *J Nat Hist* 23: 833-846
- Fiedler K, Seufert P, Pierce NE, Pearson JG, Baumgarten H-T (1992) Exploitation of lycaenid-ant mutualisms by braconid parasitoids. *J Res Lepid* 31: 153-168
- Freitas AVL, Oliveira PS (1992) Biology and behavior of the neotropical butterfly *Eunica bechina* (Nymphalidae) with special reference to larval defence against ant predation. *J Res Lepidoptera* 31: 1-11
- Gentry GL, Dyer LA (2002) On the conditional, nature of neotropical caterpillar defenses against their natural enemies. *Ecology* 83: 3108-3119
- Gross P (1993) Insect behavioral and morphological defenses against parasitoids. *Annu Rev Entomol* 38: 251-273
- Held DW, Potter DA (2004) Floral affinity and benefits of dietary mixing with flowers for a polyphagous scarab, *Popillia japonica* Newman. *Oecologia* 140: 312–320
- Hinton HE (1951) Myrmecophilous Lycaenidae and other Lepidoptera - a summary. *P T S Lond Entomol Nat Hist* 1949–1950: 111–175
- Jones MT, Castellanos I, Weiss MR (2002) Do leaf shelters always protect caterpillars from invertebrate predators? *Ecol Entomol* 27: 753-757
- Kaminski LA, Freitas AVL, Oliveira PS (2010) Interaction between mutualisms: ant-tended butterflies exploit enemy-free space provided by ant-treehopper associations. *Am Nat* 176: 322-334
- Kaminski LA, Sendoya SF, Freitas AV, Oliveira PS (2009) Ecologia comportamental na interface formiga-planta-herbívoro: interações entre formigas e lepidópteros. *Oecologia Brasiliensis* 13: 27-44
- Kaminski LA, Rodrigues D, Freitas AV (2012) Immature stages of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae): host plants, tending ants, natural enemies and morphology. *J N Hist* 46: 645-667
- Kirkbride JH, Jr. (1984) Leguminosas do cerrado. *Pesquisa agropecuária brasileira* 19: 23-46
- Koptur S (1992) Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. Pp 81-129. In: E. Bernays (ed.), *Insect-Plant Interactions*. CRC Press, Boca Raton.

- Lange D, Dattilo W, Del-Claro K (2013) Influence of extrafloral nectary phenology on ant–plant mutualistic networks in a neotropical savanna. *Ecological Entomology* 38: 463-469
- Malicky H (1970) New aspects of the association between lycaenid larvae (Lycaenidae) and ants (Formicidae, Hymenoptera). *J Lepid Soc* 24: 190-202
- Moreira VS, Del-Claro K (2005) The outcomes of an ant-treehopper association on *Solanum lycocarpum* St. Hill: increased membracid fecundity and reduced damage by chewing herbivores. *Neotropical Entomology* 34: 881-887
- Oliveira PS, Freitas AVL, Del-Claro K (2002) Ant foraging on plant foliage: contrasting effects on the behavioral ecology of insects herbivores. Pp 287-305. In: Oliveira PS, Marquis RJ (eds.), *The cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*. Columbia University Press, New York
- Oliveira PS, Freitas AV (2004) Ant–plant–herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. *Naturwissenschaften* 91: 557-570
- Oliveira PS, Leitão-Filho HF (1987) Extrafloral nectaries: their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of Cerrado vegetation in Southeast Brazil. *Biotropica* 19: 140-148
- Oliveira-Filho AT, Ratter JA (2002) Vegetation physiognomies and wood flora of the cerrado biome. Pp 91–120. In: Oliveira PS, Marquis RJ (eds.), *The cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*. Columbia University Press, New York.
- Pereira MF, Trigo JR (2013) Ants have a negative rather than a positive effect on extrafloral nectaried *Crotalaria pallida* performance. *Acta Oecologica* 51:49-53
- Pierce NE, Elgar MA (1985) The influence of ants on host plant selection by *Jalmenus evagoras*, a myrmecophilous lycaenid butterfly. *Behav Ecol Sociobiol* 16: 209-222
- Pierce N, Kitching R, Buckley R, Taylor M, Benbow K (1987) The costs and benefits of cooperation between the Australian lycaenid butterfly, *Jalmenus evagoras*, and its attendant ants. *Behav Ecol Sociob* 21: 237-248
- Pierce NE, Braby MF, Heath A, Lohman, DJ, Mathew J, Rand DB, Travassos MA (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Annu Rev Entomol* 47: 733-771
- Queiroz LP (2008) Re-establishment, synopsis and new combinations in the genus *Bionia* Mart. Ex Benth.(Leguminosae: Papilionoideae). *Neodiversity* 3: 13-18

- R Development Core Team (2012) R: A language and environment for Statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, <http://www.R-project.org/>
- Réu WF, Del-Claro K (2005) Natural history and biology of *Chlamisus minax* Lacordaire (Chrysomelidae: Chlamisinae). *Neotrop Entomol* 34: 357-362
- Rico-Gray V, Oliveira PS (2007) The ecology and evolution of ant-plant interactions. University of Chicago Press, Chicago.
- Robbins RK, Aiello A (1982) Foodplant and oviposition records for Panamanian Lycaenidae and Ridonidae. *J Lepid Soc* 36: 65-75
- Rodrigues D, Kaminski LA, Freitas AVL, Oliveira PS (2010) Trade-offs underlying polyphagy in a facultative ant-tended florivorous butterfly: the role of host plant quality and enemy-free space. *Oecologia* 163: 719-728
- Salazar B, Whitman D (2001) Defensive tactics of caterpillars against predators and parasitoids. *Insect and plant defense dynamics*. Science Publisher, Enfield, UK: 161-207
- Scoble MJ (1995) The Lepidoptera. Form, function and diversity. Oxford University Press
- Thompson JN, Pellmyr O (1991) Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annu Rev Entomol* 36: 65-89
- Trager MD, Thom MD, Daniels JC (2013) Ant-Related Oviposition and Larval Performance in a Myrmecophilous Lycaenid. *International Journal of Ecology* DOI: 10.1155/2013/152139
- Wagner D, Kurina L (1997) The influence of ants and water availability on oviposition behaviour and survivorship of a facultatively ant-tended herbivore. *Ecol Entomol* 22: 352-360
- Weeks JA (2003) Parasitism and ant protection alter the survival of the lycaenid *Hemiargus isola*. *Ecol Entomol* 28: 228-232

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral, os resultados obtidos pela presente tese revelam importantes atributos ecológicos de uma comunidade de licenídeos florívoros no cerrado, informações que são enriquecedoras para a fauna neotropical de Lycaenidae em vista ao seu limitado conhecimento e que constitui um estudo pioneiro no nível das comunidades para esse grupo taxonômico.

Nossos resultados mostraram uma comunidade de licenídeos composta por 31 espécies registradas em 41 espécies de plantas (17 famílias), cuja ocorrência apresentou sazonalidade marcante, com maior ocorrência de imaturos na estação seca. Nesse primeiro capítulo, nós mostramos o quão importante é conhecer as plantas hospedeiras para esse grupo de borboletas visto que tais informações nos deram subsídios para compreender questões ecológicas como a relação entre a distribuição geográfica das borboletas e sua amplitude de dieta larval. Enquanto no segundo capítulo, nossos resultados mostraram que a comunidade de licenídeos variou de acordo com a disponibilidade temporal de seus recursos (floração das plantas) e tendeu a utilizar plantas que produzem menor quantidade de botões. Adicionalmente, o presente estudo mostrou como a presença dos NEFs influencia a ocorrência de licenídeos florívoros no cerrado inferindo assim sobre a manutenção de associações mirmecófilas entre formigas e licenídeos neotropicais.

Ademais, nosso estudo mostrou que mesmo sendo comum a presença de formigas sobre plantas com nectários extraflorais, como é o caso de *Heteropterys byrsonimifolia* e *Bionia coriacea*, formigas podem ou não representar pistas durante a seleção da planta hospedeira. No primeiro caso, plantas com formigas foram mais selecionadas por duas espécies de Lycaenidae, em contrapartida, a presença de formiga produziu um efeito negativo sobre a sobrevivência dos ovos, levando a um aumento na taxa de parasitismo

para ambas as borboletas. No segundo caso, a presença de formigas foi indiferente para o padrão de oviposição de *Leptotes cassius*, um licenídeo cuja mirmecofilia facultativa foi confirmada em campo. Portanto, o papel de diferentes fatores sobre a seleção de plantas hospedeiras pode inferir diferentes resultados. Enquanto para alguns licenídeos a presença de formigas pode ser mais importante, para outros, a qualidade do alimento (química nutricional) ou mesmo a produção de voláteis (das plantas, das formigas ou mesmo do ovo) utilizada como pistas por parasitóides podem influenciar o comportamento de oviposição das borboletas. Avaliar essa diversidade de fatores ainda é um desafio tratando-se de licenídeos neotropicais, por outro lado é um estímulo visto que tais respostas ajudarão a ter uma melhor visão de quais atributos ecológicos interferem na ocorrência e na distribuição dessas borboletas, ainda mais em ambientes conhecido pela notável biodiversidade ecológica como o cerrado.

The role of tending ants in host plant selection and egg parasitism of two facultative myrmecophilous butterflies

Alexandra Bächtold · Estevão Alves-Silva ·
Lucas A. Kaminski · Kleber Del-Claro

Received: 18 August 2014 / Accepted: 27 August 2014
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract Ovipositing adult females of myrmecophilous lycaenids are expected to select plants based on ant presence in order to maximize the survivorship of immature stages. Usually, larvae feed ants with honey-like solutions and, in turn, ants ward off parasitoids. Nonetheless, a rarely investigated approach is whether ant partners can also extend their protective behavior towards lycaenids eggs. Here, we investigated the ant-related oviposition pattern of *Allosmaitia strophius* and *Rekoa marius*; then, we compared egg parasitism according to the presence of ants. Lycaenid oviposition and egg parasitism (in percent) were experimentally compared in ant-present and ant-excluded treatments. The study plant, *Heteropterys byrsonimifolia*, is an extrafloral nectaried shrub which supports several ant species. We sampled 280 eggs, of which 39.65 % belonged to *A. strophius* and 60.35 % to *R. marius*. Both lycaenids eggs were significantly more abundant on branches with ants, especially those with *Camponotus crassus* and *Camponotus blandus*, two ant species known to attend to lycaenids. *A. strophius* and *R. marius* parasitism was 4.5- and 2.4-fold higher, respectively, in ant-present treatments, but the results were not statistically significant. Our study shows that ant-mediated host plant selection in

lycaenids might be much more widespread than previously thought, and not restricted to obligate myrmecophilous species. Tending ants may be inefficient bodyguards of lycaenid eggs, because unlike larvae which release sugared liquids, eggs do not offer obvious rewards to ants. Ants can ward off parasitoids of larvae, as observed elsewhere, but our findings show that positive ant-lycaenid interactions are conditional and depend on immature ontogeny.

Keywords *Allosmaitia* · Cerrado · *Camponotus* · *Heteropterys* · Lycaenidae · *Rekoa*

Abbreviations

EFNs Extrafloral nectaries
DNO Dorsal nectary organ

Introduction

Ants are important natural enemies of lepidopteran larvae (Scoble 1995; Salazar and Whitman 2001), and many species present defenses against ants, such as spines, camouflage, unpalatability and hiding in refuges (Dyer 1997; Seufert and Fiedler 1996; Bächtold and Alves-Silva 2013). In some species, adult females can visually detect the presence of predatory ants and avoid oviposition where the risk of predation is higher (Sendoya et al. 2009). Nonetheless, for a group of butterflies, the Lycaenidae, the presence of ants on host plants is advantageous (Fraser et al. 2002), since the larvae of many species in this family are myrmecophilous (Heath and Claassens 2003), and are tended, rather than attacked by ants during the larval stage (Fiedler 1991; Pierce et al. 2002). Lycaenid larvae possess exocrine specialized ant-organs in the end of the abdomen, responsible for the release of sugared food liquids and chemicals that may either appease ant

Communicated by: Sven Thatje

A. Bächtold
Universidade de São Paulo, Avenida Bandeirantes no. 3900, CEP
14040901 Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil
e-mail: alexandra.bachtold@gmail.com

E. Alves-Silva · K. Del-Claro (✉)
Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Rua
Ceará, s/n. Bloco 2D-Campus Umuarama, CEP
38400902 Uberlândia, Minas Gerais, Brazil
e-mail: delclaro@ufu.br

L. A. Kaminski
Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, CEP
13083-970 Campinas, São Paulo, Brazil

aggressiveness or attract workers to the vicinity (Malicky 1970; Ballmer and Pratt 1988, 1991; Fiedler et al. 1992; Daniels et al. 2005).

Since tending ants protect their myrmecophilous counterparts (e.g., membracids, aphids, butterfly larvae) against natural enemies (see Del-Claro 2004; Stadler and Dixon 2008), it is expected that females of myrmecophiles use ants as a cue for oviposition during the selection of a host plant (Atsatt 1981; Thompson and Pellmyr 1991; Seufert and Fiedler 1996). Kaminski et al. (2010) demonstrated that lycaenid larvae occurred predominately on plants where ants were present, but other factors, such as the presence of other myrmecophiles, were also involved (see also Rodrigues et al. 2010). To the best of our knowledge, to date, few studies have been conducted in Neotropical areas aiming to determine whether lycaenid female oviposition is guided by ants and the importance of ant identity in this interaction. For instance, it is known that *Camponotus* is an important ant partner of lycaenids (Monteiro 1991; Fiedler 2001, 2006; Kaminski et al. 2010; Kaminski and Rodrigues 2011; Alves-Silva et al. 2013a), but the role of other ants as lycaenid partners is still scarcely unknown. Since adult lycaenid females are expected to choose plants based on the presence of ants (Wagner and Kurina 1997; Kaminski et al. 2010; Trager et al. 2013), the factors responsible for ant persistence on plants are indirectly important for the occurrence of caterpillars. In this context, extrafloral nectaried plants are promising for the study of lycaenid–ant interactions, but so far, this approach has been poorly explored (Kaminski and Freitas 2010; Alves-Silva et al. 2013a), especially in the neotropics where extrafloral nectary-bearing plants are common.

Even with advances in the understanding of lycaenid–ant relationships (Cushman et al. 1994; Weeks 2003; Forister et al. 2011; Hojo et al. 2014), two hypotheses still need further clarification. The first is whether extrafloral nectary-feeding ants have a positive effect on facultative lycaenid oviposition (Wagner and Kurina 1997); the second is yet more intriguing and refers to whether ants can also protect lycaenid eggs against parasitoids (Atsatt 1981; Pierce and Mead 1981; Weeks 2003). In ant–myrmecophilous associations, ants may sometimes extend their protective behavior to eggs of their trophobiont partners, thus decreasing egg parasitism (see Atsatt 1981; Gibernau and Dejean 2001). However, in lycaenid–ant systems, little information is available on whether the presence of ants really affects egg parasitism, as most studies have focused on the natural enemies of larvae (Pierce and Easteal 1986; Seufert and Fiedler 1999; Weeks 2003; Rodrigues et al. 2010; Kaminski et al. 2010). To the best of our knowledge, only two studies (both with obligate myrmecophilous species) have so far evaluated the effect of ants on the parasitism rates of lycaenid eggs. Atsatt (1981) found low egg parasitism on ant-present plants, while Pierce et al. (1987) found no effect of ants on egg parasitism.

In the present study, we experimentally investigated (1) the role of a community of (extrafloral nectary feeding) ants as oviposition cues for two Neotropical lycaenid species; and (2) the effect of ants on the parasitism rates of eggs. Results were compared between ant-present and ant-excluded treatments. It was hypothesized (1) that there would be a positive effect of ant presence on the abundance of lycaenid eggs (i.e. ants as a cue to female oviposition) and (2) a negative effect of ants on egg parasitism rates. This study is a first step towards the understanding of how ant associates affect the egg parasitism of lycaenids in the Neotropics, which can shed a light on the relative influence of ants in the mutualism with these butterflies.

Materials and methods

Study system

Fieldwork was conducted in a cerrado sensu stricto area (18°59'S, 48°18'W; 240 ha; 890 m a.s.l.) in Uberlândia city, southeastern Brazil, from May to August 2012, which corresponded to the flowering period of the study plant (see below). This area is characterized by the presence of shrubs and trees ranging between 2 and 4 m tall. The climate has two well-defined seasons: a rainy summer (October to April), which concentrates more than 90 % of the annual mean rainfall and a dry winter (May to September) characterized by cool temperatures (~22 °C) and low humidity (<50 %) (Laboratory of Climatology, Federal University of Uberlândia).

The study plant, *Heteropterys byrsonimifolia* A. Juss (Malpighiaceae, hereafter *Heteropterys*) is an extrafloral nectaried shrub rarely exceeding 2 m in height. Its flowering phenology is markedly seasonal and occurs in June and July. *Heteropterys* flowers are 3 cm in diameter, yellow and pentamerous with five free petals. Flower buds are yellow, 3 mm in diameter and are surrounded by eight oil glands. A pair of extrafloral nectaries (EFNs) occurs at the leaf base and these are active only during flowering. During this specific period, many patrolling ants visit the plant, especially *Camponotus* spp. Similar to other Malpighiaceae species (Monteiro 1991; Kaminski and Freitas 2010; Silva et al. 2011; Bächtold et al. 2013), *Heteropterys* inflorescences are a food source for several lycaenid species, including *Allosmaitia strophius* (Godart, 1824) and *Rekoa marius* (Lucas, 1857).

Larvae of *A. strophius* and *R. marius* are florivorous, with a wide geographical distribution in the Neotropics, and are found from the southern USA to Argentina (Robbins 1991; Kaminski and Freitas 2010). Females of both species lay eggs singly on flower buds. Larvae of *A. strophius* are specialized in the Malpighiaceae (oligophagous) and have a non-functional dorsal nectary organ (DNO—a structure that

releases sugared liquids), but can be occasionally antennated by *Camponotus* (Kaminski and Freitas 2010; Silva et al. 2014). *R. marius* feeds on several host plants (polyphagous) in the cerrado vegetation. For instance, in the study area, *R. marius* is found all year round and has been recorded on 21 plant species (in eight families), two of which bloom concomitantly with *Heteropterys* (unpublished data). *R. marius* larvae have a functional DNO and are tended by several ant species (Monteiro 1991).

Sampling and experimental design

The search for *Heteropterys* individuals took place in a ~10-ha area within the study site. This area was characterized by the absence of large and tall trees and the presence of grasses and shrubs not exceeding 1.5 m in height. At this site, *Heteropterys* individuals receive direct and lateral sunlight all day long. *Heteropterys* shrubs were tagged in late May, prior to the production of reproductive structures, and we found 18 individuals within the area. *Heteropterys* is not abundant at the study site, but it supports an abundant lycaenid fauna, which is why we chose to conduct this study with this particular Malpighiaceae species.

To study the effects of ant presence/absence on the oviposition of lycaenids, we chose two branches from each individual plant ($n=18$ plants) for the experimental design. The base of the *treatment* branches was banded with a layer of atoxic sticky resin (Tanglefoot™) to prevent the access of ants. To control for the effect of resin, Tanglefoot was also applied to one side of the *control* branches, allowing the free access of ants to the plant parts. Grasses, leaves, and other branches immediately surrounding the *treatment* branches were removed or clipped back, as these could be used by ants as bridges to climb onto ant-excluded treatments. Whenever necessary, resin was reapplied to branches to ensure that no ant could cross it and interfere with the experiment.

We sampled lycaenid eggs as soon as *Heteropterys* started to bloom. Plants were visited three times within their flowering period (June 8, 18, and 25); at each visit, the eggs and larvae were removed from the plants. Concomitantly to lycaenid sampling, the ant species were also checked on each individual plant (on control branches). In August, plants ceased the production of reproductive structures and the fieldwork was ended, as lycaenid larvae (*A. strophius* and *R. marius*) strictly feed on flowers and buds. Because experiments were performed during the period of highest butterfly abundance at the area (A. Bächtold, unpublished data), oviposition decisions were assumed to be independent (i.e., made by different females) (following Kaminski et al. 2010).

Lycaenid eggs were carefully collected from the *treatment* and *control* branches, kept individually in transparent covered plastic pots and taken to the laboratory, where they were reared to the adult stage following Bächtold et al. (2013).

Parasitized eggs were easily recognized in the field, due to their gray/darkish color, in contrast to the whitish color of healthy eggs. Parasitized eggs were also collected and placed individually in small pots (30 mL) until parasitoid emergence.

During the fieldwork and lycaenid egg sampling, we carefully observed the plants in order to investigate whether ants antennated the eggs. These observations roughly accounted for 30 h ad libitum and also permitted us to check for possible changes in the ant community during the study period. After the fieldwork was performed (early July), the ant species from each shrub were collected and identified. Six ant species in four subfamilies were found in *Heteropterys*: *Camponotus blandus* (Smith 1858), *Camponotus crassus* (Mayr, 1862) (Formicinae); *Crematogaster* sp., *Pheidole* sp. (Myrmicinae); *Brachymyrmex* sp. (Formicinae); and *Dorymyrmex* sp. (Dolichoderinae). Their frequencies were different in that *C. blandus*, *C. crassus*, and *Crematogaster* sp. were found on seven, six, and two shrubs, respectively; the other ant species were found on one shrub each ($n=18$ plants). There was no overlap between ant species in a same individual plant, that is, all these ant species were consistent on individual plants over time.

Statistical analyses

Quantitative data are presented as mean $\pm$ standard error of the mean (SE). The comparison between the cumulative abundance of *A. strophius* and *R. marius* was performed with a Student's *t* test ($\log+1$ transformed data). We tested the effects of ant presence on the oviposition (egg abundance) of both lycaenids with a generalized linear mixed-effects test (GLMM), assuming a Poisson error distribution and log link (one model for each lycaenid species). The effect of ant identity on egg parasitism (in percent) was examined with a GLMM test with binomial error distribution and log link. The percentage of egg parasitism was calculated as the number of parasitized egg divided by the total number of eggs. GLMMs were fitted to account for ant presence/absence and identity as fixed effects and plants ($n=18$) and time of sampling (June 8, 18, and 25) as random effects. Ant presence/absence and ant identity (*C. blandus*, *C. crassus* and others) were assigned as categorical variables and lycaenid abundance and egg parasitism were employed as intercepts. All tests were performed in the R statistical package v. 3.0.1, using the “glmer” function of the “lme4” package. The Akaike information criterion (AIC) was investigated to fit the best model in our GLMM analyses. The comparison between the abundance of lycaenid eggs according to each ant species was performed with a *G* test. This test was also used to examine egg parasitism in plants with different ant species.

Fig. 1 Abundance (mean±SE, per plant) of **a** *A. strophius* and **b** *R. marius* according to the time of sampling and the presence or absence of ants in *Heteropterys*

Results

We found 280 lycaenid eggs on *Heteropterys*, of which 39.65 % ($n=111$ eggs; 6.17 ± 1.01 eggs per plant) belonged to *A. strophius* and 60.35 % ($n=169$ eggs; 9.39 ± 2.04 eggs per plant) belonged to *R. marius* ($t_{17}=1.8450$; $P>0.05$). The abundance of both lycaenid species was constant over time and the GLMMs showed that eggs were significantly more abundant on branches where ants were present (Fig. 1, Table 1). The number of *A. strophius* eggs in ant-present branches was 3.4 times higher in comparison to branches without ants (4.78 ± 0.90 , $n=86$ and 1.39 ± 0.45 , $n=25$, respectively). This trend was also noticed in *R. marius*, as eggs were 2.3 times more abundant on branches with the presence of ants, relative to branches where ants were experimentally excluded (6.56 ± 1.54 , $n=118$ and 2.83 ± 0.74 , $n=51$, respectively). The GLMM test revealed no significant temporal changes in the number of eggs in plants with each ant species expect for *A. strophius* in plants bearing *C. blandus* (Table 1). Of the 86 eggs of *A. strophius* found on ant-present branches, most of them were on plants bearing *C. blandus* ($G=31.8805$; $df=2$; $P<0.0001$). For *R. marius*, eggs were found predominately on branches with *C. crassus* ($G=10.9755$; $df=2$; $P<0.01$) (Fig. 2).

Of the 111 eggs of *A. strophius* collected from *Heteropterys*, 63.93 % ($n=71$) of them were parasitized by microhimenopteran wasps, whereas in *R. marius*, the level of parasitism was 47.92 % ($n=81$ eggs). Contrary to our expectations, branches with ants showed higher levels of egg parasitism (Fig. 3a). For instance, *A. strophius* parasitism in branches with ants was nearly 4.5-fold higher than in the ant-excluded treatments; for *R. marius*, ant-present branches had 2.4-fold more parasitized eggs than ant-excluded branches. Nonetheless, despite the higher parasitism rate in branches with ants, the results (GLMM test) were not statistically significant (Table 1) for any lycaenid species.

Egg parasitism (in percent) was different depending on the ant species present on *Heteropterys*. *A. strophius* eggs on branches with *C. blandus* were more parasitized when compared to the other ant species ($G=21.9217$; $df=2$; $P<0.0001$). For *R. marius*, parasitism (in percent) was concentrated on branches with *C. crassus* instead ($G=38.2610$; $df=2$; $P<0.0001$).

Discussion

Corroborating our first hypothesis, the presence of (extrafloral nectar drinking) ants had a positive effect on the abundance of

Table 1 General linear mixed model test on the effects of ant presence/absence and identity (*C. blandus*, *C. crassus*, and “others”) on the abundance and parasitism (in percent) of *A. strophius* and *R. marius* in

Variables	Estimate	SE	z	p	Variables	Estimate	SE	z	p
<i>Allosmaitia strophius</i> (oviposition)					<i>Rekoa marius</i> (oviposition)				
Ant presence	1.236	0.233	5.29	<0.0001	Ant presence	0.838	0.168	4.97	<0.0001
Ant species					Ant species				
<i>C. blandus</i>	0.275	0.576	0.04	<0.01	<i>C. blandus</i>	0.330	0.587	0.12	<0.05
<i>C. crassus</i>	-0.273	0.380	-0.72	0.472	<i>C. crassus</i>	0.672	0.465	1.44	0.149
Others	-0.174	0.382	-0.45	0.650	Others	0.503	0.494	1.02	0.309
<i>Allosmaitia strophius</i> (egg parasitism)					<i>Rekoa marius</i> (egg parasitism)				
Ant presence	0.078	0.538	0.15	0.884	Ant presence	-0.057	0.376	-0.15	0.879
Ant species					Ant species				
<i>C. blandus</i>	0.629	0.638	0.72	0.353	<i>C. blandus</i>	0.452	0.588	0.37	0.593
<i>C. crassus</i>	-0.054	0.577	-0.10	0.925	<i>C. crassus</i>	0.073	0.449	0.16	0.870
Others	-0.241	0.675	-0.36	0.720	Others	0.531	0.498	1.07	0.287

Fig. 2 Relative frequency (in percent) of lycaenid eggs according to *C. blandus*, *C. crassus*, and “other” ants (*Crematogaster* sp., *Brachymyrmex* sp., *Dorymyrmex* sp., and *Pheidole* sp.) in *Heteropterys*. Numbers inside the parentheses correspond to the absolute frequency of eggs

lycaenid eggs in *Heteropterys*, indicating that females of both *A. strophius* and *R. marius* discriminate between ant-present and ant-excluded treatments and lay eggs predominately on the former. Ant-mediated oviposition is a pervasive characteristic of obligate myrmecophilous species (Atsatt 1981; Pierce and Elgar 1985), but there is growing evidence showing that even facultative myrmecophilous lycaenids use ants as oviposition cues, as these latter can also act as bodyguards of larvae (Kaminski et al. 2010).

Our results are surprising given that *A. strophius* DNOs (structures responsible for the release of sugared substances) are non-functional (Kaminski and Freitas 2010). Nevertheless, this lycaenid species has recently been observed interacting with ants in the genera *Camponotus* and *Crematogaster* (Silva et al. 2014). Several factors other than DNOs may be involved in the interactions between ants and lycaenids, owing especially to ant identity, plant species and geographic area. For instance, Schmidt and Rice (2002) showed that, in the past, *Ogyris amaryllis* was considered an obligate myrmecophilous species, but their work confirmed this species as facultative myrmecophilous. In addition, Robbins (1991) showed that the DNO itself is not a predictor of ant association because even some larvae with functional DNOs are not

attended by ants (Robbins and Aiello 1982). Therefore, other mechanisms are involved in ant relationships.

In our study, 77 % of *A. strophius* eggs were laid on plants with ants, indicating no random oviposition pattern. According to the literature, over half of the hosts of *A. strophius* are extrafloral nectaried Malpighiaceae, and these plants usually bear aggressive ant species (see Del-Claro et al. 1997; Alves-Silva et al. 2013b; Bächtold et al. 2013). Nonetheless, as shown by Kaminski and Freitas (2010), larvae can co-exist with patrolling ants without being harassed or attacked. In contrast to *A. strophius*, the larvae of *R. marius* are tended by several ant species, including *Camponotus*; this occurs on several plant families (Monteiro 1991; Silva et al. 2011). For both species of lycaenids recorded in our study (*A. strophius* and *R. marius*), living with *Camponotus* ants may confer ecological advantages. *Camponotus* (1) are effective plant guards, as they ward off herbivores which might compete with lycaenid larvae for food (Del-Claro et al. 1996; Oliveira 1997); (2) can establish stable associations with lycaenids (Rodrigues et al. 2010; Kaminski et al. 2010), and (3) studies so far demonstrate that *Camponotus* is unable to harm lycaenids, even those larvae which do not have stable ant associations (Kaminski and Freitas 2010; Bächtold and Alves-Silva 2013). The other ants found in our study (*Crematogaster* sp., *Brachymyrmex* sp., *Dorymyrmex* sp. and *Pheidole* sp.) are known to establish associations with lycaenids (Fiedler 1991; Duarte et al. 2001), but the available data are still too scant to allow inferences.

The majority of studies involving myrmecophilous butterflies have assumed that ant attendance provides protection against natural enemies of caterpillars (e.g., Pierce and Mead 1981; Pierce and Eastal 1986; Pierce et al. 1987; Fiedler and Maschwitz 1989; Peterson 1993; Seufert and Fiedler 1996; Seufert and Fiedler 1999; Weeks 2003); however, the influence of ants in protecting lycaenid eggs has been poorly explored in ant–lycaenid systems (except for Atsatt 1981; Pierce et al. 1987). In the present study, it was demonstrated that ants conferred no protection whatsoever against parasitoids of lycaenid eggs. In truth, the level of parasitism was higher in ant-present branches, indicating a possible relationship between parasitoids and ants. Our results, together with

Fig. 3 **a** Egg parasitism (mean $\pm$ SE, in percent) of *A. strophius* and *R. marius*; in both species, egg parasitism was higher, although not statistically significant, in plants with ants. **b** Egg parasitism of lycaenids according to the presence of each ant species in *Heteropterys*. Numbers inside the parentheses correspond to the abundance of parasitized eggs

those of Pierce et al. (1987), provide no evidence of ant protection against parasitoids of lycaenid eggs. Furthermore, the rate of parasitism in myrmecophilous lycaenids apparently does not depend on the strength of the association with ants, as even obligate myrmecophilous larvae may have higher parasitism rates compared to facultative myrmecophilous species (DeVries 1991; Fiedler et al. 1992; Seufert and Fiedler 1999).

According to Seufert and Fiedler (1999), parasitoids can use ants as cues to locate their hosts, especially in ant–lycaenid systems involving obligate myrmecophilous species. Besides ants, parasitoids may also be guided by chemical cues, as oviposition may elicit the release of plant volatiles which attract parasitoids (Schröder et al. 2008). Furthermore, other than ant presence and chemical cues, visual clues related to flower characteristics of the host plant are also related to parasitoid occurrence (e.g., Lucchetta et al. 2008). In the case of *Heteropterys*, the whitish and round lycaenid eggs stand out among the yellow flowers and buds, making them very conspicuous to parasitoids. In our study, we believe that parasitoids were primarily guided by ant presence, as egg parasitism in branches with ants was higher, but we cannot rule out the possibility that plant volatiles were also involved in the attraction of parasitoids.

The high parasitism of eggs in ant-present branches makes one wonder why these butterflies lay eggs predominantly on plants with ants. According to Robbins (1991), living with ant partners tends to maximize the survivorship of larvae only, as they are tended and protected from natural enemies (Weeks 2003). Therefore, since eggs (and adult lycaenids) do not have an association with ants, no influence of ants is expected regarding their development and survivorship.

Lycaenids have long been known for their interactions with mutualistic ants, and many species have developed mechanisms to recognize and select specific ant partners (Fiedler 1991; Pierce et al. 2002). In this context, our results (in addition to Kaminski et al. 2010) reveal that lycaenid oviposition mediated by ant presence may be more common than previously thought, even in lycaenids with a weak ant association, such as *A. strophius*. Nevertheless, choosing a plant with ants does not necessarily mean lower parasitism of eggs, as demonstrated here. Our study invites a reconsideration of what we know so far about ant–lycaenid associations as ants may have a rather relative, temporal and positive benefit on caterpillars, but not on eggs.

Acknowledgments The authors thank the staff of Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, where the study was carried out; Renata Pacheco and Jonas Maravalhas for ant identification; Prof. Konrad Fiedler for early suggestions; Sebastián Sendoyia for the inestimable help in statistical analyses (GLMM); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes); Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) for the financial support.

References

- Alves-Silva E, Bächtold A, Barônio GJ, Del-Claro K (2013a) Influence of *Camponotus blandus* (Formicinae) and flower buds on the occurrence of *Parrhasius polibetes* (Lepidoptera: Lycaenidae) in *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae). *Sociobiology* 60:30–34
- Alves-Silva E, Barônio GJ, Torezan-Silingardi HM, Del-Claro K (2013b) Foraging behavior of *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera: Vespidae) on *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae): extrafloral nectar consumption and herbivore predation in a tending ant system. *Entomol Sci* 16:162–169
- Atsatt PR (1981) Ant-dependent food plant selection by the mistletoe butterfly *Ogyris amaryllis* (Lycaenidae). *Oecologia* 48:60–63
- Bächtold A, Alves-Silva E (2013) Behavioral strategy of a lycaenid (Lepidoptera) caterpillar against aggressive ants in a Brazilian savanna. *Acta Ethol* 16:83–90
- Bächtold A, Alves-Silva E, Del-Claro K (2013) Lycaenidae larvae feeding on *Peixotoa parviflora* (Malpighiaceae) in a semi-deciduous forest in Southeastern Brazil. *J Lepid Soc* 67:65–67
- Ballmer GR, Pratt GF (1988) A survey of the last instar larvae of the Lycaenidae (Lepidoptera) of California. *J Res Lepidoptera* 27:1–81
- Ballmer RG, Pratt GF (1991) Quantification of ant attendance (myrmecophily) of lycaenid larvae. *J Res Lepid* 30:95–112
- Cushman JH, Rashbrook VK, Beattie AJ (1994) Assessing benefits to both participants in a lycaenid–ant association. *Ecology* 75:1031–1041
- Daniels H, Gottsberger G, Fiedler K (2005) Nutrient composition of larval nectar secretions from three species of myrmecophilous butterflies. *J Chem Ecol* 31:2805–2821
- Del-Claro K (2004) Multitrophic relationships, conditional mutualisms, and the study of interaction biodiversity in tropical savannas. *Neotrop Entomol* 33:665–672
- Del-Claro K, Berto V, Réu W (1996) Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). *J Trop Ecol* 12:887–892
- Del-Claro K, Marullo R, Mound LA (1997) A new Brazilian species of *Heterothrips* (Insecta: Thysanoptera) co-existing with ants in the flowers of *Peixotoa tomentosa* (Malpighiaceae). *J Nat Hist* 31: 1307–1312
- Devries PJ (1991) Mutualism between *Thisbe irenea* butterflies and ants, and the role of ant ecology in the evolution of larval–ant associations. *Biol J Linn Soc* 43:179–195
- Duarte M, de Almeida GL, Casagrande MM, Mielke OHH (2001) Notes on the last instar larva and pupa of *Hemiargus hanno* (Stoll) (Lepidoptera, Lycaenidae, Polyommatainae). *Rev Bras Zool* 18: 1097–1105
- Dyer LA (1997) Effectiveness of caterpillar defenses against three species of invertebrate predators. *J Res Lepid* 34:48–68
- Fiedler K (1991) Systematic, evolutionary, and ecological implications of myrmecophily within the Lycaenidae (Insecta: Lepidoptera: Papilionoidea). *Bonn Zool Monogr* 31:1–210
- Fiedler K (2001) Ants that associate with Lycaeninae butterfly larvae: diversity, ecology and biogeography. *Divers Distrib* 7:45–60
- Fiedler K (2006) Ant-associates of Palaearctic lycaenid butterfly larvae (Hymenoptera: Formicidae; Lepidoptera: Lycaenidae)—a review. *Myrmecologische Nachr* 9:77–87
- Fiedler K, Maschwitz U (1989) The symbiosis between the weaver ant, *Oecophylla smaragdina*, and *Anthea emolus*, an obligate myrmecophilous lycaenid butterfly. *J Nat Hist* 23:833–846
- Fiedler K, Seufert P, Pierce NE et al (1992) Exploitation of lycaenid–ant mutualisms by braconid parasitoids. *J Res Lepid* 31:153–168
- Forister ML, Gompert Z, Nice CC et al (2011) Ant association facilitates the evolution of diet breadth in a lycaenid butterfly. *Proc Biol Sci* 278:1539–1547

- Fraser AM, Tregenza T, Wedell N et al (2002) Oviposition tests of ant preference in a myrmecophilous butterfly. *J Evol Biol* 15:861–870
- Gibernau M, Dejean A (2001) Ant protection of a Heteropteran trophobiont against a parasitoid wasp. *Oecologia* 126:53–57
- Heath A, Claassens AJM (2003) Ant associations among southern African lycaenidae. *J Lepid Soc* 1:1–16
- Hojó MK, Yamamoto A, Akino T et al (2014) Ants use partner specific odors to learn to recognize a mutualistic partner. *PLoS One* 9:1–8
- Kaminski LA, Freitas AVL (2010) Natural history and morphology of immature stages of the butterfly *Allosmaitia strophius* (Godart) (Lepidoptera: Lycaenidae) on flower buds of Malpighiaceae. *Stud Neotrop Fauna* 45:11–19
- Kaminski LA, Rodrigues D (2011) Species-specific levels of ant attendance mediate performance costs in a facultative myrmecophilous butterfly. *Physiol Entomol* 36:208–214
- Kaminski LA, Freitas AVL, Oliveira PS (2010) Interaction between mutualisms: ant-tended butterflies exploit enemy-free space provided by ant-treehopper associations. *Am Nat* 176:322–334
- Lucchetta P, Bernstein C, Théry M et al (2008) Foraging and associative learning of visual signals in a parasitic wasp. *Anim Cogn* 11:525–33
- Malicky H (1970) New aspects of the association between lycaenid larvae (Lycaenidae) and ants (Formicidae, Hymenoptera). *J Lepid Soc* 24:190–202
- Monteiro RF (1991) Cryptic larval polychromatism in *Rekoa marius* Lucas and *R. palegon* Cramer (Lycaenidae: Theclinae). *J Res Lepid* 29:77–84
- Oliveira PS (1997) The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). *Funct Ecol* 11:323–330
- Peterson AM (1993) The nature of ant attendance and the survival of larval *Icaricia armon* (Lycaenidae). *J Lepid Soc* 47:8–26
- Pierce NE, Eastel S (1986) The selective advantage of attendant ants for the larvae of a lycaenid butterfly, *Glaucopsyche lygdamus*. *J Anim Ecol* 55:451–462
- Pierce NE, Elgar MA (1985) The influence of ants on host plant selection by *Jalmenus evagoras*, a myrmecophilous lycaenid butterfly. *Behav Ecol Sociobiol* 16:209–222
- Pierce NE, Mead PS (1981) Parasitoids as selective agents in the symbiosis between lycaenid butterfly larvae and ants. *Science* 211:1185–1187
- Pierce NE, Kitching RL, Buckley RC et al (1987) The costs and benefits of cooperation between the Australian lycaenid butterfly, *Jalmenus evagoras*, and its attendant ants. *Behav Ecol Sociobiol* 21:237–248
- Pierce NE, Braby MF, Heath A et al (2002) The ecology and evolution of ant association in the Lycaenidae (Lepidoptera). *Annu Rev Entomol* 47:733–771
- Robbins RK (1991) Cost and evolution of a facultative mutualism between ants and lycaenid larvae (Lepidoptera). *Oikos* 62:363–369
- Robbins RK, Aiello A (1982) Foodplant and oviposition records for Panamanian Lycaenidae and Ridonidae. *J Lepid Soc* 36:65–75
- Rodrigues D, Kaminski LA, Freitas AVL, Oliveira PS (2010) Trade-offs underlying polyphagy in a facultative ant-tended florivorous butterfly: the role of host plant quality and enemy-free space. *Oecologia* 163:719–728
- Salazar BA, Whitman DW (2001) Defensive tactics of caterpillars against predators and parasitoids. In: Ananthakrishnan TN (ed) *Insects and plant defences dynamics*. Science Publishers, Inc., Plymouth, pp 161–207
- Schmidt DJ, Rice SJ (2002) Association of ants with juvenile *Ogyris amaryllis amaryllis* Hewitson (Lepidoptera: Lycaenidae) in south-eastern Queensland. *Aust J Entomol* 41:164–169
- Schröder R, Wurm L, Varama M et al (2008) Unusual mechanisms involved in learning of oviposition-induced host plant odours in an egg parasitoid? *Anim Behav* 75:1423–1430. doi:10.1016/j.anbehav.2007.09.016
- Scoble MJ (1995) *The Lepidoptera. Form function and diversity*. Oxford University Press, New York
- Sendoya SF, Freitas AVL, Oliveira PS (2009) Egg-laying butterflies distinguish predaceous ants by sight. *Am Nat* 174:134–40
- Seufert P, Fiedler K (1996) The influence of ants on patterns of colonization and establishment within a set of coexisting lycaenid butterflies in a south-east Asian tropical rain forest. *Oecologia* 106:127–136
- Seufert P, Fiedler K (1999) Myrmecophily and parasitoid infestation of South-East Asian lycaenid butterfly larvae. *Ecotropica* 5:59–64
- Silva NAP, Duarte M, Diniz IR, Morais HC (2011) Host plants of Lycaenidae on inflorescences in the central Brazilian cerrado. *J Res Lepid* 44:95–105
- Silva NAP, Duarte M, Araujo EB, Morais HC (2014) Larval biology of anthophagous Eumaeini (Lepidoptera: Lycaenidae, Theclinae) in the Cerrado of central Brazil
- Stadler B, Dixon AFG (2008) *Mutualism: ants and their insect partners*. Cambridge University Press, Cambridge
- Thompson JN, Pellmyr O (1991) Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annu Rev Entomol* 36:65–89
- Trager MD, Thom MD, Daniels JC (2013) Ant-related oviposition and larval performance in a myrmecophilous lycaenid. *Psyche* (Stuttg) 2013:1–9
- Wagner D, Kurina L (1997) The influence of ants and water availability on oviposition behaviour and survivorship of a facultatively ant-tended herbivore. *Ecol Entomol* 22:352–360
- Weeks JA (2003) Parasitism and ant protection alter the survival of the lycaenid *Hemiargus isola*. *Ecol Entomol* 28:228–232