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

Influência da agregação larval na história de vida de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae)

ALESSANDRA FIGUEIREDO KIKUDA SANTANA

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

Ribeirao Preto/SP
2012

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

Influência da agregação larval na história de vida de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae)

ALESSANDRA FIGUEIREDO KIKUDA SANTANA

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

Orientador: Prof. Dr. Fernando Sérgio Zucoloto

Ribeirao Preto/SP
2012

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.

Catalogação da Publicação
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Santana, Alessandra Figueiredo Kikuda.
Influência da agregação larval na história de vida de Ascia monuste orseis *(Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae) / Alessandra Figueiredo Kikuda Santana; orientador Fernando Sérgio Zucoloto. – Ribeirão Preto, 2012.*
76 f.
Tese (Doutorado)--Universidade de São Paulo, 2012.

1. Introdução. 2. Efeito do tamanho da agregação larval na performance de larvas e de adultos de Ascia monuste orseis*. 3. Efeito do tamanho da agregação larval na ingestão e assimilação de alimento por larvas de* Ascia monuste orseis*. 4. Efeito do tamanho da agregação de ovos na eclosão, no malogro e no canibalismo de ovos de* Ascia monuste orseis *em condições naturais. 5. Efeito do tamanho da agregação larval de* Ascia monuste orseis *no ataque por inimigos naturais em campo. 6. Considerações finais. 7. Referências Bibliográficas (Palavras-chave: curuquerê da couve, Brassicaceae, comportamento gregário, performance, interações tri-tróficas)*

Dedico à minha amada mãe, Olga

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer às diversas pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho; em primeiro lugar à orientação do professor Fernando S. Zucoloto, cuja fascinação por Biologia me cativa e me estimula como pesquisadora e bióloga.

À professora Daniela Rodrigues, do Laboratório de Ecologia de Insetos (UFRJ), que aceitou me auxiliar na parte final deste trabalho, pela literatura recomendada e fornecida, pelo auxílio na coleta e análise de dados e cuja contribuição estendeu-se ao trabalho como um todo.

À Rosana Z. Braga, pelo compartilhamento da ideia original e cujo estímulo em realizar este trabalho tornou-o possível. A ajuda técnica de Laércio Massocato, pelo plantio e manutenção da horta e dos vasos de couve, além da limpeza e manutenção da casa de vegetação, foram igualmente essenciais para a realização adequada da parte experimental deste trabalho.

Ao Laboratório de Evolução e Morfologia de Diptera (FFCLRP / USP), especialmente à Maria Isabel P.A. Balbi, Danillo C. Ament, Paula F.M. Rodrigues e Renato S. Capellari pela identificação das famílias dos dípteros.

Ao Laboratório de Ecologia e Comportamento de Insetos Sociais (FFCLRP / USP), especialmente a Sidnei Mateus pela identificação das vespas predadoras e a Fábio S. Nascimento, pelo fornecimento de literatura sobre insetos sociais. Ao professor José R. Trigo e ao seu orientando, Adriano Mariscal, do Laboratório de Ecologia Química (Unicamp) por compartilhar informações valiosas sobre a ecologia de *Ascia monuste orseis* e vespas predadoras, além do auxílio em algumas análises estatísticas.

Ao Pedro P. Rodrigues (University of Arizona / EUA) pelas informações sobre ecologia de formigas e a Rodrigo Feitosa (Museu de Zoologia / USP) pela identificação delas. A Antônio R. Panizzi (Embrapa / UFPR) pela identificação da espécie de hemíptero predador.

Ao Leandro Garcia (FFCLRP) pelas informações sobre ecologia de aranhas e ao laboratório de Aracnologia (UFRJ), na figura do professor Renner L.C. Baptista, pela identificação do gênero da aranha predadora.

À professora Emma Despland, da Universidade de Concordia (Canadá), pela oportunidade de desenvolver pesquisa com outro grupo de larvas sociais (Lepidoptera: Lasiocampidae) e que em muito contribuiu para este trabalho. À pesquisadora Melanie McClure, do mesmo grupo de pesquisa, pelo desenvolvimento conjunto de pesquisa e discussões acerca da agregação larval. À CAPES e ao Programa de Doutorado com Estágio no Exterior pelo fornecimento de bolsa de estudos que permitiu o desenvolvimento de pesquisa associada por quatro meses (processo BEX 6819/10-9).

Às colegas de laboratório nesses quatro anos: Thamara A.B.S. Leal e Laura C. Lamonica, pelas discussões, auxílios na montagem e coleta de dados e companheirismo.

À Pró-Reitoria de Pós-graduação da USP, pelo auxílio financeiro para participação em congresso no exterior que em muito contribuiu para a divulgação e discussões sobre a presente pesquisa. Aos colegas, funcionários e à estrutura do PPG em Entomologia (FFCLRP / USP) pela oportunidade de desenvolver este estudo, pelos auxílios para participação em congressos e à bolsa concedida (CAPES Demanda Social). À FAPESP (processo 2010/50816-9) e ao CNPq (processo 302503/2010-2) pelas bolsas de auxílio à pesquisa, a qual este trabalho está estreitamente relacionado.

À creche Carochinha (COSEAS/USP), pela assistência, educação e cuidados prestados ao meu filho Paco, nos momentos em que me dediquei à execução deste trabalho. Em extensão, à minha querida família, pela compreensão pelos momentos de ausência e apoio. Ao meu sogro, Leonel E. Molina, pela confecção do croqui da área de estudo. Ao meu marido, Diego F. Espinoza, pela participação direta na realização deste trabalho; da elaboração das figuras às discussões, como companheiro, “substituto” e diversos outros auxílios prestados.

"*Não conte o tempo em que os seres organizados começam a existir pelo tempo em que começam a ficar visíveis; e não restrinja a natureza segundo os estreitos limites de nossos sentidos e instrumentos*".

Charles Bonnet (1762), naturalista suíço

RESUMO

SANTANA, A. F. K. **Influência da agregação larval na história de vida de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae).** 2012. 76 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

A agregação em insetos centra-se nas vantagens relativas ao forrageio e no aumento da defesa contra predadores. Além disso, agregações de ovos podem beneficiar-se pelo aumento nas taxas de eclosão larval. Neste trabalho, foram testadas as hipóteses de que agregações de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) – uma espécie que se alimenta em agregações larvais em plantas da família Brassicaceae - conferem benefícios à performance larval e adulta, na assimilação de alimento pelas larvas, na viabilidade dos ovos e na proteção larval contra inimigos naturais. A possibilidade de um dado comportamento do grupo resultar em maior ataque por inimigos naturais também foi avaliada, bem como um padrão comportamental defensivo em resposta aos inimigos naturais. Para tanto, quatro tratamentos de diferentes tamanhos de agregações larvais foram formados (1, 7, 15 e 30 larvas) para avaliar a performance e a assimilação de alimento em laboratório. Em campo, três tratamentos foram formados (1, 10 e 50 larvas) para testar o efeito do tamanho do tamanho do grupo na predação e parasitismo. A performance do estágio de ovo foi examinada em posturas de tamanhos variados em casa de vegetação. Larvas gregárias desenvolveram-se mais rápido nos ínstares iniciais e tornaram-se fêmeas mais fecundas em comparação às solitárias; entretanto, larvas solitárias apresentaram maior tamanho do que as gregárias. A sobrevivência não diferiu entre os tratamentos em laboratório. Foi observado um menor consumo *per capita* de alimento por larvas gregárias, sem custos para a assimilação de alimento. A viabilidade dos ovos aumentou com o tamanho da agregação de ovos, comprovando o benefício da agregação larval na fase de ovo. A menor predação *per capita* em agregações larvais maiores conferiu uma maior proteção às larvas de *A. monuste orseis* contra predadores e parasitoides, através do efeito da diluição do ataque entre os indivíduos do grupo. O parasitoidismo

foi mais expressivo em larvas de primeiros ínstares, enquanto que larvas mais tardias foram mais atacadas por predadores, independente do tamanho da agregação. Por fim, eventos comportamentais que envolvem movimentação da cabeça como exploração e alimentação foram mais perigosos para as larvas de *A. monuste orseis* em comparação ao repouso e deslocamento, semelhantemente a espécies de hábito solitário. Eventos comportamentais supostamente defensivos foram observados em todos os ínstares e tratamentos. As vantagens da agregação em *A. monuste orseis* mostraram-se especialmente importantes no estágio de ovo e primeiros ínstares, pela diminuição da mortalidade de ovos e vulnerabilidade larval aos inimigos naturais. Esses benefícios provavelmente sobrepõem-se aos custos, como a competição por interferência observada entre as larvas no final do desenvolvimento. Nossos resultados mostram que o malogro dos ovos e os efeitos dos inimigos naturais constituem fortes pressões seletivas na manutenção da agregação de ovos e larval em *A. monuste orseis*, a qual confere uma melhor performance do ponto de vista bi-trófico, bem como maior probabilidade de sobrevivência individual sob o ponto de vista tri-trófico.

Palavras-chave: curuquerê da couve, Brassicaceae, comportamento gregário, performance, interações tri-tróficas.

ABSTRACT

SANTANA, A. F. K. **Influence of larval aggregation on life-history traits of *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae).** 2012. 76 p. Thesis (Doctorate) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

In insects, the gregarious habit has been shown to improve foraging and defense against predation to both larval and adult stages. Egg clusters could also be beneficial through increased larval hatching. In this study, we tested the hypothesis that egg clusters and larval aggregations of the neotropical butterfly *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Pieridae) - a subspecies that uses Brassicaceae as hosts - lead to several benefits from both bi- and tri-trophic perspectives. Larval and adult performances, food assimilation by the larvae, egg viability, as well as protection against natural enemies were assessed from individuals reared either isolated or aggregated. The behavior of larval aggregations was also examined with respect to predation risk, as well as the corresponding larval defensive behaviors after enemy attack. Four treatments with different larval aggregation sizes were assigned (1, 7, 15 e 30 larvae) to assess larval performance and food utilization in the laboratory. In the field, three treatments were assigned (1, 10 e 50 larvae) to evaluate the effects of group size on predation and parasitoidism. Egg performance was examined through egg clusters of different sizes in a greenhouse. Gregarious larvae developed faster, especially in early instars, and became more fecund females than solitary larvae; however, the latter attained larger body size than the former. Under laboratory conditions, survival did not differ among treatments. Lower food ingestion *per capita* was observed in gregarious larvae, with no cost in food assimilation. The viability of eggs increased as egg aggregation size increased. The lower *per capita* predation in larger larval aggregations than smaller groups conferred higher protection to *A. monuste orseis* larvae against natural enemies, through the dilution effects among individuals of the group. Parasitoidism was more intense in small-sized larvae while late instars were more susceptible to predators, regardless of aggregation size. Similar to species with solitary

habit, behavioral events which involved head movements as searching and feeding were more dangerous to *A. monuste orseis* larvae compared to resting and walking. Presumed defensive behaviors were observed in all instars and treatments. Thus, the benefits of aggregation in *A. monuste orseis* can be seen especially in the egg stage and in first instars, as it reduces egg mortality and larval vulnerability to natural enemies. These benefits probably overcome some costs, such as interference competition in the late instars. Taken together, the results show that egg failure and top-down effects constitute selective pressures in maintaining egg and larval aggregation in *A. monuste orseis*, by providing better performance from a bi-trophic perspective and increased probability of individual survival from a tri-trophic perspective when compared to solitary individuals.

Key-words: cabbage caterpillar, Brassicaceae, gregarious behavior, performance, tri-trophic interactions.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Aspectos da biologia de *A. monuste orseis*: **A**) ingestão do córion do ovo por larva recém-eclodida; **B**) oviposição em folha de couve; **C**) agregação larval de 2º instar; **D**) larva solitária de 5º instar. 5

Figura 1.2 Croqui da área de localização da horta e do canteiro experimental e disposição das plantas de couve. Ribeirão Preto, São Paulo (21°05'S, 47º50'W). Círculos dentro da horta e do canteiro experimental representam as plantas de couve. 6

Figura 2.1 Asa posterior de *A. monuste orseis* e suas nervuras (retirada de Costa Lima, 1950), com destaque para a nervura Cu_{1a}. 10

Figura 2.2 Cápsulas cefálicas (mediana e quartis) de larvas de *A. monuste orseis* referentes aos (**A**) 1º, (**B**) 2º, (**C**) 3º e (**D**) 4º ínstares. N= 14,10,10 e 8, respectivamente para o 2º, 3º, 4º e 5º instar. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Dunn, p<0,05. 13

Figura 2.3 Número de oócitos (média ± erro padrão) de fêmeas de *A. monuste orseis* cujas larvas foram criadas em diferentes tamanhos de agregações larvais. N=10/tratamento. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Tukey, p<0,05. 14

Figura 2.4 Comprimento da nervura Cu_{1a} (mediana e quartis) da asa posterior direita de (**A**) fêmeas e (**B**) machos de *A. monuste orseis* resultantes do desenvolvimento de diferentes tamanhos de agregações larvais. N=10/tratamento. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa dentro de um mesmo sexo entre os tratamentos. Testes múltiplos de Dunn, p<0,05.....15

Figura 3.1 Ingestão *per capita* (média ± erro padrão) de folhas de couve (mg) por larvas de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de agregações larvais no (**A**) 2º, (**B**) 3º, (**C**) 4º e (**D**) 5º ínstares. N=15, 10, 7 e 7, respectivamente para os tratamentos com 1, 7, 15 e 30 larvas. Para cada gráfico, letras diferentes acima das barras indicam num diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Tukey, p<0,05. 25

Figura 3.2 Digestibilidade Aproximada (DA) (**A, B, C** e **D**), Eficiência de Conversão do alimento Ingerido (ECI) (**E, F, G e H**) e Eficiência de Conversão de alimento Digerido (ECD) (**I, J, K e L**) (média ± erro padrão) *per capita* de larvas de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de agregações larvais no 2º (1ª coluna), 3º (2ª coluna), 4º (3ª coluna) e 5º (4ª coluna) ínstares. N=15, 12, 10 e 10, respectivamente para os agregações com 1, 7, 15 e 30 larvas. Para cada gráfico, letras diferentes acima das barras num mesmo gráfico indicam diferença significativa entre tratamentos. Testes múltiplos de Tukey HSD, p<0,05. 27

Figura 4.1 Taxas de eclosão larval (**A**), de malogro (**B**) e de canibalismo de ovos/larvas (**C**) (média ± erro padrão) de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de posturas. Postura pequena: 1-9 ovos; intermediária: 10-19 ovos e grande: partir de 20 ovos. N=16 (pequena), n=14 (intermediária), n=11 (grande). Em cada gráfico, letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Tukey, p<0,05. 35

Figura 5.1 Frequência relativa de larvas permanentes (mediana e quartis) de *A. monuste orseis* dos diferentes tamanhos de agregações larvais na planta hospedeira original no (**A**) 1º, (**B**) 2º, (**C**) 3º, (**D**) 4º e (**E**) 5º instar. N=27, 23 e 14 agregações respectivamente para os tratamentos 1, 10 e 50. Num mesmo gráfico, letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Dunn, p<0,05. 45

Figura 5.2 Inimigos naturais de *A. monuste orseis* observados no canteiro experimental*:* **A**) Pré-pupas de *Cotesia* sp. emergindo de larva de 5º instar; **B**) *Cotesia* sp. (adulto) em larva de 2º instar; **C**) *Polybia ignobilis* retalhando larva de 4º instar*;* **D**) *Podisus nigrispinus* atacando larva de 5º instar; **E**) *Anelosimus* sp. em larva de 2º instar; **F**) *Pachycondyla obscuricornis* após retalhação de larva de 5º instar; **G**) *Solenopsis invicta* carregando larva de 2º instar supostamente ao ninho e **H**) *Pheidole obscurithorax* carregando larva de 5º instar supostamente ao ninho. 48

Figura 5.3 Duração relativa aproximada do tempo despendido em cada comportamento por lagartas de *A. monuste orseis* frente aos diferentes tratamentos e ontogenia. Repouso (branco), Alimentação (pontilhado), Exploração (tracejado diagonal), Deslocamento (preto). Números à direita representam o número de larvas por tratamento / categoria ontogenética. A letra T seguida de números denota o tratamento e respectivo número de larvas iniciais em cada um. Categoria inicial: 1º, 2º e 3º ínstares; Categoria final: 4º e 5º ínstares (baseado em Bernays *et al*. 2004). 51

Figura 5.4 Frequência relativa (média ± erro padrão) de eventos comportamentais (E=exploração, R=repouso, A=alimentação e D=deslocamento) de larvas de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de agregações (**A** e **B** = tratamento 1; **C** e **D** = tratamento 10; **E** e **F** = tratamento 50) e ínstares (primeira coluna de gráficos = ínstares iniciais, segunda coluna de gráficos = ínstares finais). Número acima das barras representam a frequência absoluta média da ocorrência de cada evento comportamental. 52

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Duração das fases larval e pupal (mediana e quartis) e sobrevivência até o estágio pupal de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de agregações larvais. Ínstares iniciais=1º ao 3º, ínstares finais = 4º e 5º. 11

Tabela 4.1 Frequência relativa da mortalidade de ovos de *A. monuste orseis* em casa de vegetação por malogro e por canibalismo em função do tratamento. Postura pequena: 1-9 ovos; intermediária: 10-19 ovos e grande: partir de 20 ovos. Para estatística acerca de comparações pareadas, ver texto. 36

Tabela 5.1 Caracterização taxonômica dos inimigos naturais de *A. monuste orseis. ...46*

Tabela 5.2 Frequência absoluta de eventos de ataques* às larvas de *A. monuste orseis* por inimigos naturais em ínstares iniciais e finais em função do tamanho da agregação (tratamento). Ínstares iniciais: 1º, 2º e 3º; instares; instares finais: 4º e 5º. Números entre parênteses representam a frequência relativa de ataques por tratamento / ínstares. Para estatística acerca das comparações pareadas, ver texto. 49

Tabela 5.3 Frequência absoluta de eventos de ataques* às larvas de *A. monuste orseis* por inimigos naturais em função da ontogenia. Ínstares iniciais: 1º, 2º e 3º; instares; instares finais: 4º e 5º. Números entre parênteses representam a frequência relativa de ataques por ínstares. 50

Tabela 5.4 Risco relativo de ataques* às larvas de *A. monuste orseis* por inimigos naturais em função dos eventos comportamentais e da ontogenia larval. Ínstares iniciais: 1º, 2º e 3º; ínstares finais: 4º e 5º. Para estatística acerca das comparações pareadas, ver texto. 53

SUMÁRIO

RESUMO ix

ABSTRACT xi

LISTA DE FIGURAS xiii

LISTA DE TABELAS xvii

1. INTRODUÇÃO 1
   1.1. SISTEMA DE ESTUDO 4
   1.2. MÉTODO GERAL 5
      Obtenção dos ovos e dieta 5

2. EFEITO DO TAMANHO DA AGREGAÇÃO LARVAL NA PERFORMANCE DE LARVAS E DE ADULTOS DE *Ascia monuste orseis*
   2.1. Introdução 7
   2.2. Material & Métodos 8
   2.3. Resultados 11
   2.4. Discussão 16

3. EFEITO DO TAMANHO DA AGREGAÇÃO LARVAL NA INGESTÃO E ASSIMILAÇÃO DE ALIMENTO POR LARVAS DE *Ascia monuste orseis*
   3.1. Introdução 21
   3.2. Material & Métodos 22
   3.3. Resultados 24
   3.4. Discussão 28

4. EFEITO DO TAMANHO DA AGREGAÇÃO DE OVOS NA ECLOSÃO, NO MALOGRO E NO CANIBALISMO DE OVOS DE *Ascia monuste orseis* EM CONDIÇÕES NATURAIS
   4.1. Introdução 31

4.2. Material & Métodos 33
4.3. Resultados 34
4.4. Discussão 36

5. EFEITO DO TAMANHO DA AGREGAÇÃO LARVAL DE *Ascia monuste orseis* NO ATAQUE POR INIMIGOS NATURAIS EM CAMPO
5.1. Introdução 39
5.2. Material & Métodos 41
5.3. Resultados 44
5.4. Discussão 53

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS 59

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 61

1. INTRODUÇÃO

Segundo Wilson (1971), sociedade é um grupo de indivíduos pertencentes à mesma espécie e organizado de maneira cooperativa. Mas nem todos os animais que vivem em grupos são sociais *sensu stricto*. Para os animais vertebrados, o termo "social" é utilizado de maneira abrangente, enquanto que em invertebrados ele já foi mais restritivo (Wheeler, 1928). Para serem considerados verdadeiramente sociais (i.e. eussociais *sensu* Wilson, 1971), os insetos tem que apresentar cuidado cooperativo da prole, divisão de trabalho em função do status reprodutivo e sobreposição de gerações (Batra, 1966; Michener, 1969; Wilson, 1971). Como essas características podem ocorrer independentemente uma da outra, níveis diferentes de socialidade em insetos foram propostos: a) solitário: nenhuma característica citada acima existe; b) subssocial: existência de cuidado parental dos imaturos; c) comunal: membros da mesma geração vivem juntos, mas sem cooperarem no cuidado da prole; d) quasissocial: membros da mesma geração vivem juntos e cooperam no cuidado da prole; e) semissocial: como em quasissocial, mas existe também divisão reprodutiva de trabalho e f) eussocial: como em semissocial, mas existe também a sobreposição de gerações. O termo pressocial aplica-se a todos os níveis intermediários entre o solitário e o eussocial e o termo parassocial engloba os níveis pressociais onde os membros de uma mesma geração vivem juntos (i.e. comunal, quasissocial e semissocial) (Wilson, 1971 e Michener, 1974).

Até a segunda metade do século XX, o interesse sobre comportamento social limitou-se ao estudo de insetos eussociais (i.e. formigas, abelhas, vespas e cupins), que compõem o último estágio de complexidade social (Costa & Fitzgerald, 1996). Assim como para vertebrados, alguns autores (Wilson, 1971; Costa & Fitzgerald, 1996; Costa, 2006) propõem que os termos "sociedade" e "social" sejam utilizados de maneira abrangente também em invertebrados, como meio preventivo da exclusão arbitrária dos fenômenos utilizados na sua distinção. Assim como os insetos eussociais, os para- e subssociais devem ser designados como sociedades e seus membros, sociais. Dessa maneira, não ignoramos as possíveis contribuições do estudo de insetos e outros artrópodes para uma melhor compreensão do comportamento evolutivo da socialidade.

A agregação é um dos mais básicos fenômenos sociais (Deneubourg *et al.,* 2002). A agregação é definida como a tendência de um animal em agregar-se com outros de maneira que estejam em contato ou próximos uns dos outros e cuja distribuição no ambiente seja extremamente irregular (Vulinec, 1990). Agregações de animais em alimentação acontecem normalmente em insetos fitófagos que agregam ovos (Eickwort, 1982), como em Orthoptera (Jörg-Ferenz & Seidelmann, 2003), Psocoptera (Buzatto *et al.,* 2009), Hemiptera (Agrawal *et al.,* 2001), Coleoptera (Damman, 1994; Costa *et al.,* 2004; Weed, 2010), Lepidoptera (Tsubaki & Shiotsu, 1982; Denno & Benrey, 1997) e Symphyta (Costa & Louque, 2001).

A agregação pode trazer vários benefícios aos indivíduos do grupo. Em insetos, esses benefícios podem encaixar-se basicamente em duas categorias: 1) vantagens relativas ao forrageio, e 2) aumento da defesa contra predadores (Costa, 2006). As vantagens relativas ao forrageio compreendem o acesso a alimentos outrora não disponíveis (Fordyce, 2003; Kawasaki *et al.,* 2009), o aumento da taxa de alimentação (Heard & Buchanan, 1998; Hunter, 2000; Reader & Hochuli, 2003) e o aumento da eficiência na utilização dos recursos (Ghent, 1960; Ralph, 1976; Wertheim *et al.,* 2002; Weed, 2010;) devido a ganhos termais (Casey, 1993; Dambach & Goelen, 1999; Bryant *et al.,* 2000; Wertheim *et al*., 2005). O aumento da defesa contra predadores está relacionado com a maior probabilidade da detecção de inimigos naturais potenciais (Stamp, 1981; Kidd, 1982; Vulinec, 1990; Reader & Hochuli, 2003), à amplificação das defesas ativas e à menor probabilidade de cada indivíduo ser capturado pelos predadores (Turchin & Kareiva, 1989; Hunter, 2000; Riipi *et al.,* 2001; Burger & Gochfeld, 2001).

Por outro lado, efeitos desvantajosos também estão presentes (Alexander, 1974) como o alto risco de disseminação de doenças infecciosas (Steinhaus 1958; Hochberg, 1991; Wilson *et al*., 2003), o aumento da competição intraespecífica por alimento (Le Masurier 1994; Raffa, 2001; Wertheim *et al.,* 2002; Reader & Hochuli, 2003), assim como o aumento da conspicuidade para predadores (Bernays, 1997; Wertheim *et al.,* 2003; Lindstedt *et al.*, 2011). Apesar de coesas no início do desenvolvimento, o desmembramento dessas agregações geralmente ocorre durante a ontogenia. O aumento da demanda por alimento com o crescimento dos indivíduos é

um dos fatores que levam à alta dispersão no final do desenvolvimento (Tsubaki & Shiotsu, 1982; Cornell *et al.*, 1987; Biedermann, 2003).

Segundo Costa (2006), os estudos sobre agregações em larvas de Lepidoptera "não possuem o devido respeito como insetos sociais". Seus estudos provaram que as interações sociais em agregações dessa ordem são "muito mais diversas e profundas" do que as sugeridas pelo termo "comunal", denominação que as larvas de Lepidoptera ocupam na tradicional hierarquia social proposta por Michener (1969) e refinada por Wilson (1971). A sofisticação do repertório comportamental, como a construção de abrigos, forrageio e estratégias de defesa, são altamente variáveis (ver Costa, 2006).

Fêmeas da maioria das espécies de Lepidoptera colocam seus ovos isolados e as larvas se desenvolvem solitariamente (Stamp, 1980). Somente 5% a 10% das espécies de lepidópteros ovipositam em agregações e este comportamento frequentemente resulta em agregação larval (Stamp, 1980; Clark & Faeth, 1998). Embora a agregação larval seja relativamente rara comparada ao desenvolvimento solitário em Lepidoptera (Stamp, 1980), espécies gregárias frequentemente exibem dominância numérica nas comunidades (Fitzgerald, 1993; Denno & Benrey, 1997). Isto os torna modelos adequados para o estudo dos custos e dos benefícios da vida em grupo e as circunstâncias ecológicas que favorecem sua evolução. Sendo o estágio larval o mais abrangente, temporalmente, da história de vida dos insetos (Daly, 1985), o objeto de estudo deste trabalho foca-se nas larvas gregárias de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) e na extensão em que o comportamento gregário influencia na sua história de vida.

O objetivo geral deste trabalho é verificar o efeito do tamanho das agregações larvais em alguns aspectos da história de vida de *A. monuste orseis*. Especificamente, este estudo visa a investigar o efeito do tamanho da agregação larval: a) na performance de larvas e de adultos (capítulo dois); b) na alimentação e assimilação de alimento pelas larvas (capítulo três); c) na eclosão, no malogro e no canibalismo de ovos (capítulo quatro); e d) no ataque de predadores e parasitoides em campo (capítulo cinco).

1.1. SISTEMA DE ESTUDO

Ascia monuste orseis (Godart, 1819) (Lepidoptera: Pieridae), o curuquerê-da-couve, é nativa da Região Neotropical, cuja espécie ocorre do sul dos Estados Unidos até o sul da América do Sul (De Vries, 1987; Lamas, 2004). Agregações de ovos são depositados na planta hospedeira em um mesmo evento de oviposição, apresentando uma grande variação no tamanho das posturas (um a mais de 100 ovos por postura), com uma fecundidade potencial total de aproximadamente 450 ovos (L.C. Lamonica, comunicação pessoal). Esta espécie é considerada herbívora oligófaga (*sensu* Bernays & Chapman, 1994), onde as larvas alimentam-se de folhas de Brassicaceae selecionadas pela fêmea parental. A ingestão do córion do próprio ovo pelas larvas recém-eclodidas é comum e chega a representar 50% do peso corporal das larvas nessa fase do desenvolvimento (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2001). Além disso, as larvas ingerem seu exoesqueleto após a ecdise e realizam canibalismo de ovos e de larvas recém-eclodidas (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2001). Larvas mais velhas também realizam canibalismo de ovos (Zago-Braga & Zucoloto, 2004). Por esta razão, as larvas podem ser consideradas onívoras oportunistas (*sensu* Barros-Bellanda & Zucoloto, 2005).

A. monuste orseis é uma espécie multivoltina; as primeiras posturas acontecem em novembro, abrangendo a estação quente e chuvosa (primavera e verão) dos neotrópicos. A oviposição geralmente ocorre na superfície abaxial das folhas de brassicáceas e os ovos distanciam-se aproximadamente um mm um do outro. Logo após a oviposição, os ovos são amarelo-claros e tornam-se amarelo-escuros até a eclosão das larvas, que acontece após três a cinco dias após a oviposição. Após a eclosão, as larvas consomem o córion do próprio ovo (Figura 1.1 A) e o córion de ovos irmãos, levando à realização também do canibalismo de ovos e de larvas recém-eclodidas. Todo o desenvolvimento dura aproximadamente 30 dias (ovo: quatro dias, larva: dez dias, pupa: cinco dias, adulto: 15 dias) (A.F.K. Santana, observações pessoais) em condições abióticas controladas.

As larvas alimentam-se em agregações no local onde as fêmeas parentais ovipositaram (Figura 1.1 B) e o grupo se mantem coeso via de regra nos primeiros

ínstares (Figura 1.1 C). A crescente atividade alimentar do grupo com o passar da ontogenia pode resultar em um forrageio solitário (Figura 1.1 D), supostamente causado pela diminuição dos recursos (i.e. desfolha das plantas via herbivoria).

Figura 1.1 Aspectos da biologia de *A. monuste orseis*: **A**) ingestão do córion do ovo por larva recém-eclodida; **B**) oviposição em folha de couve; **C**) agregação larval de 2º instar; **D**) larva solitária de 5º instar.

1.2. MÉTODO GERAL

Obtenção dos ovos e dieta

Ovos de *A. monuste orseis* foram coletados em folhas de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C.) (variedade AG20) em uma horta (Figura 1.2), onde não se aplicou nenhum tipo de agrotóxico, nas dependências do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP (FFCLRP / USP)

(21°05’S, 47º50’W), Ribeirão Preto, São Paulo. A vegetação circundante da área da horta é composta por árvores como abacateiros, angicos, cacaueiros, embaúbas, ipês, mamoeiros, umbelas e outros arbustos. As folhas com posturas foram levadas ao laboratório e mantidas em um recipiente de vidro com água (12 cm de altura x 8 cm de diâmetro) para manutenção da turgidez das folhas, até a eclosão das larvas. As larvas foram alimentadas com couve variedade manteiga (AG20); retiradas do hospedeiro e fornecidas às larvas ainda frescas.

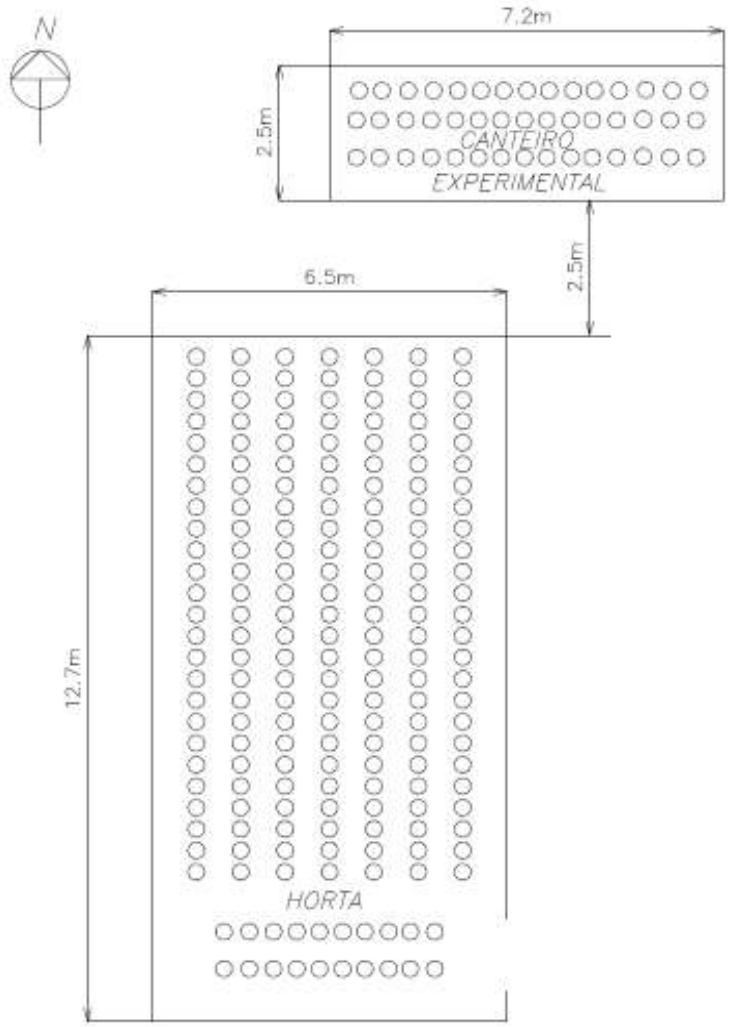

Figura 1.2 Croqui da área de localização da horta e do canteiro experimental e disposição das plantas de couve. Ribeirão Preto, São Paulo (21°05’S, 47º50’W). Círculos dentro da horta e do canteiro experimental representam as plantas de couve.

2. EFEITO DO TAMANHO DA AGREGAÇÃO LARVAL NA PERFORMANCE DE LARVAS E DE ADULTOS DE *Ascia monuste orseis*

2.1. INTRODUÇÃO

O consumo de alimento pelos animais fornece energia e nutrientes necessários às atividades vitais como o crescimento e desenvolvimento, o acúmulo de reservas metabólicas, movimentação, defesa e reprodução (Townsend & Calow, 1981; Slansky & Rodrigues, 1987). Em muitas espécies de insetos, a alimentação larval influencia ainda vários aspectos da fase adulta, como a produção de óvulos, a habilidade no cruzamento, a sobrevivência e a capacidade de dispersão (Boggs, 1997; Barret, 2008). A performance de insetos fitófagos, por exemplo, pode variar de acordo com as características da planta hospedeira; como idade das folhas, presença de aleloquímicos e quantidade de fibras (Renwich, 1983; Hochuli, 2001; Bittencourt-Rodrigues & Zucoloto, 2009). Além da variação nutricional dos alimentos, outros fatores podem impedir que os insetos alcancem uma performance adequada. Dentre esses fatores destacam-se: variação na adequação e abundância de alimentos, flutuações abióticas e a presença de predadores, parasitas e competidores (Slansky, 1993; Stamp & Bowers, 1990).

Insetos tipicamente não sociais *stricto sensu* podem apresentar comportamento de alimentação gregário, como é o caso de alguns grilos (Simpson *et al*., 2006), himenópteros pergídeos (Ghent, 1960), afídeos (Turchin & Kareiva, 1989), hemípteros cercopídeos (Wise *et al.*, 2006) e besouros (Storer *et al.*, 1997). Apesar dos custos associados ao comportamento gregário, como o aumento da competição intraespecífica (Simpson *et al*., 2006; Wise *et al*., 2006) e a transmissão de doenças (Steinhaus, 1958) foi encontrada uma correlação positiva entre o tamanho do grupo e o crescimento larval em muitas espécies de insetos herbívoros (Lawrence, 1990; Storer *et al.*, 1997, Clark & Faeth, 1997, Fordyce, 2003; Reader & Hochuli, 2003; Bianchi & Moreira, 2005; Ronnäs *et al.,* 2010). Evidências mostram que indivíduos em grupos sobrevivem e reproduzem-se melhor do que indivíduos solitários (Lawrence, 1990). Uma causa aparente desse benefício envolve a facilitação social, a qual pode se manifestar através de uma maior

eficiência na alimentação em grupos (Clark & Faeth, 1997; Denno & Benrey, 1997), através do estabelecimento do sítio de alimentação ou manutenção da temperatura (Tsubaki, 1981; Stamp & Bowers, 1990; Casey, 1993; Bryant *et al*., 2000), conduzindo ao crescimento e desenvolvimento adequado desses grupos de insetos. A otimização do crescimento e do desenvolvimento levam a uma menor exposição a predadores, parasitoides e agentes infecciosos, e diminui os riscos de mortalidade durante a ontogenia (Benrey & Denno, 1997).

O desenvolvimento gregário de larvas de Lepidoptera sempre resulta de uma agregação de ovos, e as larvas podem permanecer em agregações até o fim do estágio larval (Courtney, 1987). Apesar da vida em grupo ser adaptativa para muitas espécies sociais, efeitos neutros da agregação larval também foram encontrados (Costa & Ross, 2003; Kawasaki *et al.,* 2009; Allen, 2010). Neste capítulo, testou-se o efeito do tamanho das agregações larvais na performance de larvas e adultos de *A. monuste orseis*, em condições abióticas controladas e na ausência de canibalismo e inimigos naturais. Foi testada a hipótese de que a alimentação larval gregária confere melhor performance aos indivíduos do que a alimentação larval solitária nesta população.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

O tamanho das agregações larvais foi manipulado experimentalmente para determinar sua influência no tempo de desenvolvimento, na sobrevivência e no crescimento das larvas e na fecundidade e tamanho dos adultos. Foram montados quatro tamanhos de agregações larvais (tratamentos): grupos de 30 (n=9), 15 (n=9), sete (n=12) e uma (n=15) larvas, separados aleatoriamente pela manipulação das larvas logo após a eclosão. Os tratamentos foram escolhidos levando em consideração o número médio de ovos colocados pelas fêmeas em campo (± 40), a diminuição natural das agregações devido à mortalidade dos ovos e o espaço disponível para a sua manutenção em laboratório. Como controle do efeito materno no desenvolvimento (Mousseau & Dingle, 1991), larvas originárias de uma mesma postura foram colocadas em diferentes tratamentos. Os tratamentos de 30 e 15 larvas foram colocados em caixas acrílicas transparentes (12 x 18 x 28 cm) e os de sete e uma larvas, colocados

em caixas acrílicas transparentes menores (12 x 12 x 4 cm), forradas com papel toalha e limpas diariamente. Folhas de couve foram oferecidas *ad libitum* às larvas e substituídas diariamente. O experimento foi realizado em laboratório: os recipientes permaneceram dentro de câmaras climáticas ELETROLAB® (93,5 x 50 x 51 cm, modelo EL 212) em condições abióticas controladas: temperatura: 29±1ºC, umidade relativa: 75% e fotoperíodo: 10 luz: 14 escuro (Felipe & Zucoloto, 1993; Barros-Bellanda & Zucoloto, 2005; Santana & Zucoloto, 2011).

Performance larval

O tempo que as larvas levaram em cada instar, para empupar e as pupas, para emergir, foram registrados diariamente às 9h e às 17h. Dados relativos ao 1º, 2º e 3º ínstares foram agrupados e tratados como "ínstares iniciais", bem como os dados relativos ao 4º e 5º ínstares, os quais foram por consequência denominados "ínstares finais". A sobrevivência foi calculada pela razão do número de larvas vivas ao final do estágio larval pelo número inicial de larvas. Após cada muda, as cápsulas cefálicas de larvas do 1º (n=14/tratamento), 2º (n=10/tratamento), 3º (n=10/tratamento) e 4º (n=8/tratamento) ínstares foram coletadas para a detecção de diferenças de crescimento entre os diferentes tratamentos. Cápsulas cefálicas do 5º instar não foram consideradas como medidas de crescimento devido à sua quebra na fase pré-pupal. A medida padrão estabelecida para comparação entre os grupos foi a maior largura da cápsula cefálica (Dyar, 1890), devido ao exoesqueleto ser facilmente medido e livre das distorções físicas sofridas pelas partes moles dos animais (Daly, 1985). Após a coleta, as cápsulas foram colocadas sob estereomicroscópio trinocular Bel Photonics® (modelo SZT) com câmera de vídeo digital Bel Photonics de 1.3 MP acoplada (modelo DV 1300) e foi utilizado o programa BelView® para medição. As medidas foram realizadas com o aumento de 4,5x.

Performance dos adultos

Como a oogênese em lepidópteros acontece no estágio larval (Wheeler, 1996), o número de ovos de fêmeas recém-emergidas foi contado. A fecundidade potencial das fêmeas foi obtida através da contagem do número de oócitos nos ovários das

fêmeas recém-emergidas (n=10/tratamento). As fêmeas foram congeladas após 24h da emergência e posteriormente, dissecadas para a retirada dos ovários. Os ovários foram inicialmente fixados em álcool 80% por 15 minutos, corados com fucsina ácida (cor vermelha) durante 3 minutos, enxaguados novamente em álcool 80% e depois, contados os oócitos de cada ovaríolo, com o auxílio de estereomicroscópio (Bel Photonics®, modelo SZT). O tamanho dos adultos (n=10/sexo) foi estimado através do comprimento da nervura Cu_{1a} da asa posterior direita das borboletas (Catta-Preta & Zucoloto, 2003) (Figura 2.1), visto que as medidas das asas são parâmetros adequados para a estimativa do tamanho do adulto em lepidópteros (Miller, 1977). Um paquímetro foi utilizado para medição e a observação ocorreu sob estereomicroscópio, após a morte das borboletas por congelamento.

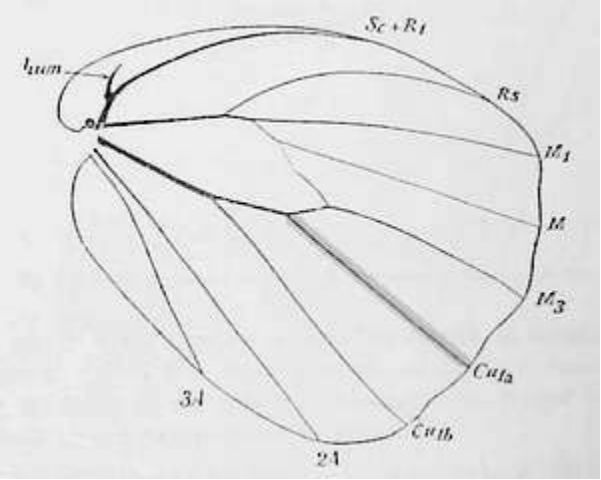

Figura 2.1 Asa posterior de *A. monuste orseis* e suas nervuras (retirada de Costa Lima, 1950), com destaque para a nervura Cu_{1a}.

Análise dos dados

A distribuição dos dados foi avaliada quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e, quanto a homocedasticidade das variâncias, pelo teste de Bartlett. Posteriormente, cada variável de performance acima mencionada foi comparada entre os tratamentos através de uma análise de variância (ANOVA um fator), seguida de testes múltiplos de Tukey (para dados paramétricos) ou de testes

múltiplos de Dunn (para dados não paramétricos). Transformações de dados não paramétricos foram sempre realizadas; quando não bem sucedidas, testes não paramétricos foram realizados. Os testes seguiram os critérios descritos por Zar (1999), sendo adotado alfa = 0,05.

2.3. RESULTADOS

Performance larval

Larvas gregárias (7, 15 e 30) alcançaram o terceiro instar mais rapidamente que larvas solitárias (Testes múltiplos de Dunn, p=0,001), sendo o tamanho do grupo indiferente para o tempo de desenvolvimento a partir do 4º instar (Kruskal-Wallis, p=0,75) (Tabela 2.1). Larvas solitárias também levaram mais tempo na fase pupal (Testes múltiplos de Dunn, p=0,0002) (Tabela 2.1). A sobrevivência larval não diferiu entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, p=0,17) (Tabela 2.1).

Tabela 2.1. Duração das fases larval e pupal (mediana e quartis) e sobrevivência até o estágio pupal de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de agregações larvais. Ínstares iniciais=1º ao 3º, ínstares finais = 4º e 5º.

Tratamento	ínstares iniciais (dias)	ínstares finais (dias)	fase pupal (dias)	sobrevivência larval (%)
1	5,0 (4,5-5,0) [a]	5,0 (4,5-5,0) [a]	6,5 (6,0-6,5) [a]	100,0 (100,0-100,0) [a]
7	4,0 (4,0-4,5) [b]	5,0 (4,6-5,0) [a]	6,0 (6,0-6,0) [b]	100,0 (90,0-100,0) [a]
15	4,0 (4,0-4,5) [b]	5,0 (4,5-5,0) [a]	6,0 (6,0-6,0) [b]	100,0 (100,0-100,0) [a]
30	4,0 (4,0-4,0) [b]	5,0 (4,0-5,0) [a]	6,0 (6,0-6,0) [b]	100,0 (90,0-100,0) [a]

n=15 (tratamento 1), n=12 (tratamento 7), n=9 (tratamentos 15 e 30). Letras diferentes numa mesma coluna indicam diferença significativa. Testes múltiplos de Dunn, p<0,05.

A largura das cápsulas cefálicas das larvas de *A. monuste orseis* não diferiu entre os tratamentos no 1º, 2º e 3º ínstares (Kruskal-Wallis, p=0,80; p=0,88; p=0,77, respectivamente). No 4º instar, as cápsulas cefálicas de larvas em grupos de 30 foram significativamente menores do que as de larvas solitárias (Teste múltiplos de Dunn, p=0,02) (Figura 2.2).

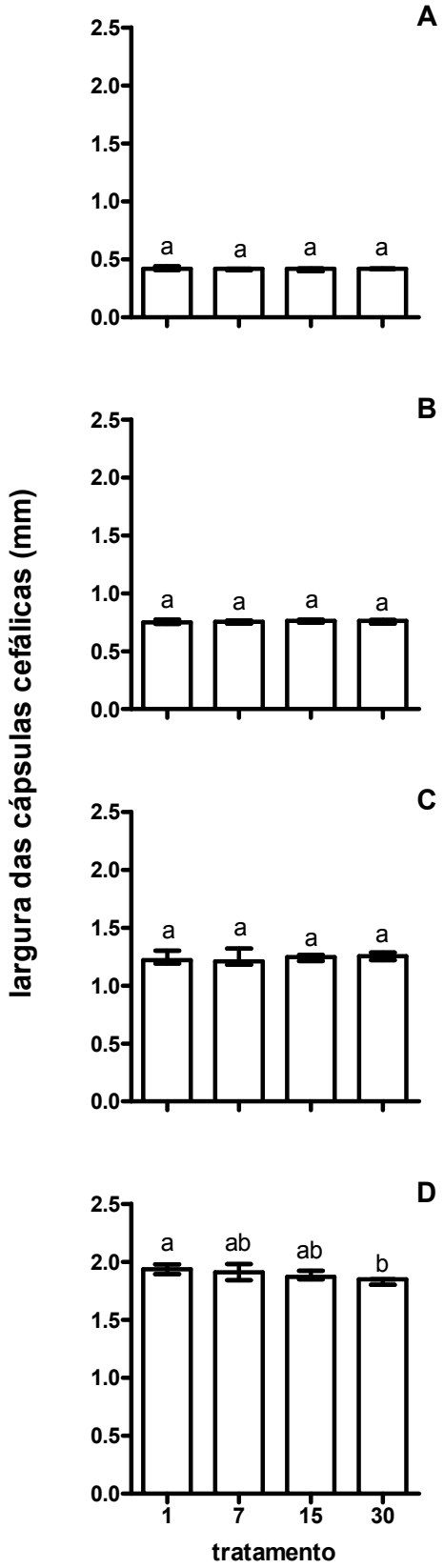

Figura 2.2 Cápsulas cefálicas (mediana e quartis) de larvas de *A. monuste orseis* referentes aos (**A**) 1º, (**B**) 2º, (**C**) 3º e (**D**) 4º ínstares. N= 14,10,10 e 8, respectivamente para o 2º, 3º, 4º e 5º instar. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Dunn, $p<0,05$.

Performance dos adultos

O tamanho das agregações larvais influenciou a fecundidade das fêmeas (ANOVA, p=0,03): fêmeas adultas que se desenvolveram solitariamente apresentaram menor número de oócitos nos ovários do que fêmeas advindas do desenvolvimento larval com 15 larvas (Testes múltiplos de Tukey, p=0,03). Grupos com 7 e 30 larvas apresentaram fêmeas com número de oócitos intermediários (Figura 2.3). O tamanho das asas de adultos machos e fêmeas foram menores no grupo com a maior densidade larval (Testes múltiplos de Dunn, p=0,002; p=0,01; respectivamente) (Figura 2.4)

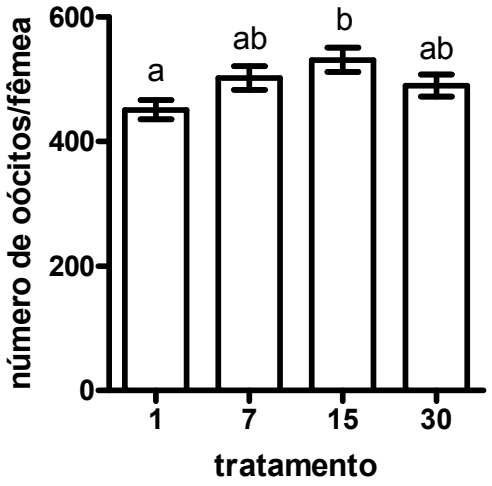

Figura 2.3 Número de oócitos (média ± erro padrão) de fêmeas de *A. monuste orseis* cujas larvas foram criadas em diferentes tamanhos de agregações larvais. N=10/tratamento. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Tukey, p<0,05.

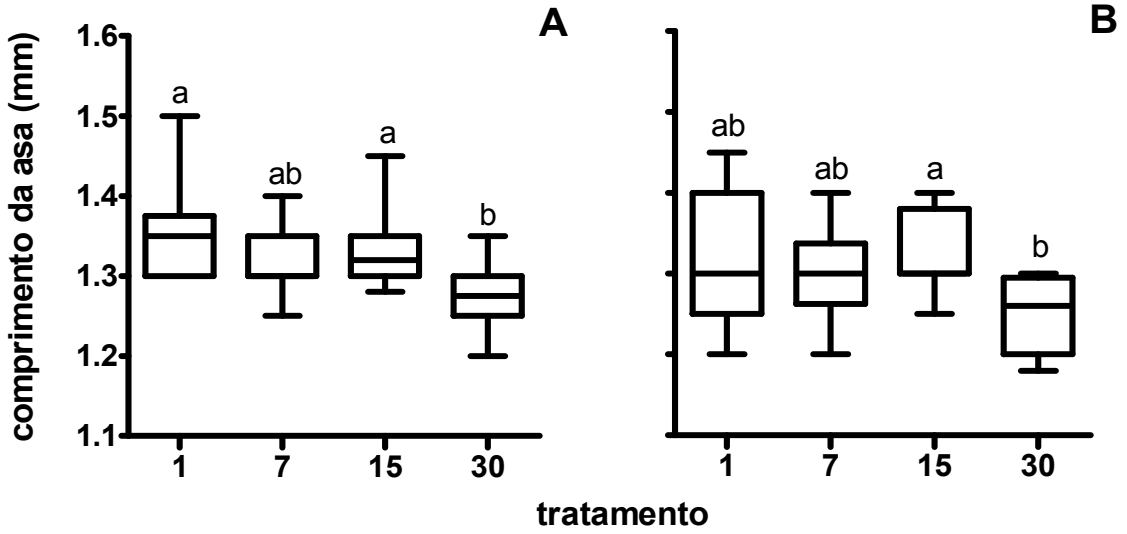

Figura 2.4 Comprimento da nervura Cu_{1a} (mediana e quartis) da asa posterior direita de (**A**) fêmeas e (**B**) machos de *A. monuste orseis* resultantes do desenvolvimento de diferentes tamanhos de agregações larvais. N=10/tratamento. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa dentro de um mesmo sexo entre os tratamentos. Testes múltiplos de Dunn, $p<0,05$.

2.4. DISCUSSÃO

Agregações larvais de *A. monuste orseis* apresentaram menor tempo de desenvolvimento larval e menor fase pupal do que larvas solitárias. A redução do estágio larval em larvas gregárias ocorreu principalmente nos ínstares iniciais. Em contrapartida, o tamanho das larvas e dos adultos foi prejudicado pela agregação larval nos ínstares finais. Isso sugere que a agregação é benéfica no início do desenvolvimento larval, mas pode acarretar em custos às larvas no final do desenvolvimento. Este resultado é similar aos de outros estudos que investigaram o efeito do tamanho da agregação na taxa de crescimento de larvas de Lepidoptera (Lawrence 1990, Clark & Faeth, 1997, Denno & Benrey 1997, Fordyce, 2003, Despland & Le Huu, 2007).

A extensão do tempo de desenvolvimento por larvas solitárias pode ser uma estratégia alimentar, em que o aumento do tempo de desenvolvimento permite um maior tempo em alimentação. Isso acontece quando a aquisição dos nutrientes necessários ao desenvolvimento não é adequada (Slansky 1993). O aumento da quantidade de recursos ingeridos pode ter influenciado também o aumento de atividade da musculatura das partes bucais, levando a um aumento da alocação de nutrientes para a construção dos músculos, resultando em maiores cápsulas cefálicas (Bernays, 1986). Esse efeito alimentar compensatório das larvas, encontrado também em outros insetos (Zucoloto, 1987), permite alcançar um tamanho adulto satisfatório. Ao mesmo tempo, aumenta o tempo de exposição das larvas aos inimigos naturais (Price *et al*., 1980). O aumento no tempo de desenvolvimento apresentado por larvas solitárias de *A. monuste orseis* pode, então, levar à morte prematura durante o estágio larval e assim, impedir a reprodução. Pode ser vantajoso empupar num tamanho menor e garantir a sobrevivência até a reprodução do que arriscar um desenvolvimento prolongado para alcançar um tamanho maior. Nessas circunstâncias, a estratégia de empupar num período menor e com um tamanho reduzido, adotada por larvas gregárias, é mais adaptativa para esta espécie. Assim como em outros lepidópteros (Zalucki, 2002), os primeiros ínstares mostraram-se críticos na vida dessas larvas. Desenvolvimento mais rápido tem sido reportado como vantajoso em várias espécies de insetos herbívoros,

porque reduz potencialmente o tempo de exposição das larvas e pupas aos inimigos naturais e aos efeitos da competição no final do desenvolvimento (Price *et al*., 1980).

Em outras espécies, o desenvolvimento mais rápido de larvas gregárias foi visto como uma adaptação à possível competição por alimento durante sua ontogenia (Silanpää, 2008). Agregações larvais muito grandes podem prejudicar o processo de alimentação, via aumento da susceptibilidade das larvas aos distúrbios que ocorrem sob severa competição por alimento (Clark & Faeth, 1997, Von Zuben *et al.*, 2000). Apesar da disponibilidade de alimento ter sido maior que a necessidade para as larvas de *A. monuste orseis*, um maior gasto energético foi provavelmente necessário para a aquisição do alimento quando em agregações maiores, pois 30 larvas alimentando-se simultaneamente num recipiente confinado certamente gera interferência entre os indivíduos. A maior velocidade do consumo de alimento por larvas em agregações causa uma maior movimentação das larvas para a aquisição do alimento. Esse gasto energético adicional acarretou num custo para larvas, evidenciado pela menor tamanho larval ao final de cada instar e dos adultos. Resultado semelhante foi encontrado para esta espécie em condições de severa competição alimentar (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2002). Nossos resultados sugerem que a competição por interferência (*sensu* Townsend *et al.,* 2006) pode influenciar a performance mesmo quando a abundância de alimento é alta. A existência de competição por interferência e sem limitação alimentar foi encontrada em outros lepidópteros (Tammaru *et al*., 2000; Ruohomäki *et al.,* 2003; Despland & LeHuu, 2007), cuja redução no tamanho das larvas e adultos também foi verificada.

Apesar dos efeitos benéficos da agregação na sobrevivência de outros lepidópteros (e.g. Lawrence, 1990; Clark & Faeth, 1997; Bianchi & Moreira, 2005 e referências), a sobrevivência de larvas de *A. monuste orseis* não foi afetada pela agregação. Isso indica que, apesar do maior tempo gasto para completar o desenvolvimento larval e pupal, larvas solitárias eventualmente completam o desenvolvimento. Condições controladas de laboratório podem ter minimizado os possíveis efeitos na sobrevivência diferencial entre os tratamentos. Mesmo quando há uma grande disponibilidade de recursos, larvas de último instar de muitas espécies de lepidópteros apresentam alta mortalidade durante a migração para novos hospedeiros

(Hunter, 2000; Barros-Bellanda & Zucoloto, 2003). O efeito da agregação larval na sobrevivência nessa espécie pode estar também relacionado com a menor predação em campo e será melhor investigada (ver capítulo cinco).

Tempo de desenvolvimento reduzido correlacionou-se com uma redução no tamanho/massa individual adulta, mas não necessariamente com uma redução da fecundidade. A biomassa adquirida durante o estágio larval é de extrema importância na decisão de quando empupar (Scriber & Slansky, 1981); larvas com baixos pesos ao final do último instar podem avaliar o custo de um desenvolvimento mais longo e o de um tamanho adulto reduzido. A razão mais comum para um tamanho adulto reduzido em borboletas é a redução da qualidade e/ou da quantidade do alimento ingerido na fase larval (Awmack & Leader, 2002; Boogs & Freeman, 2005). Mesmo apresentando menores tamanhos larvais ao final de cada instar e menor tamanho quando adultos, a quantidade de oócitos de fêmeas advindas do tratamento com 15 larvas foi, surpreendentemente, maior que a de larvas solitárias. De maneira geral, a melhor performance foi a apresentada pela agregação com 15 larvas. Larvas desse tratamento apresentaram alta fecundidade sem perdas significativas nos outros parâmetros. As vantagens da agregação larval são, então, provavelmente balanceadas e, eventualmente, podem ser ausentes em agregações muito grandes. Por outro lado, indivíduos em agregações muito grandes podem não apresentar custos no desenvolvimento (Costa & Ross, 2003; Allen, 2010). Nesses casos, as larvas geralmente mantem-se gregárias até o fim do estágio larval.

Se por um lado está claro que a redução do tempo de desenvolvimento é uma consequência da agregação larval, o mecanismo responsável por esta regulação ainda precisa ser investigado. Desenvolvimento mais rápido pode ocorrer em espécies gregárias por diversas razões: maior eficiência no forrageio (Lawrence, 1990; Fitzgerald, 1993; Storer *et al*., 1997), melhor manipulação do alimento (Ghent, 1960; Lawrence, 1990; Clark & Faeth, 1997; Denno & Benrey, 1997) ou por termorregulação (Stamp & Bowers, 1990; Klok & Chown, 1999; Bryant *et al.,* 2000).

O mecanismo primário para o desenvolvimento mais rápido em algumas espécies gregárias parece ser que larvas em ínstares iniciais são capazes de iniciar a alimentação mais eficientemente em folhas duras do que aquelas em grupos menores

(Clark & Faeth, 1997; Tsubaki, 1981, Lawrence, 1990; Kawasaki *et al.,* 2009). A superfície das folhas pode ser um grande obstáculo para as frágeis mandíbulas de larvas recém-eclodidas ou adultos recém-emergidos. Se um inseto consegue penetrar/morder a superfície da folha, ele acaba por facilitar o trabalho que outros insetos teriam para desempenhar a mesma tarefa (Ghent, 1960). A superação da dureza do hospedeiro alimentar pode atuar como catalisador no processo de alimentação em grupo. A agregação larval em *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera, Calliphoridae) (Von Zuben *et al.*, 2000), estimula a produção de secreções salivares enzimáticas, aumenta a eficiência do processo de alimentação e, por conseguinte, acelera a taxa de desenvolvimento larval. Esse efeito foi encontrado em outras espécies de Lepidoptera, como os ninfalídeos *Chlosyne lacinia* (Geyer) (Lepidoptera: Nymphalidae) (Clark & Faeth, 1997) e *C. poecile* (Felder) (Inouye & Johnson, 2005): quando a dureza do hospedeiro foi reduzida pelo uso de dietas artificiais, não houve variação do tempo de desenvolvimento e da sobrevivência em diferentes tamanhos de agregações.

A maior pressão seletiva para a agregação nessas espécies então, parece ser a necessidade de superar as defesas estruturais e/ou químicas da planta hospedeira. A agregação em *Mechanitis isthmia* (Bates) (Nymphalidae: Ithomiinae), por exemplo, permite que larvas jovens superem coletivamente a densidade de tricomas nas plantas hospedeiras (Young & Moffett, 1979). Larvas recém-eclodidas de *A. monuste orseis* são frágeis; folhas maduras e muito lignificadas de *Brassica oleraceae* (couve) são provavelmente grandes obstáculos para larvas recém-eclodidas iniciarem sua alimentação (Bittencourt-Rodrigues & Zucoloto, 2009). Superar essa barreira física é uma vantagem para larvas gregárias. Além disso, larvas de *A. monuste orseis* precisam de uma adequada aquisição de nutrientes, lidando com os altos níveis de aleloquímicos (glicosinolatos) da planta, problema que até mesmo os herbívoros especialistas enfrentam. A agregação pode ter evoluído em algumas espécies como estratégia de redução das defesas contra a herbivoria (Fordyce & Agrawal, 2001).

A agregação larval, de maneira geral, foi mais intensamente estudada em espécies da região temperada (Costa, 1997; Fitzgerald, 1993), onde a manutenção da temperatura em animais ectodérmicos é uma forte pressão seletiva. Ainda que seja

discutido que a termorregulação é uma causa ou consequência da vida em grupo, a mesma é um fator importante na história de vida de insetos gregários (Casey, 1993). A sobrevivência de larvas de *Malacosoma americanum* (F.) (Lepidoptera: Lasiocampidae) em agregações, por exemplo, não é afetada pelo tamanho do grupo, mas o crescimento larval sim, provavelmente devido à termorregulação (Costa & Ross, 2003).

Além da redução do tempo de desenvolvimento nos primeiros ínstares, agregações com 15 larvas também apresentaram fecundidade elevada comparada às larvas solitárias. A hipótese de que a alimentação larval gregária confere melhor performance aos indivíduos do que a alimentação larval solitária foi, então, comprovada para esta população. Esse estudo mostrou que a agregação larval é benéfica para *A. monuste orseis* principalmente nos primeiros ínstares e que pode resultar em custos no final do desenvolvimento larval, devido ao maior tamanho e capacidade de alimentação das larvas, gerando competição por interferência. Nesse sentido, o benefício da agregação diminui durante a ontogenia, justificando a tendência ao desmembramento das agregações larvais em campo nos ínstares finais.

3. EFEITO DO TAMANHO DA AGREGAÇÃO LARVAL NA INGESTÃO E ASSIMILAÇÃO DO ALIMENTO POR LARVAS DE *Ascia monuste orseis*

3.1. INTRODUÇÃO

Paralelos entre as vantagens da cooperação na alimentação dos insetos podem ser feitos com os benefícios da formação de bandos em mamíferos que caçam conjuntamente, em que os indivíduos são incapazes de explorarem adequadamente os recursos alimentares sem assistência (Alexander, 1974). A interação social é um fator importante no consumo de alimento por moscas-das-frutas (Cresoni-Pereira & Zucoloto, 2005; Zur *et al.,* 2009), por exemplo, cuja ingestão é maior em moscas pertencentes a um grupo do que em moscas solitárias. O crescimento reduzido de insetos em pequenos grupos pode refletir uma ingestão ou uma assimilação reduzida do alimento.

Insetos herbívoros adotam diversas estratégias de alimentação no consumo adequado do alimento vegetal, superando as defesas da planta, bem como a presença de inimigos naturais (Bernays, 1998; Schoonhoven *et al*., 1998). A taxa de alimentação é um importante componente da estratégia de forrageio dos insetos, pois determina a quantidade de alimento consumido em determinado período e os nutrientes obtidos através da alimentação (Slansky, 1993). A grande variação dos alimentos ingeridos tem sido uma forte pressão seletiva no desenvolvimento de mecanismos comportamentais e fisiológicos para uma obtenção adequada de nutrientes (Waldbauer, 1968). Se o alimento não é adequado, o inseto pode aumentar a ingestão, em um processo compensatório (Slansky & Wheeler, 1989; Zanotto *et al.,* 1993; Yang & Joern, 1994). O aumento da ingestão do alimento pode levar a um aumento no tempo gasto alimentando-se, e consequentemente, aumentar a exposição aos inimigos naturais (Price *et al*., 1980; Bernays, 1997) e aos aleloquímicos tóxicos (Slansky & Wheeler, 1992). Por outro lado, a falta de uma resposta compensatória reduzirá a taxa de crescimento e, provavelmente, a de fecundidade (Simpson & Simpson, 1990).

Experimentos em laboratório mostraram que mesmo em condições ótimas de desenvolvimento, larvas gregárias criadas solitariamente alimentam-se menos, crescem mais devagar e sobrevivem numa taxa menor (Clark & Faeth, 1997, Fordyce, 2003;

Reader & Hochuli, 2003; Bianchi & Moreira, 2005). Em outros casos, o atraso no desenvolvimento se mantem, mas com maior taxa de ingestão por larvas solitárias (Fitzgerald & Visscher, 1996). Assim como a compensação alimentar, foi sugerido que a alimentação em grupo evoluiu como uma estratégia de melhor exploração dos recursos alimentares (Tsubaki & Shiotsu, 1982; Despland & LeHuu, 2007), beneficiando a nutrição dos indivíduos. Larvas gregárias geralmente enfrentam uma rápida diminuição dos recursos alimentares durante sua ontogenia em campo, sendo a utilização mais eficiente dos recursos uma adaptação fisiológica para o melhor aproveitamento desses alimentos que são limitados (Tsubaki & Shiotsu, 1982).

Os lepidópteros alimentam-se consideravelmente no estágio larval, chegando a ingerir duas a três vezes o seu peso corporal, diariamente, nos últimos ínstares (Waldbauer, 1968; Barton-Browne 1995; Barton-Browne & Raubenheimer, 2003). Um aumento na eficiência de utilização de alimento por esses insetos pode significar uma grande economia nos custos ligados ao forrageamento. Neste capítulo, foi testada a hipótese de que a alimentação em agregações larvais incorre em um aumento na assimilação do alimento em *A. monuste orseis*, levando possivelmente a benefícios para a performance. Para tanto, parâmetros digestórios como a quantidade de ingestão de alimento e as eficiências de assimilação de alimento pelas larvas foram analisados em diferentes tamanhos de agregações.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

A montagem dos tratamentos (1, 7, 15 e 30 larvas) e as condições de laboratório estiveram de acordo com o descrito no capítulo dois. O período experimental compreendeu as 24 horas iniciais de cada instar (2º, 3º, 4º e 5º), iniciando-se após a ingestão dos exoesqueletos pelas larvas. O 1º instar larval não foi testado devido à dificuldade de se medir a quantidade foliar *per capita* nesse estádio. Os cálculos de ingestão de alimento, quantidade de fezes produzidas e biomassa incorporada pelas larvas foram feitos com o peso seco das folhas, das fezes e das larvas. O material destinado à obtenção do peso seco foi mantido em estufa (FANEM®, modelo Orion 515) a 80ºC por 24 horas (Felipe & Zucoloto, 1993). Nos tratamentos de 7, 15 e 30

larvas, os valores da ingestão de alimento total, fezes produzidas e biomassa incorporada total foram divididos pelo número de larvas do tratamento, obtendo-se medidas da ingestão, fezes e biomassa incorporada *per capita* em cada tratamento. Toda caixa experimental possuiu uma caixa reserva com o mesmo número de larvas do respectivo tratamento (1, 7, 15 ou 30). Essas larvas foram utilizadas para substituir as eventuais larvas mortas das caixas experimentais. Dessa forma, o tamanho do grupo inicial foi mantido constante.

Ingestão de alimento per capita *pelas larvas*

Para a medida da ingestão de folha pelas larvas, metades de uma mesma folha foram sobrepostas e cortadas longitudinalmente - uma vez que as partes apical, mediana e basal da folha são diferentes nutricionalmente (Catta-Pretta & Zucoloto, 2003) – sendo metade da folha destinada às larvas e a outra, à obtenção da massa foliar inicial. A quantidade de folhas destinadas às larvas foi crescente a cada instar. Após o período experimental (24h), o restante da folha disponibilizada à alimentação das larvas foi coletado e sua massa final, pesada. O valor da ingestão total pelas larvas foi obtido através da subtração da massa foliar final (não ingerida pelas larvas ao final do período experimental) pela massa foliar inicial.

Índices digestórios das larvas

Os índices digestórios das larvas foram calculados de acordo com os métodos de Waldbauer (1968) e Slansky & Scriber (1985): Digestibilidade Aproximada (DA = (ingestão-fezes)/ingestão), Eficiência de Conversão do Alimento Ingerido (ECI = biomassa incorporada/ingestão) e Eficiência de Conversão do Alimento Digerido (ECD = biomassa incorporada/(ingestão-fezes)).

As fezes produzidas pelas larvas foram coletadas no final de cada período experimental e sua massa, pesada. Seu peso foi utilizado para o cálculo da quantidade de alimento digerido pelas larvas (ingestão de alimento – fezes produzidas).

Para a obtenção da medida da biomassa incorporada pelas larvas, cinco indivíduos de cada tratamento e ínstares de estudo foram separados no início de cada período experimental, mortos por afogamento e imediatamente submetidos à pesagem

conforme procedimentos acima. Uma média dos pesos secos desses 5 indivíduos foi calculada para cada tratamento e utilizada como biomassa inicial, para o posterior cálculo da biomassa incorporada pelas larvas. Os tratamentos em que as larvas foram retiradas para obtenção da biomassa inicial não foram utilizados para obtenção das demais medidas. Ao final do período experimental, todas as larvas de cada tratamento foram mortas por afogamento e submetidas à pesagem para obtenção do peso seco total. O valor da biomassa incorporada foi calculado através da subtração da biomassa inicial das larvas da biomassa final.

Análise de dados

A distribuição dos dados foi avaliada quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e, quanto a homocedasticidade das variâncias, pelo teste de Bartlett. O consumo de alimento (ingestão) *per capita* entre os tratamentos/ínstares foi submetido à análise de variância (um fator), seguida de testes múltiplos de Tukey. Os índices digestórios foram submetidos a análises de covariância (ANCOVA). Para comparar o efeito do tratamento na Digestibilidade Aproximada (DA) e na Eficiência de Conversão do Alimento Ingerido (ECI) por *A. monuste orseis* foi utilizada a ingestão como covariável e para o teste do efeito do tratamento na Eficiência de Conversão do Alimento Digerido (ECD) foi utilizada a quantidade de alimento digerido (ingestão – fezes) como covariável, como correção para o efeito da variação da ingestão e do alimento digerido na assimilação de alimento (Raubenheimer & Simpson, 1992). A homogeneidade das inclinações entre a covariável e as variáveis dependentes, premissa para o teste de ANCOVA (Zar, 1999), foram satisfeitas em cada análise. Diferenças significativas dos índices entre os tratamentos foram posteriormente examinadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey HSD. Para todos os testes foi adotado um α de 5%.

3.3. RESULTADOS

Ingestão de alimento per capita *pelas larvas*

Em todos os ínstares, a ingestão de alimento por larvas solitárias foi maior do que a de larvas em agregações de 30 [Testes múltiplos de Tukey, p=0,02 (2º instar); p=0,008 (3º instar); p= 0,003 (4º instar); p= 0,01 (5º instar)] (Figura 3.1).

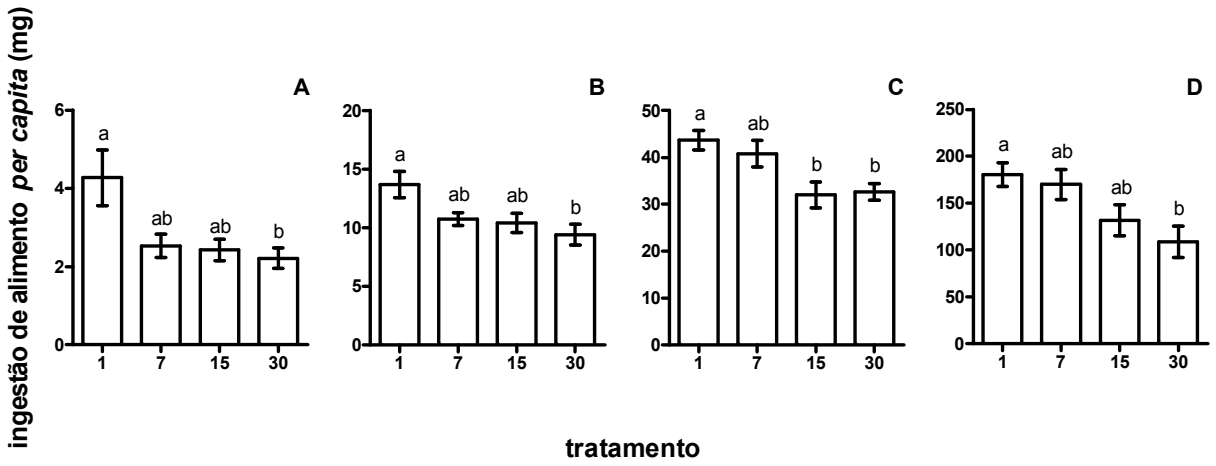

Figura 3.1 Ingestão *per capita* (média ± erro padrão) de folhas de couve por larvas de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de agregações larvais no (**A**) 2º, (**B**) 3º, (**C**) 4º e (**D**) 5º ínstares. N=15, 10, 7 e 7, respectivamente para os tratamentos com 1, 7, 15 e 30 larvas. Para cada gráfico, letras diferentes acima das barras indicam num diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Tukey, p<0,05.

Índices digestórios das larvas

No 2º instar, larvas solitárias apresentaram maior DA do que larvas gregárias (testes múltiplos de Tukey HSD, F=6,50; gl=3; p=0,002) (Figura 3.2 A), mas, inversamente, ECI e ECD foram relativamente menores em larvas solitárias do que em larvas gregárias, apesar dessa diferença não ter sido detectada significativamente (ANCOVA, F=2,32; gl=3; p=0,10, F=1,24 (ECI); gl=3; p=0,31 (ECD)) (Figura 3.2 E e I, respectivamente). No 3º instar, os tratamentos não diferiram em relação aos índices testados (ANCOVA, F=0,88; gl=3; p=0,45 (DA), F=0,67, gl=3; p=0,57 (ECD) e F=0,27; gl=3; p=0,84 (ECI)) (Figura 3.2 B, F e J, respectivamente). No 4º instar, DA e ECI foram semelhante entre os tratamentos (ANCOVA, F=2,34; gl=3; p=0,08 (DA), F=1,35; gl=3; p=0,26 (ECI)) (Figura 3.2 C e G, respectivamente), mas ECD foi significativamente maior nos tratamentos 15 e 30 (Testes múltiplos de Tukey HSD, F=4,78; gl=3; p=0,005). No 5º instar, os tratamentos não diferiram em relação aos índices testados (ANCOVA, F=0,50; gl=3; p=0,68 (DA), F=1,97 , gl=3; p=0,13 (ECD) e F=0,2,32; gl=3; p=0,08 (ECI)) (Figura 3.2 D, H e L, respectivamente).

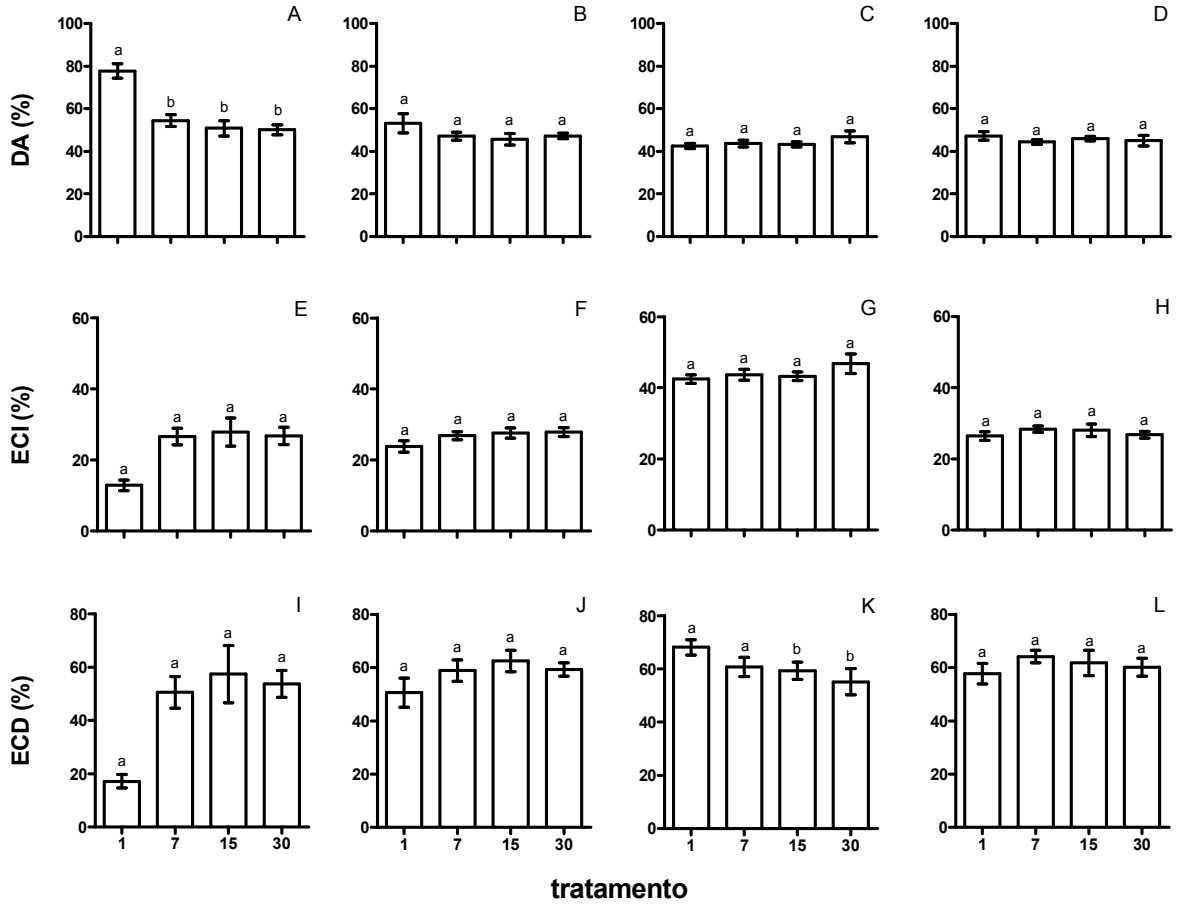

Figura 3.2 Digestibilidade Aproximada (DA) (**A, B, C** e **D**), Eficiência de Conversão do alimento Ingerido (ECI) (**E, F, G e H**) e Eficiência de Conversão de alimento Digerido (ECD) (**I, J, K e L**) (média ± erro padrão) *per capita* de larvas de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de agregações larvais no 2º (1ª coluna), 3º (2ª coluna), 4º (3ª coluna) e 5º (4ª coluna) ínstares. N=15, 12, 10 e 10, respectivamente para os agregações com 1, 7, 15 e 30 larvas. Para cada gráfico, letras diferentes acima das barras num mesmo gráfico indicam diferença significativa entre tratamentos. Testes múltiplos de Tukey HSD, p<0,05.

3.4. DISCUSSÃO

De maneira geral, larvas gregárias consumiram menos alimento *per capita* do que larvas solitárias nos ínstares estudados. Apesar disso, larvas gregárias apresentaram eficiências de conversão do alimento semelhantes às de larvas solitárias. Esses dados corroboram a hipótese de economia de recursos alimentares apresentada por Tsubaki & Shiotsu (1982), em que larvas gregárias utilizaram melhor o alimento ingerindo menos. No 2º instar, larvas solitárias apresentaram não só uma maior ingestão, como também maior digestibilidade do alimento do que larvas gregárias, mas isso não se reverteu em maiores eficiências de conversão do alimento em biomassa. No 4º instar, mesmo com um menor consumo de alimento, tratamentos de 15 e 30 larvas apresentaram maiores eficiências de conversão do alimento do que larvas solitárias e em grupos de sete.

A atuação do estímulo social para a alimentação nesta espécie parece ser fraca, visto que larvas de *A. monuste orseis* não aumentaram o consumo *per capita* de alimento com o aumento do tamanho das agregações larvais. Resultados semelhantes foram encontrados em *Malacosoma disstria* Hübner (Lepidoptera: Lasiocampidae), em que larvas gregárias ingeriram menos alimento, mas sem alteração nos índices digestórios. (Despland & Le Huu, 2007).

Em algumas espécies, o montante de alimento ingerido correlaciona-se negativamente com a qualidade do alimento (Timmins *et al.,* 1988; Lavoie & Oberhauser, 2004). O aumento da alimentação está associado com um decréscimo do nível de nutrientes na dieta e é geralmente enxergado como uma resposta adaptativa, em que o inseto tenta compensar a redução na ingestão dos nutrientes ingerindo maior quantidade de alimento (Simpson & Simpson, 1990; Simpson & Raubenheimer, 1993). O aumento no consumo de alimento apresentado por larvas solitárias e em agregações menores pode ter sido uma estratégia de compensação alimentar em *A. monuste orseis*. Essas larvas são capazes de aumentar o consumo de alimento em resposta à qualidade do hospedeiro (Santana & Zucoloto, 2011); no entanto, no presente trabalho, o alimento das larvas de *A. monuste orseis* foi semelhante (i.e. folhas maduras de

couve). Neste caso, a compensação pode ter ocorrido em resposta à ausência de larvas coespecíficas na alimentação.

O maior consumo de alimento pode expressar-se de diferentes formas: maior ingestão, que pode envolver um consumo instantâneo mais rápido, refeições mais longas ou mais frequentes e/ou um prolongamento do tempo de desenvolvimento (Slansky, 1993). Larvas solitárias de *M. disstria*, por exemplo, expressam o maior consumo de alimento através de refeições mais longas (Despland & Le Huu, 2007). Larvas solitárias de *A. monuste orseis* expressaram o maior consumo de alimento através de um prolongamento no desenvolvimento (ver capítulo dois). Desenvolvimento mais lento é custoso ecologicamente, pois aumenta a exposição a inimigos naturais (Bernays, 1997), além do maior gasto energético no processamento do alimento. No processo evolutivo, a capacidade de aproveitamento do alimento está diretamente relacionada à capacidade de reprodução (Waldbauer, 1968); se larvas gregárias conseguem aproveitar o alimento semelhantemente às solitárias com menor custo na sua ingestão, isso é uma grande economia de recursos alimentares. Um aproveitamento adequado do alimento geralmente reverte-se em benefícios na performance, como o menor tempo de desenvolvimento e a maior fecundidade apresentada por larvas gregárias (ver capítulo dois). Dados conjuntos dos capítulos dois e três deste trabalho mostram que larvas gregárias atingem menor tamanho, mas desenvolvem-se mais rápido e apresentam maior fecundidade quando adultas, tendo consumido menos alimento.

Baseado na hipótese da economia de recursos de Tsubaki & Shiotsu (1982), as larvas deveriam manter-se agregadas até o fim do estágio larval, pois as eficiências de conversão de alimento mantem-se semelhantes com a menor ingestão em todos os ínstares testados. A manutenção da agregação em *A. monuste orseis* até o 4º ou o 5º instar na natureza não é tão rara (A.F.K. Santana, observação pessoal), contanto que a planta hospedeira possua um tamanho mínimo aproximado de 1m e o número de larvas não seja maior que 50 (condição comum em campo). Mas a escassez de alimentos devido à alta densidade populacional eventualmente ocorre principalmente para larvas nos ínstares finais. Neste trabalho, o alimento disponibilizado às larvas foi abundante; quando o alimento é limitante, é provável que a ocorrência de competição

intraespecífica entre larvas de ínstares finais resulte num custo da agregação. O benefício da alimentação gregária deve, então, mudar de um aumento da taxa de crescimento nos primeiros ínstares para uma função de defesa nos ínstares finais (Montllor & Bernays, 1993). Dados relativos à taxa de predação, parasitismo ou comportamentos de defesa de larvas solitárias e gregárias (ver capítulo cinco) podem mostrar outros custos e/ou benefícios da manutenção do grupo no desenvolvimento de *A. monuste orseis*.

Os benefícios da agregação larval na alimentação de *A. monuste orseis* foram comprovados neste capítulo, mesmo que sem uma comprovação da real causa desse benefício. A agregação pode parecer menos importante em condições de laboratório, onde o alimento é abundante e de fácil acesso e a necessidade de termorregulação e defesa contra predadores/parasitas não são necessárias (Despland & Le Huu, 2007). O ganho termal pode ser uma causa para a diminuição do tempo de desenvolvimento (Ronnäs *et al.* 2010), assim como para uma adequada eficiência metabólica (Costa, 2006).

4. EFEITO DO TAMANHO DA AGREGAÇÃO DE OVOS NA ECLOSÃO, NO MALOGRO E NO CANIBALISMO DE OVOS DE *Ascia monuste orseis* EM CONDIÇÕES NATURAIS

4.1. INTRODUÇÃO

Insetos que agregam ovos influenciam o sucesso da prole selecionando não somente o hospedeiro de oviposição, mas também ajustando o número de ovos nele depositados (Minkenberg *et al.,* 1992). Essa decisão leva em conta os benefícios de uma postura grande e a quantidade de indivíduos que o hospedeiro pode suportar (Parker & Courtney, 1984; Kagata & Ohgushi, 2002). A relação entre qualidade da planta e o tamanho da postura também foi encontrada, por exemplo, em alguns lepidópteros fitófagos (Pilson & Rausher, 1988, Bergström *et al.,* 2007).

A deposição de um único ovo por postura é relativamente mais abrangente dentre as espécies de lepidópteros fitófagos do que a oviposição em agregações; na América do Norte, por exemplo, somente 28 de 593 espécies estudadas (4,7%) depositam seus ovos em agregações (Stamp, 1980). Para essas espécies, o tamanho da postura é um componente importante da história de vida, pois o aumento do tamanho da postura está relacionado com a diminuição da dessecação dos ovos (Clark & Faeth, 1998) e larvas (Willmer, 1980) e com a diminuição dos riscos de predação da prole (Stamp & Bowers, 1988; Lawrence, 1990). A hipótese da dessecação de ovos propõe que a agregação de ovos é adaptativa *per se* em Lepidoptera através da redução da mortalidade dos ovos via dessecação (Stamp, 1980; Clark & Faeth, 1998), influenciando diretamente o sucesso de eclosão das larvas.

A agregação de ovos pode contribuir para o aumento da capacidade de manutenção de uma temperatura e umidade adequadas para o desenvolvimento (Stamp, 1980; Clark & Faeth, 1998). Se levarmos em conta os ninfalídeos, mais espécies da América do Norte agregam seus ovos do que espécies da região neotropical e subtropical, sugerindo que climas secos e/ou frios tenham favorecido a seleção da agregação de ovos nesse grupo (Stamp, 1980). A resistência à dessecação de ovos na natureza é pouco estudada (Woods & Singer, 2001). Enquanto em algumas

espécies (e.g. *C. lacinia*), a umidade relativa é importante na eclosão das larvas (Clark & Faeth, 1998), em outras [e.g. *Grammia geneura* Strecker (Arctiidae) e *Manduca sexta* Johannson (Sphingidae)], a taxa de eclosão é alta mesmo em ambientes com umidade relativa quase nula (Woods & Singer, 2001).

Em algumas espécies de lepidópteros fitófagos, larvas recém-eclodidas alimentam-se primeiro do córion do próprio (Nielsen & Common, 1991). Larvas recém-eclodidas de *A. monuste orseis*, após ingerirem o córion de seus ovos, ingerem também ovos não eclodidos e larvas recém-eclodidas da mesma postura (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2001). Esse comportamento acontece com frequência também em campo (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2005). O reconhecimento de ovos coespecíficos como alimento pelas larvas é mais rápido do que o reconhecimento da própria planta hospedeira (Santana *et al.,* 2011). Benefícios indiretos para os indivíduos que realizam o canibalismo estão presentes, como o aumento da biomassa (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2001) e a remoção de competidores potenciais (Zago-Braga & Zucoloto, 2004). Entretanto, do ponto de vista da fêmea parental, o canibalismo de ovos irmãos pode reduzir seu potencial reprodutivo (Fordyce, 2005). Foi demonstrado, por exemplo, que fêmeas de *A. monuste orseis* evitam ovipositar em plantas com larvas coespecíficas presentes (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2005), pois larvas mais velhas também realizam o canibalismo de ovos (Zago-Braga & Zucoloto, 2004; Barros-Bellanda & Zucoloto, 2005). Portanto, a agregação de ovos pode ser um comportamento arriscado, tanto do ponto de vista de fêmea parental como para os ovos.

O canibalismo foi descrito como um componente importante na regulação do tamanho das agregações larvais nesta espécie; em laboratório (Zago-Braga & Zucoloto, 2004; Santana *et al.,* 2011) e em campo (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2005). Apesar de benefícios e custos associados à agregação de ovos nesta espécie ter sido observada, alguns deles ainda não foram identificados. A mortalidade de ovos na natureza, por exemplo, pode acontecer também por outros fatores como malogro e/ou dessecação, quando as condições abióticas são variáveis e subótimas.

A maioria das hipóteses em relação ao significado adaptativo das agregações de ovos foca-se nas consequências observadas em larvas, especialmente nos primeiros

ínstares, onde a mortalidade é alta (Stamp, 1980; Zalucki *et al.,* 2002). Como toda agregação larval resulta de uma agregação de ovos (Stamp, 1980; Chew & Robbins, 1983), neste capítulo, foi verificada a taxa de eclosão de larvas de *A. monuste orseis* em condições naturais, com o intuito de acessar a vulnerabilidade dos ovos de diferentes tamanhos de posturas ao malogro e ao canibalismo. A hipótese é de que ovos em agregações menores são menos resistentes aos efeitos adversos do ambiente (i.e. temperatura e umidade variáveis), mostrando maior mortalidade por malogro do que ovos em agregações maiores. O acesso aos possíveis benefícios da agregação de ovos em *A. monuste orseis* fornecerá pistas importantes também para a evolução da agregação larval nesta espécie.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e quatro horas após a emergência, um casal de borboletas, criado na fase larval sob condições abióticas controladas anteriormente descritas, foi colocado em uma gaiola de alumínio (80 x 80 x 80 cm) revestida com tule branco, para copular. A gaiola ficou em uma casa de vegetação em área externa, sob condições naturais, mas excluindo-se a presença de predadores e do efeito das intempéries naturais. Vasos de couve de aproximadamente 80 cm de altura e (2 meses de idade), plantados na mesma época e sob o mesmo tipo de substrato, foram disponibilizados à borboleta para oviposição, além de uma dieta líquida de água com açúcar (3:1), trocada a cada dois dias. Diariamente, os vasos foram vistoriados para detectar a presença de posturas e, assim que detectadas, os vasos foram retirados para observação. Os vasos já com as posturas foram também mantidos na casa de vegetação sob as mesmas condições. Sempre que retirados, outros vasos foram disponibilizados às larvas.

Durante este período, a fêmea colocou posturas de tamanhos variados. A partir da frequência de distribuição das posturas (dados não mostrados), postulou-se como posturas pequenas: 1-9 ovos; posturas intermediárias: 10-19 ovos e posturas grandes: 20 ou mais ovos. O número médio de lagartas recém-eclodidas das posturas pequena, intermediária e grande, respectivamente, foi: 2,12; 11,5 e 22,63. Foi anotado o número de ovos por postura, a ocorrência de ovos malogrados (i.e. gorados, que não foram

adiante) e o número de larvas recém-eclodidas. As larvas alimentaram-se nos mesmos vasos de couve onde ocorreu a postura inicial. Não houve manipulação do número de ovos ou de larvas para a formação dos tratamentos, mantendo-se a variação natural do número de ovos por postura da fêmea. Os parâmetros analisados foram: taxa de eclosão (nº de larvas recém-eclodidas/nº de ovos depositados), taxa de canibalismo ([nº de ovos depositados – nº de larvas recém-eclodidas]/nº de ovos depositados) e taxa de malogro (nº de ovos malogrados/ nº de ovos depositados). As mortalidades das larvas não eclodidas, por malogro e por canibalismo, foram comparadas entre os tratamentos para a verificação da relevância de cada fenômeno na regulação do tamanho das agregações larvais.

As taxas de eclosão, malogro e canibalismo foram comparadas quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e, quanto a homocedasticidade das variâncias, pelo teste de Bartlett. Os valores em porcentagem foram transformados em arcoseno. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância (um fator), seguida de testes múltiplos de Tukey, sendo adotado $\alpha = 0,05$. Testes de Qui-quadrado foram utilizados para análise das mortalidades por malogro e por canibalismo de ovos/larvas entre os tratamentos e testes binomiais de amostras independentes para a comparação múltiplas entre os tratamentos. De acordo com a correção de Bonferroni, foi adotado $\alpha = 0,01$.

4.3. RESULTADOS

Posturas intermediárias apresentaram maior taxa de eclosão do que posturas pequenas (Testes múltiplos de Tukey, $p=0,03$). Posturas pequenas apresentaram maiores taxas de malogro do que posturas intermediárias e grandes (Testes múltiplos de Tukey, $p=0,007$). As taxas de canibalismo não diferiram entre os tratamentos (ANOVA, $p=0,93$) (Figura 4.1).

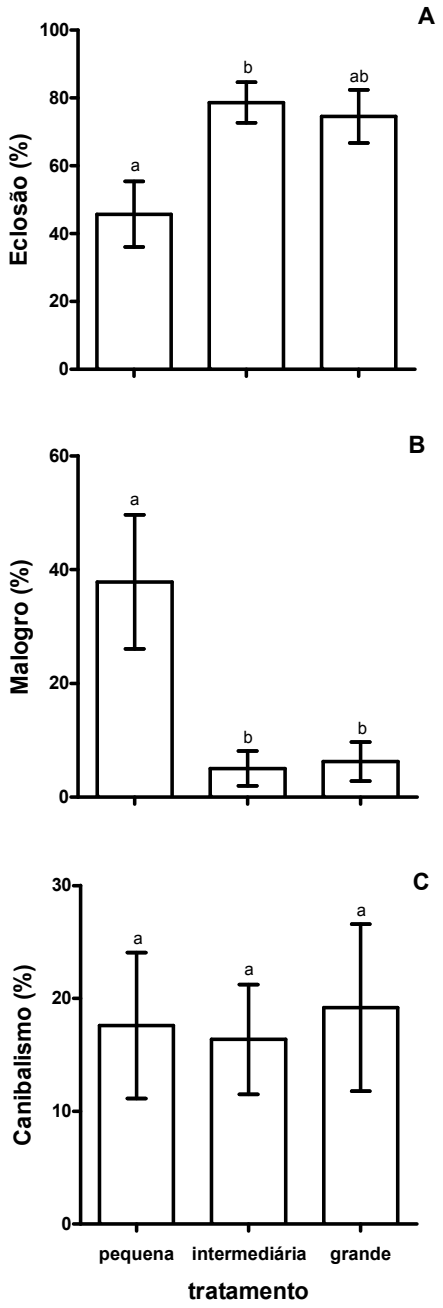

Figura 4.1 Taxas de eclosão larval (**A**), de malogro (**B**) e de canibalismo de ovos/larvas (**C**) (média ± erro padrão) de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de posturas. Postura pequena: 1-9 ovos; intermediária: 10-19 ovos e grande: partir de 20 ovos. N=16 (pequena), n=14 (intermediária), n=11 (grande). Em cada gráfico, letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Tukey, $p<0,05$.

A regulação do tamanho das agregações larvais por malogro de ovos e por canibalismo foi diferente entre os tratamentos testados (Tabela 4.1). A mortalidade por malogro de ovos foi maior em posturas pequenas do que em posturas intermediárias e grandes (teste binomial: P vs I= 3,80; p<0,0001, P vs G=3,75; p<0,0001 e I vs G=0,50; p=0,30). Já a mortalidade por canibalismo foi maior em posturas intermediárias e grandes e menores em posturas pequenas (teste binomial: P vs I= 3,80; p<0,0001, P vs G=3,75; p<0,0001 e I vs G=0,50; p=0,30) (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 Frequência relativa da mortalidade de ovos de *A. monuste orseis* em casa de vegetação por malogro e por canibalismo em função do tratamento. Postura pequena: 1-9 ovos; intermediária: 10-19 ovos e grande: partir de 20 ovos. Para estatística acerca de comparações pareadas, ver texto.

Postura/mortalidade	N	por malogro (%)	por canibalismo (%)
pequena	16	59,52 [a]	40,48 [a]
intermediária	14	21,15 [b]	78,85 [b]
grande	11	25,00 [b]	75,00 [b]
Estatística		χ^2= 25,35; gl=2; p<0,0001	χ^2= 13,78; gl=2; p=0,001

Letras diferentes numa mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos.

4.4. DISCUSSÃO

Agregações pequenas de ovos apresentaram taxas de eclosão larvais menores que agregações intermediárias, além de uma maior taxa de malogro de ovos. A mortalidade devido ao malogro de ovos diminuiu com o aumento do tamanho da postura. Apesar da taxa de canibalismo não ter diferido entre os tratamentos testados, dentre as causas da mortalidade de ovos, o canibalismo mostrou-se significativo, principalmente em posturas intermediárias e grandes. Esses resultados suportam a ideia de que a evolução da agregação larval pode ocorrer através do aumento da

sobrevivência já na fase de ovo (Clark & Faeth, 1998), pela diminuição da dessecação ou pela diminuição da taxa de malogro.

A taxa de eclosão das larvas aumentou com o aumento do tamanho da postura e posturas pequenas apresentaram maiores taxas de malogro de ovos comparada às intermediárias/grandes. O malogro de ovos de *A. monuste orseis* em posturas pequenas é, então, uma forte causa de mortalidade de ovos. Diversas são as pressões seletivas influenciando o tamanho das posturas em lepidópteros e a baixa umidade relativa é provavelmente uma delas, pois atua diretamente na mortalidade dos ovos por dessecação (Clark & Faeth, 1998). No início do desenvolvimento larval, assim como na fase de ovo, a termorregulação e a conservação de água são fatores importantes na manutenção do grupo (Clark & Faeth, 1997; Klok & Chown, 1999; Hunter, 2000). Em ambientes tropicais e úmidos, a dessecação de ovos talvez não tenha um papel tão forte na regulação do tamanho das posturas como nos ambientes em que a umidade é um fator limitante. O hospedeiro principal de *C. lacinia*, por exemplo, no deserto de Sonoran, cresce em áreas onde o período seco é longo e as chuvas, esparsas (Clark & Faeth, 1998); razão pela qual a agregação de ovos é vital nesta espécie. Em outras espécies estudadas por Clark & Faeth (1998), a taxa de eclosão média foi de 10% e 45% em umidades de 12-32% e 55-97%, respectivamente, corroborando a hipótese de que existe um mínimo de umidade para uma eclosão adequada das larvas em algumas espécies.

O tamanho da agregação larval afeta a probabilidade dos ovos de malograr, mas não afeta a probabilidade de canibalismo. O canibalismo de ovos e larvas recém-eclodidas esteve presente a uma taxa semelhante em todos os tamanhos de agregações testados, comprovando a abrangência do canibalismo nesta espécie. Contrariamente ao observado por Barros-Bellanda & Zucoloto (2005), não houve diferença relativa às taxas de canibalismo entre os tamanhos de agregações de ovos. No trabalho citado, as taxas de canibalismo pelas larvas diferiram somente em posturas acima de 60 ovos. Isto corrobora a importância do canibalismo na regulação do tamanho das agregações larvais em posturas muito grandes.

Mesmo com a desvantagem da maior taxa de malogro dos ovos em posturas pequenas de *A. monuste orseis,* verificada neste trabalho, posturas pequenas são

encontradas na natureza. A vulnerabilidade das fêmeas a predadores e aos machos da mesma espécie em busca de cópula podem justificar a presença delas. De fato, machos de *A. monuste orseis* foram observados em campo interrompendo o processo de oviposição pelas fêmeas (A.F.K. Santana, observações pessoais), que não necessariamente retornavam ao local da postura para continuar o processo de oviposição.

Nossos dados demonstraram de maneira clara que os benefícios relativos à agregação larval estão presentes desde a fase de ovo, através do aumento da eclosão larval e da redução da taxa de malogro de ovos em agregações maiores. Devido ao fato da alimentação gregária estar diretamente relacionada com a agregação de ovos (Courtney, 1984), estudos futuros que considerarem a tomada de decisão por fêmeas em período de oviposição e suas consequências no desenvolvimento larval serão extremamente importantes (Fordyce, 2005). Em algumas espécies de insetos, a oviposição em agregados pode ser uma estratégia de economia, de tempo e energia, na procura por sítios de oviposição (Courtney, 1984), sendo a predação uma forte pressão seletiva não só para os ovos, mas para as fêmeas em período reprodutivo.

5. EFEITO DO TAMANHO DA AGREGAÇÃO LARVAL DE *Ascia monuste orseis* NO ATAQUE POR INIMIGOS NATURAIS EM CAMPO

5.1. INTRODUÇÃO

Entre os mais importantes custos associados à vida em grupo está o aumento da conspicuidade e da vulnerabilidade dos indivíduos a inimigos naturais (Hamilton, 1971; Anderson & Wiklund, 1978; Caraco & Pulliam, 1984; Vulinec, 1990). Um predador que detecta a presa principalmente através de estímulos visuais, por exemplo, enxergará mais facilmente grupos grandes de presas do que pequenos. Agregações pupais do tricóptero *Rhyacophila vao,* por exemplo, atraem uma maior quantidade de predadores (Wrona & Dixon, 1991). Por outro lado, grandes agregações larvais do lepidóptero *Euphydryas phaeton* apresentam menores taxas de parasitismo do que agregações pequenas (Stamp, 1981).

Muitos mecanismos foram propostos na tentativa de explicar por que os membros de um grupo beneficiam-se a respeito do reduzido risco de predação e parasitismo (Inman & Krebs, 1987). Esses mecanismos incluem a redução do encontro *per capita* por predadores e o efeito da diluição (Turchin & Kareiva, 1989; Wrona & Dixon, 1991; Mooring & Hart, 1992; Burger & Gochfeld, 2001; Jensen & Larsson, 2002; Bothan *et al.*, 2005). O efeito da diluição baseia-se no fato de que a atração do predador pelas presas não aumenta em proporção ao número de indivíduos do grupo. Com isso, o risco de predação *per capita* diminui. Larvas de *Thaumetopoea pinivora* (Tr.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), por exemplo, apresentam maior taxa de sobrevivência individual quando em grandes agregações do que em pequenas na presença de predadores (Ronnäs *et al.,* 2010). Portanto, as agregações somente serão benéficas se elas não forem grandes o bastante a ponto de atrair sobremaneira a atenção dos predadores e se a capacidade de predação dos predadores não abranger o tamanho do grupo (i.e. nem todos os membros do grupo forem consumidos).

Em insetos, o menor risco de predação em grupos pode se dar não só pelo efeito da diluição, mas também pelo aumento da cooperação na defesa, aumento da coloração de alarme ou aumento da vigilância (Aldrich & Blum, 1978; Foster &

Treherne, 1981; Sillén-Tullberg & Leimar, 1988; McClure & Despland, 2011). A eficiência dessa proteção pode variar dependendo do tamanho do grupo, dos predadores, da idade e do tamanho das presas.

Predadores invertebrados são importantes causadores de mortalidade em larvas de lepidópteros (Montllor & Bernays, 1993). Os parasitoides são insetos cujas larvas desenvolvem-se sobre ou dentro dos corpos de outros artrópodos e a alimentação das larvas do parasitoide resulta na morte do hospedeiro (Godfray, 1994). Portanto, em termos de dinâmica populacional, os parasitoides agem como predadores (Weseloh, 1993). Parasitoides diferem dos predadores invertebrados porque eles são menores e completam pelo menos uma geração de cada geração em seu hospedeiro (Vinson 1976). É provável que diversos fatores associados ao ato de alimentação influenciem a mortalidade de larvas, especialmente a exposição durante a movimentação no sítio de alimentação e os danos causados nas folhas, as quais servem como pistas a alguns inimigos (Vinson 1976; Hassel & Southwood, 1978; Price *et al.,* 1980; Bernays, 1989). Uma gama considerável de estudos acerca de padrões alimentares em lepidópteros tem sido realizada em laboratório sob uma perspectiva bi-trófica (planta-herbívoro) (Fitzgerald & Visscher, 1996; Despland & Hamzeh, 2004; Santana *et al.,* 2011). Contudo, o terceiro nível trófico pode utilizar como pistas para o ataque tanto a sequência quanto a duração de comportamentos associados à alimentação de insetos herbívoros (Stamp & Casey, 1993; Bernays 1997; Bernays & Woods, 2000). É provável que a caracterização do comportamento de muitas espécies de larvas revele uma variedade de estratégias de forrageamento, refletindo a variedade de pressões seletivas, inclusive a predação por artrópodes (Montllor & Bernays, 1993).

Larvas de *A. monuste orseis* foram observadas sendo predadas ou parasitadas por invertebrados (Penteado-Dias, 1986; Picanço *et al.,* 1998) em campo, mas o papel da agregação larval na defesa dos indivíduos da agregação, bem como a identidade dos inimigos naturais correspondentes permanecem desconhecidas nesta espécie. Além disso, não se sabe se essas larvas apresentam comportamentos de defesa contra seus predadores invertebrados. Dada a evidente importância dos predadores invertebrados como agentes diretos e indiretos da mortalidade em larvas, o objetivo deste capítulo foi examinar se o tamanho das agregações larvais influencia na taxa de

predação e parasitismo das larvas em campo e se os inimigos naturais de *A. monuste orseis* variam em composição e densidade dependendo do tamanho e da ontogenia do grupo. A possibilidade de um dado comportamento do grupo resultar em maior ataque por inimigos naturais também foi avaliada, bem como um padrão comportamental defensivo em resposta aos inimigos naturais. A hipótese principal é de que a agregação larval em *A. monuste orseis* diminui os riscos de ataque *per capita* pelos inimigos naturais, aumentando as chances de sobrevivência de larvas em agregações maiores.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

Um canteiro de 3 fileiras com 15 plantas de couve (AG20) cada uma (ver detalhe do canteiro experimental na Figura 1.2) foi plantado próximo às dependências do Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo. As fileiras distanciaram-se aproximadamente 1,25 m uma da outra, tendo 50 cm de distância entre as plantas de cada fileira. Quando as plantas estavam com aproximadamente 1m de altura (± 3 meses de idade), posturas de *A. monuste orseis* foram esperadas para o início dos experimentos.

Os experimentos ocorreram de janeiro a abril de 2011, totalizando 82 dias de experimento. Foram estabelecidos tratamentos de 1, 10 e 50 larvas cada um, através da manipulação igualitária das larvas após a eclosão. Em nenhum grupo foi adicionado larvas de tratamentos externos; a formação dos tratamentos ocorreu somente pela retirada de larvas sobressalentes ao tamanho do grupo pretendido, com o uso de uma pinça entomológica. Os tratamentos foram formados entre 4 a 24 horas após a eclosão, pois se esperou a ingestão do córion pelas larvas e a prática do canibalismo de ovos e/ou de larvas recém-eclodidas, quando fosse o caso. Vale ressaltar que, em condições de campo e nos meses de desenvolvimento dos experimentos, o 1º instar durou aproximadamente quatro dias (A.F.K. Santana, observações pessoais), tornando possível a formação dos grupos nesse intervalo (4 a 24 horas após a eclosão). A temperatura e a umidade relativa foram medidas a 1m do solo no canteiro experimental através de um termohigrômetro digital (Equitherm); as temperaturas variaram de 25°C

no início das observações alcançando um pico de 40°C até o fim das observações e a umidade variou de cerca de 70% no início a 50% no fim das observações.

Permanência das larvas

Observações diárias foram realizadas para o registro do número de larvas em cada tratamento e instar correspondente. A coleta desses dados foi realizada para a montagem de uma curva de permanência das larvas na planta original como indicativo da sobrevivência das mesmas (n=27, 23 e 14 para os tratamentos 1, 10 e 50, respectivamente) em condições naturais.

Inimigos naturais e respectivas frequências de ataque

Para determinar a identidade dos inimigos naturais, as respectivas frequências de ataque aos diferentes tamanhos de agregações larvais, bem como sua variação durante a ontogenia de larvas de *A. monuste orseis* foram realizadas observações contínuas (*sensu* Altmann,1974) por 4 horas (9h às 13h) nos diferentes tratamentos. O tempo de observação foi determinado de acordo com o pico de atividade diária dos predadores e parasitoides de *A. monuste orseis* em campo (Penteado-Dias, 1986; Mariscal & Trigo, dados não publicados). Foram registrados os inimigos naturais que: a) aproximaram-se num espaço de 30 cm e b) dirigiram-se à agregação e predaram ou parasitaram. Além disso, no momento do evento de ataque, foi observada a ocorrência ou não de comportamento antipredatório/parasita e, se existente, qual seria este. A prioridade foi a não interrupção das observações para a coleta dos inimigos naturais de forma que, quando possível, os mesmos foram fotografados e/ou coletados após os eventos de ataque.

Observações contínuas ocorreram em 10 coortes por tratamento, onde todos os ínstares foram observados. Caso ocorresse mortalidade / desaparecimento massivo de um dado grupo que compunha uma repetição de quaisquer tratamentos, a mesma era dada por encerrada. As larvas foram mantidas sempre no mesmo lugar desde o primeiro instar, ou seja, continuamente expostas às intempéries naturais, bem como aos inimigos naturais. Os tratamentos foram lançados concomitantemente no período

de janeiro a abril de 2011 a fim de fixar o fator temporal e picos populacionais diferenciais de inimigos naturais potenciais.

As larvas foram observadas depois da fase pós-muda e antes da prémuda, quando elas estão mais ativas. Cada evento de ataque foi definido como a inserção do ovipositor nas lagartas (para parasitoides) e como a remoção da lagarta do grupo (para outros predadores), independente se tais ações foram realizadas pelo mesmo indivíduo ou não. O observador posicionou-se a uma distância de aproximadamente 0,5 m em relação ao grupo.

Além das frequências absolutas de eventos de ataque por inimigo natural por tratamento e por ínstares, foi calculada a frequência de eventos de ataque *per capita* em cada tratamento (número total de ataques no tratamento / número total de indivíduos no tratamento. Dados do 1º, 2º e 3º ínstares foram agrupados e denominados ínstares iniciais; os dados relativos ao 4º e 5º ínstares, ínstares finais.

Padrão comportamental e riscos relativos

Durante as observações contínuas acima descritas, a duração e a frequência de eventos comportamentais das larvas de *A. monuste orseis* foram registradas em cada instar / tratamento, bem como notificados quais eventos comportamentais estavam ocorrendo quando do ataque por inimigos naturais. Quatro eventos comportamentais foram considerados, a saber: 1) Repouso: grupo imóvel (*sensu* Bernays *et al*., 2004); 2) Alimentação: ingestão da folha pelo grupo, geralmente detectada através do movimento ritmado e conjunto das cabeças (*sensu* Bernays *et al*., 2004); C) Exploração: a região anterior dos corpos que compõe o grupo oscila em todas as direções sem um deslocamento efetivo (*sensu* Despland & Hamzeh, 2004) e D) Deslocamento*:* as larvas movem o corpo todo em uma direção, o que acarreta em locomoção efetiva (*sensu* Despland & Hamzeh, 2004). Todos os comportamentos foram considerados mutualmente exclusivos.

Para determinar se os diferentes comportamentos apresentados pelas larvas diferem quanto aos riscos de ataque, os riscos relativos de cada comportamento (% ataques durante o comportamento / % tempo despendido no comportamento) foram calculados tendo como base Bernays (1997). Os dados do 1º, 2º e 3º ínstares foram

agrupados e denominados ínstares iniciais, bem como dados relativos ao 4º e 5º ínstares.

Análise de dados

. A permanência das larvas na planta hospedeira original nos diferentes tratamentos foi comparada pelo teste de Kruskal-Wallis e, quando da diferença significativa destes, posteriormente pelo teste de Comparações múltiplas de Dunn, considerado um α=0,05. As frequências de ataque de inimigos naturais por tratamentos, por ínstares e *per capita* foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado seguidas pelo teste de Risco Relativo (BioEstat 5.0) para comparações pareadas entre os tratamentos. Na análise entre as frequências de ataque por ínstares (Tabela 5.3), os tratamentos foram agrupados. Para as análises dos riscos relativos de cada evento comportamental da agregação, o teste Qui-quadrado de aderência também foi utilizado para comparações múltiplas entre os tratamentos, pela inadequação do parâmetro risco relativo ao padrão de dados para testes binomiais (número de eventos/tamanho da amostra). Todas as comparações pareadas tiveram o α ajustado quanto à correção de Bonferroni, de acordo com o numero de comparações.

5.3. RESULTADOS

Permanência das larvas

A permanência das larvas na planta hospedeira original foi semelhante entre os tratamentos até o 4º instar [Kruskal-Wallis, p=0,29 (1º instar); p=0,28 (2º instar); p=0,58 (3º instar) e p=0,06 (4º instar)] (Figura 5.1 A, B, C e D respectivamente). No 5º instar, um número significativamente maior de larvas do tratamento 50 permaneceu na planta comparado às solitárias (Testes múltiplos de Dunn; p=0,007) (Figura 5.1 E).

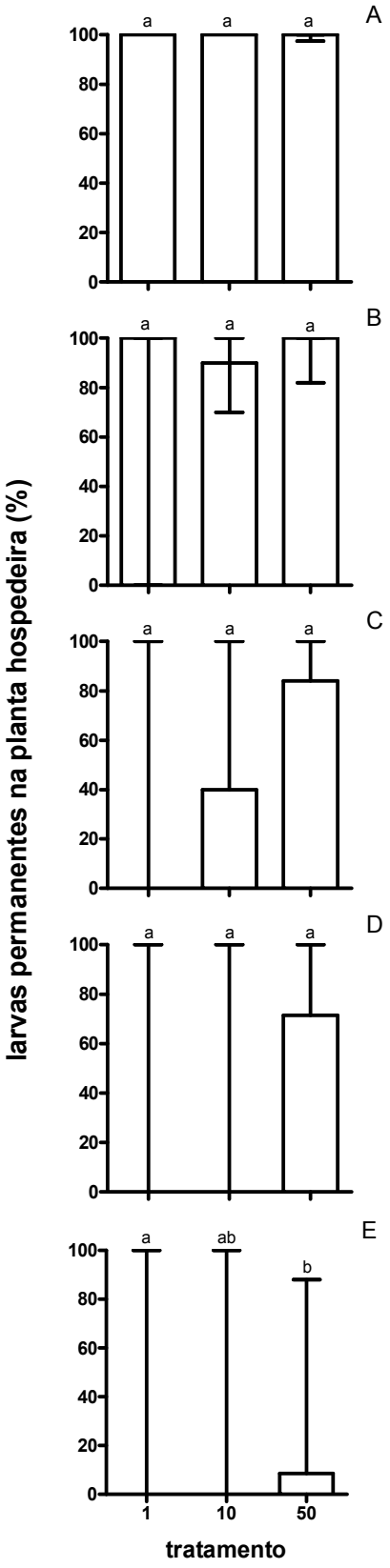

Figura 5.1 Frequência relativa de larvas permanentes (mediana e quartis) de *A. monuste orseis* dos diferentes tamanhos de agregações larvais na planta hospedeira original no (**A**) 1º, (**B**) 2º, (**C**) 3º, (**D**) 4º e (**E**) 5º instar. N=27, 23 e 14 agregações respectivamente para os tratamentos 1, 10 e 50. Num mesmo gráfico, letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa entre os tratamentos. Testes múltiplos de Dunn, $p<0,05$.

Inimigos naturais e respectivas frequências de ataque

Uma grande variedade de animais foi observada forrageando próxima e na superfície das folhas de couve. Dentre estes, dípteros sirfídeos (*Alograta* sp.), muscídeos e taquinídeos, bem como hemípteros e coleópteros, não foram observados interagindo diretamente com as larvas de *A. monuste orseis*. Os animais observados atacando *A. monuste orseis*, e respectivas caracterizações taxonômicas, estão sumarizados na tabela 5.1.

Tabela 5.1 Caracterização taxonômica dos inimigos naturais de *A. monuste orseis.*

Inimigos naturais	Táxon
Vespas parasitoides (Braconidae)	*Cotesia* sp. (Cameron, 1891)
Vespas predadoras (Vespidae)	*Polybia ignobilis (Haliday, 1936)*
Formigas (Formicidae)	*Pachycondyla obscuricornis* (Emery, 1890)
	Solenopsis invicta (Buren, 1972)
	Pheidole obscurithorax (Naves, 1985)
Hemípteros (Pentatomidae) *	*Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851)
Aranhas (Theridiidae)	*Anelosimus sp.* (Simon, 1891)
Aves (Tyrannidae) **	*Pitangus sulphuratus* (Linnaeus, 1766)

*Observado atacando uma agregação de 27 larvas de 5º instar, não inclusa nos tratamentos (Figura 5.2 D)

**Observado atacando uma agregação de 33 larvas de 5º instar, não inclusa nos tratamentos.

O ataque às larvas de *A. monuste orseis* por *Cotesia* sp. (Figura 5.2 A e B) caracterizou-se pelo pouso próximo à agregação ou larva e posterior inserção do ovipositor no corpo da larva. O comportamento de reinserção do ovipositor por vezes ocorreu numa mesma larva. Quando um dado parasitoide se aproximava das larvas, estas respondiam à presença do parasitoide ficando imóveis. Quando atacada, a larva movimentava rapidamente a região anterior do corpo, em movimentos ventro-dorsal. Quando uma larva apresentava tal comportamento, as outras larvas da agregação apresentavam o mesmo padrão comportamental. Esse comportamento sincronizado realizado pela agregação mostrou-se efetivo no afastamento dos parasitoides.

Vespas e formigas (Figura 5.2 F, G e H) capturaram as larvas pelas mandíbulas e na maior parte das vezes isso resultou na morte das mesmas. Larvas pequenas foram carregadas inteiras por esses predadores, já larvas maiores foram primeiramente retalhadas e a coleta das partes retalhadas foi realizada por partes. Grupos de *S. invicta* conseguiam carregar uma larva grande ao ninho sem a necessidade de retalhação prévia. Vespas retalharam as larvas numa seção longitudinal (Figura 5.2 C), enquanto as formigas, transversal. A resposta das larvas ao ataque de formigas e vespas predadoras nesse caso consistiu no escape, independente do tamanho do grupo e da idade das larvas, através do rápido deslocamento do lugar onde as larvas estavam inicialmente. De maneira geral, apenas uma larva da agregação era atacada e morta pelas formigas e vespas, sendo a rápida dispersão das outras larvas da agregação uma estratégia eficiente contra a predação. Foi observada também a queda de larvas da planta, deixando-as suscetíveis ao ataque de outros predadores no solo. Uma vez no chão, larvas mais velhas demonstraram maior poder de locomoção e retorno à planta, enquanto larvas jovens raramente retornavam à planta.

Detalhes dos ataques de *Anelosimus* sp. (Figura 5.2 E) foram difíceis de serem visualizados, devido à proximidade da aranha das larvas e aparente imobilidade do sistema predador-presa. Provavelmente, houve a aproximação e a inoculação da toxina pelas quelíceras, seguido de imobilização e morte das larvas. Nesse caso, não foi observado comportamento defensivo pelas larvas.

Figura 5.2 Inimigos naturais de *A. monuste orseis* observados no canteiro experimental*:* **A**) Pré-pupas de *Cotesia* sp. emergindo de larva de 5º instar; **B**) *Cotesia* sp. (adulto) em larva de 2º instar; **C**) *Polybia ignobilis* retalhando larva de 4º instar*;* **D**) *Podisus nigrispinus* atacando larva de 5º instar; **E**) *Anelosimus* sp. em larva de 2º instar; **F**) *Pachycondyla obscuricornis* após retalhação de larva de 5º instar; **G**) *Solenopsis invicta* carregando larva de 2º instar supostamente ao ninho e **H**) *Pheidole obscurithorax* carregando larva de 5º instar supostamente ao ninho.

De maneira geral, mais ataques ocorreram às larvas gregárias do que às larvas isoladas (Tabela 5.2). Vespas parasitoides parasitaram mais larvas em agregações do que larvas solitárias (T1 vs T10: risco relativo=0,08; p<0,0001; T1 vs T50: risco relativo=0,08; p<0,0001; T10 vs T50: risco relativo=0,92; p=0,33), sendo que todos os ataques por parasitoides ocorreram nos ínstares iniciais (Tabela 5.2 e 5.3). Já vespas predadoras e formigas atacaram somente larvas gregárias (Tabela 5.2), tendo concentrado os ataques nos ínstares finais (Tabela 5.3). Os ataques de aranha foram concentrados em larvas da maior agregação (Tabela 5.2), nos ínstares iniciais (Tabela 5.3).

Tabela 5.2 Frequência absoluta de eventos de ataques* às larvas de *A. monuste orseis* por inimigos naturais em ínstares iniciais e finais em função do tamanho da agregação (tratamento). Ínstares iniciais: 1º, 2º e 3º; instares; instares finais: 4º e 5º. Números entre parênteses representam a frequência relativa de ataques por tratamento / ínstares. Para estatística acerca das comparações pareadas, ver texto.

Inimigo Natural	Ínstares	Tratamento			Estatística
		1	10	50	
Vespa Parasitoide	Iniciais	4 (3,85)[a]	48 (46,15)[b]	52 (50)[b]	χ^2 =38,96; gl = 2; p < 0,0001
	Finais	0 (0)[a]	0 (0)[a]	0 (0)[a]	χ^2 = 0,00; gl = 2; p > 1,00
Vespa Predadora	Iniciais	0 (0)[a]	1 (100)[b]	0 (0)[a]	χ^2=194,12; gl = 2; p < 0,0001
	Finais	0 (0)[a]	0 (0)[a]	3 (100)[b]	χ^2=194,12; gl = 2; p < 0,0001
Formiga	Iniciais	0 (0)[a]	1 (100)[b]	0 (0)[a]	χ^2=194,12; gl = 2; p < 0,0001
	Finais	0 (0)[a]	0 (0)[a]	8 (100)[b]	χ^2=194,12; gl = 2; p < 0,0001
Aranha	Iniciais	0 (0)[a]	0 (0)[a]	2 (100)[b]	χ^2=194,12; gl = 2; p < 0,0001
	Finais	0 (0)[a]	0 (0)[a]	0 (0)[a]	χ^2 = 0,00; gl = 2; p > 1,00

*podem ocorrer no mesmo indivíduo.

Tabela 5.3 Frequência absoluta de eventos de ataques* às larvas de *A. monuste orseis* por inimigos naturais em função da ontogenia. Ínstares iniciais: 1º, 2º e 3º; instares; instares finais: 4º e 5º. Números entre parênteses representam a frequência relativa de ataques por ínstares.

Inimigo natural	Ínstares		Estatística
	Iniciais	Finais	
Vespa parasitoide	104 (100)[a]	0 (0)[b]	χ^2 =100,00; gl = 1; p < 0,0001
Vespa predadora	1 (25)[a]	3 (75)[b]	χ^2 =25,00; gl = 1; p < 0,0001
Formiga	1 (0,09)[a]	8 (99,91)[b]	χ^2 =100,00; gl = 1; p < 0,0001
Aranha	2 (100)[a]	0 (0)[b]	χ^2 =100,00; gl = 1; p < 0,0001

*podem ocorrer no mesmo indivíduo.

A frequência de ataques *per capita* por inimigos naturais em *A. monuste orseis* (14,29%, 18,25% e 4,52%, respectivamente nos tratamentos 1, 10 e 50) variou segundo o tamanho da agregação larval (χ^2=8,66; gl=2; p=0,01). Apesar do maior número absoluto de ataques em agregações maiores, larvas pertencentes ao tratamento com 50 indivíduos apresentaram menor risco de ataque *per capita* do que os outros tratamentos (T1 vs T10: Risco relativo=0,78; p=0,39 / T1 vs T50: Risco relativo=3,16; p=0,02 / T10 vs T50: Risco relativo=4,04; p<0,0001, sendo α=0,01 de acordo com a correção de Bonferroni), indicando que o risco de morte individual diminuiu com o aumento do tamanho da agregação larval.

Padrão comportamental e riscos relativos

De um modo geral, as larvas passaram cerca de metade do tempo em repouso (50%) e a outra metade foi dividida entre alimentação (25%), exploração (20%) e deslocamento (5%) (Figura 5.3). Quando analisada a frequência da ocorrência dos eventos comportamentais, exploração, repouso e alimentação foram também mais frequentes do que o deslocamento (Figura 5.4). De maneira geral, larvas gregárias realizaram os comportamentos de exploração, repouso e alimentação com maior frequência que larvas solitárias. O deslocamento, por outro lado, foi mais frequente em larvas solitárias iniciais.

Os movimentos das plantas pela ação dos ventos e da chuva e a aproximação de dípteros, hemípteros, coleópteros e outros artrópodes interferiram no comportamento das larvas em todos os tratamentos, mas de maneira pontual.

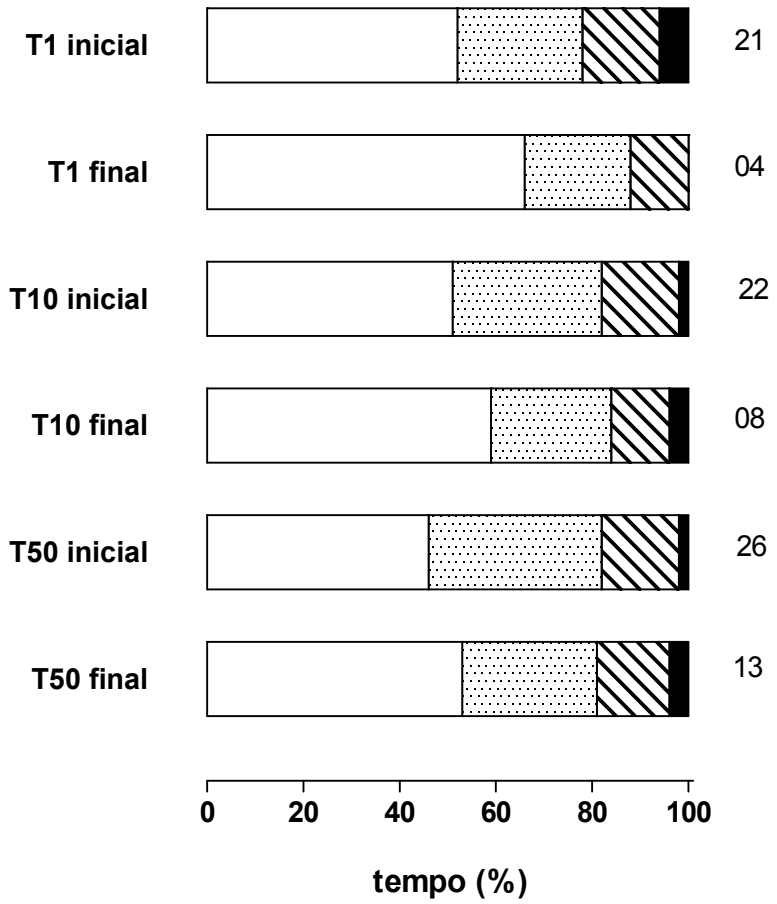

Figura 5.3 Duração relativa aproximada do tempo despendido em cada comportamento por lagartas de *A. monuste orseis* frente aos diferentes tratamentos e ontogenia. Repouso (branco), Alimentação (pontilhado), Exploração (tracejado diagonal), Deslocamento (preto). Números à direita representam o número de larvas por tratamento / categoria ontogenética. A letra T seguida de números denota o tratamento e respectivo número de larvas iniciais em cada um. Categoria inicial: 1º, 2º e 3º ínstares; Categoria final: 4º e 5º ínstares (baseado em Bernays *et al*. 2004).

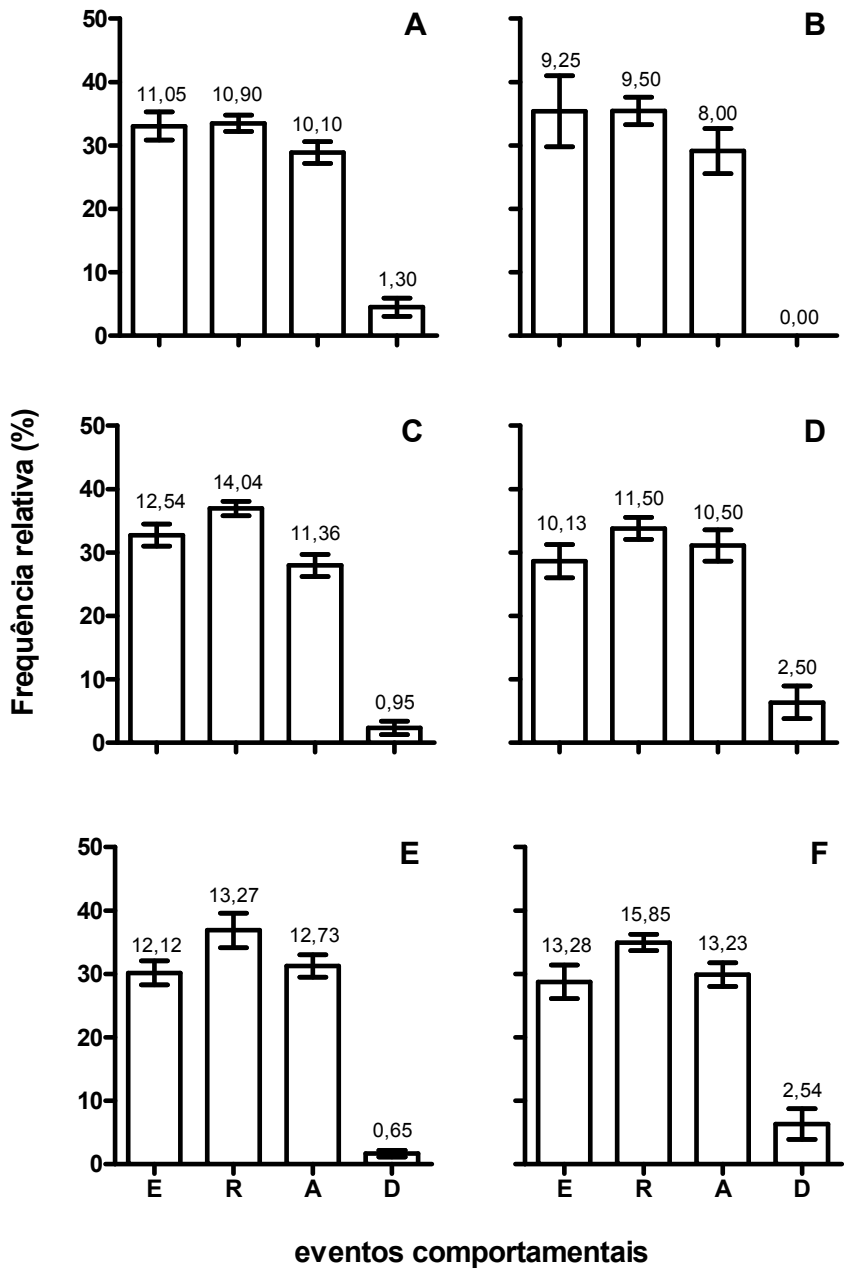

Figura 5.4 Frequência relativa (média ± erro padrão) de eventos comportamentais (E=exploração, R=repouso, A=alimentação e D=deslocamento) de larvas de *A. monuste orseis* em diferentes tamanhos de agregações (**A** e **B** = tratamento 1; **C** e **D** = tratamento 10; **E** e **F** = tratamento 50) e ínstares (primeira coluna de gráficos = ínstares iniciais, segunda coluna de gráficos = ínstares finais). Número acima das barras representam a frequência absoluta média da ocorrência de cada evento comportamental.

Os diferentes comportamentos apresentados pelas larvas diferiram em relação aos riscos relativos de ataque (Tabela 5.4). O comportamento mais perigoso para larvas solitárias iniciais e em agregações de 10 indivíduos foi o exploratório [R vs E, χ^2= 27.75; gl=1; p<0,0001 (T1) e A vs R=17,31; gl=1; p<0,0001, A vs E=48,37; gl=1; p<0,0001, R vs E=11,35; gl=1; p=0,0008 (T10)]. Já em larvas iniciais em agregações de 50, a alimentação foi mais perigosa do que os outros comportamentos (A vs R=13,10; gl=1; p=0,0003, A vs E=5,93; gl=1; p=0,01, R vs E=1,5; gl=1; p=0,21). Em larvas avançadas em agregações de 50, o comportamento mais perigoso foi o exploratório (A vs R=1,87; gl=1; p=0,17, A vs E=46,77; gl=1; p<0,0001, R vs E=60,07; gl=1; p<0,0001).

Tabela 5.4 Risco relativo de ataques* às larvas de *A. monuste orseis* por inimigos naturais em função dos eventos comportamentais e da ontogenia larval. Ínstares iniciais: 1º, 2º e 3º; ínstares finais: 4º e 5º. Para estatística acerca das comparações pareadas, ver texto.

Evento comportamental	T1		T10		T50	
	Ínstares		Ínstares		Ínstares	
	iniciais	finais	iniciais	finais	iniciais	finais
Alimentação	0,00	0,00	5,67[a]	0,00	50,75[a]	13,45[a]
Repouso	23,66[a]	0,00	30,80[b]	0,00	20,25[b]	7,22[a]
Exploração	76,34[b]	0,00	63,53[c]	0,00	29,00[b]	79,33[b]
Deslocamento	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Estatística **	χ^2= 155,50; gl=1; p<0,0001	χ^2 = 0,00; gl=3; p>1,00	χ^2= 100,67; gl=2; p<0,0001	χ^2 = 0,00; gl=3; p>1,00	χ^2= 53,06; gl=2; p<0,0001	χ^2= 161,05; gl=2; p<0,0001

*considerando a escala arbitrária de 0-100.

**os graus de liberdade são diferentes nos diferentes testes porque os comportamentos cujos riscos relativos foram nulos foram retirados da amostra, para que fosse possível a realização do teste de Qui-quadrado.

5.4. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo dão suporte à hipótese de que grandes agregações larvais de *A. monuste orseis* diminuem os riscos de ataque por predação e parasitismo dos indivíduos do grupo e, assim, aumenta a taxa de permanência dessas larvas na planta original. Esses dados estão de acordo com outros estudos em lepidópteros (Hunter, 2000; Reader & Hochuli, 2003; McClure & Despland, 2011) e

constituem uma clara evidência de que larvas em agregações de diferentes tamanhos são distintamente protegidas contra os inimigos naturais.

Cotesia sp., *P. nigrispinus e P. ignobilis* tinham sido anteriormente descritas como importantes reguladoras de populações de larvas de *A. monuste orseis* (Penteado-Dias, 1986; Picanço *et al.* 1997; Gobbi & Machado, 1986) em campo. Pássaros também são importantes reguladores de populações de adultos de *A. monuste orseis* (Pough & Brower, 1977), mas não tinham sido observados anteriormente predando larvas. Formigas e aranhas também foram novos grupos de predadores encontrados para essas larvas. Aranhas têm sido reportadas na literatura como importantes predadores generalistas; dípteros e colembolos compõe a maior parte de sua dieta, enquanto besouros, gafanhotos, hemípteros, borboletas e lagartas são geralmente evitados por estes aracnídeos (ver Foelix, 1996). Isso explica por que apesar da grande diversidade de aranhas observadas no canteiro de couve do presente experimento, somente dois eventos de uma única espécie de aranha foi observada realmente atacando lagartas de *A. monuste orseis*.

Um maior número de ataques por vespas parasitoides aconteceu em agregações maiores, pois o mesmo parasitoide tinha a chance de atacar mais de uma lagarta por grupo. Entretanto, apesar dos ataques múltiplos, os ataques *per capita* foram menores para lagartas em agregações. Esse benefício individual pode acontecer pela amplificação do comportamento de defesa do grupo, alertando as outras larvas da presença do parasitoide. Mesmo a larva anteriormente atacada pode ser beneficiada, pela dificuldade de retorno do parasitoide à agregação após a realização conjunta do comportamento de defesa. O comportamento de defesa apresentado pelo grupo provavelmente aumenta a dificuldade das vespas em atacar todas as larvas do grupo. A realização do comportamento de defesa conjunto pode acontecer por contato/vibração ou pela liberação de químicos pelos coespecíficos, quando detectam ou são capturados por predadores (feromônios de alarme) (Chivers & Smith, 1998). O efeito da diluição, então, funciona em conjunto com o comportamento de defesa do grupo: apesar das agregações larvais serem mais facilmente detectadas pelos inimigos naturais, movimentos defensivos diminuem a taxa ou o sucesso dos ataques, aumentando a

proteção individual. A defesa conjunta da agregação deve ser o mecanismo por onde o efeito da diluição age (Hunter, 2000).

A vulnerabilidade das larvas aos diferentes inimigos naturais relacionou-se não só com o tamanho da agregação, mas, principalmente, com a ontogenia das larvas. Enquanto vespas parasitoides e aranhas atacaram somente larvas em ínstares iniciais, vespas predadoras e formigas atacaram tanto larvas em ínstares iniciais como em finais, sendo que estes predadores concentraram seus ataques em larvas de ínstares finais. A variação na composição dos inimigos naturais durante a ontogenia das larvas é, provavelmente, reflexo do aumento de tamanho das larvas durante o desenvolvimento. Predadores pequenos são limitados às presas pequenas, enquanto predadores grandes atacam presas pequenas e grandes (Wilson, 1975, Roger *et al.,* 2003). Larvas de diferentes idades também apresentaram diferentes estratégias de defesas. A resposta defensiva diferencial esteve mais ligada à idade das larvas do que necessariamente ao tamanho da agregação ou ao tipo de predador. Larvas de todas as idades apresentam o comportamento de movimentação brusca da região anterior do corpo ("body-flicking"), verificada no presente trabalho e em outras espécies (McClure & Despland, 2011), mas enquanto larvas de ínstares iniciais adotam a estratégia da não movimentação quando da presença do inimigo, as de ínstares finais deslocam-se, em comportamento de fuga. Esses dados coincidem com os de Cornell *et al.* (1987), onde a ontogenia influenciou mais a resposta das larvas ao ataque do que o tamanho da agregação. Essa diferença se dá provavelmente devido ao custo de separação das larvas ser maior em ínstares iniciais. Nesse período, os desafios enfrentados pelas larvas no estabelecimento do sítio de alimentação são maiores (Zalucki *et al.,* 2002) do que os de em ínstares finais e o deslocamento poderia levar ao desmembramento do grupo, deixando as ainda mais vulneráveis.

Apesar da falta de quantificação da eficiência do comportamento de defesa pelas larvas de *A. monuste orseis*, houve de fato casos em que o comportamento do grupo foi eficaz na defesa dos indivíduos do grupo. Em um dos ataques de *Cotesia* sp., o comportamento de defesa foi vigoroso o bastante a ponto de não só afastar o parasitoide, como causar sua morte por afogamento, por ele ter caído numa poça de água formada na folha. Mas há contrapartidas a esse comportamento defensivo:

algumas vespas parasitoides chegavam perto da postura e não atacavam instantaneamente. Esperavam determinado momento até que o processo de oviposição no hospedeiro fosse rápido e pontual.

O padrão de alimentação encontrado para larvas de *A. monuste orseis* concorda com o de outras espécies de lepidópteros solitários (Reynolds *et al.,* 1986; Bernays & Woods, 2000; Bernays *et al.*, 2004) em que larvas de ínstares finais alimentaram-se por aproximadamente 1/3 do tempo. Isso indica um padrão de alimentação mais fortemente coordenado por uma oscilação neural endógena (Bernays & Woods, 2000) do que pelo tamanho do grupo das larvas. Mas há certamente uma influência do comportamento das larvas vizinhas na frequência de realização de cada comportamento. De maneira geral, cada comportamento apresentado por larvas gregárias foram mais curtos em duração do que os apresentados por larvas solitárias, o que resultou em maior frequência de eventos relacionados a certo tipo de comportamento no período observado. Essa “contaminação” por comportamentos vizinhos pode ser um subproduto do comportamento de defesa de larvas gregárias, mas que facilita a comunicação entre as larvas do grupo. Essa contaminação pode explicar também porque agregações larvais de *A. monuste orseis* mostraram menor ingestão do alimento que larvas solitárias (ver resultados capítulo três); mudanças comportamentais frequentes podem resultar em maiores interrupções na ingestão do alimento.

O fato de larvas solitárias de ínstares iniciais deslocarem-se mais do que larvas gregárias pode indicar a procura inata por coespecíficos. Em outras espécies gregárias, o comportamento exploratório também aumentou quando as larvas forragearam solitariamente (Fitzgerald & Vissher, 1996). Isso pode ser um indicativo da capacidade de larvas de *A. monuste orseis* em detectar feromônios de coespecíficos. Agregações larvais de lepidópteros do gênero *Malacosoma* sp. mantem-se coesas devido ao efeito de feromônios (Fitzgerald & Costa, 1986), sendo a deposição do feromônio concomitantemente à deposição de seda pelas larvas, mantendo as larvas coesas pelo efeito dessa transmissão química (Fitzgerald & Peterson, 1988). O depósito de seda também serve de base de sustentação para todo o grupo (Despland & Le Huu, 2007). A deposição de seda quando a larva está sozinha é menor do que quando está em grupos e essa base de sustentação fica, então, prejudicada para larvas solitárias, bem

como a detecção química do feromônio nela depositada (Despland & Le Huu, 2007). A menor taxa de permanência de larvas solitárias em comparação à de larvas gregárias, encontrada no presente trabalho, pode ser devido à esta diminuição na produção de seda, prejudicando o estabelecimento de larvas solitárias no hospedeiro. Experimentos prévios mostraram que larvas de *A. monuste orseis* seguem trilhas de seda depositadas por larvas coespecíficas (A.F.K. Santana, observações pessoais), mas ainda não foi estabelecido se trilhas químicas estão envolvidas. De fato, os desaparecimentos das larvas frequentemente ocorreram após períodos de chuva e é provável que essas larvas tenham caído das plantas nesse período sem conseguir retornar à planta hospedeira. Como larvas de *A. monuste orseis* evoluíram num contexto gregário, é provável que algum tipo de comunicação química também exista entre larvas coespecíficas desta espécie.

De maneira geral, os comportamentos de exploração e alimentação – embora menos duradouros que o repouso - foram os mais perigosos para larvas de *A. monuste orseis* comparado com repouso e deslocamento, pois os riscos de serem predadas durante esses comportamentos foram maiores, tanto em larvas iniciais como finais. Estes resultados concordam com o obtido em larvas de Lepidoptera de hábito solitário no tocante à alimentação ser mais perigosa (Bernays, 1997), mas discordam em relação ao deslocamento *per se* constituir um perigo (ver Bergelson & Lawton, 1988). Como nenhum ataque foi registrado às larvas de *A. monuste orseis* durante o deslocamento, conclusões acerca desse comportamento não podem ser generalizadas. O repouso seria um comportamento seguro para larvas de *A. monuste orseis*, independente se a larva forrageia sozinha ou em grupo. A grande proporção de repouso observada durante o forrageamento dessas larvas em campo pode ser, portanto, um importante componente de estratégia alimentar de *A. monuste orseis*, assim como de outras larvas de lepidópteros (Bernays, 1997).

Concluímos que o desenvolvimento larval em agregações constitui uma proteção às larvas de *A. monuste orseis* contra predadores e parasitoides, não pela redução dos ataques às agregações, mas através do efeito da diluição do ataque entre os indivíduos do grupo. A existência de comportamentos de defesa realizados em grupo provavelmente auxilia na proteção das larvas contra o ataque dos predadores. Além

disso, os inimigos naturais de *A. monuste orseis* variam conforme a ontogenia das larvas, independente do tamanho da agregação. Os inimigos naturais desta espécie formam, portanto, uma forte pressão seletiva na manutenção da agregação larval durante a ontogenia, conferindo uma maior probabilidade de sobrevivência individual em agregações maiores. Por fim, semelhantemente a espécies de hábito solitário, eventos comportamentais que envolvem movimentação da cabeça como exploração e alimentação são mais perigosos para as larvas de *A. monuste* em comparação ao repouso e deslocamento.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As hipóteses em relação às vantagens da agregação larval em *A. monuste orseis* foram comprovadas neste trabalho. Larvas gregárias apresentaram melhor performance, maior economia na utilização dos recursos alimentares e maior proteção *per capita* contra inimigos naturais que larvas solitárias. Além disso, a eclosão de larvas em posturas intermediárias foi maior do que em agregações pequenas.

Consumir alimento suficiente para o crescimento e reprodução enquanto evita-se os perigos da predação é uma demanda conflitante enfrentada por diversos organismos (McPeek, 2004). Uma maior atividade de exploração e alimentação, por exemplo, recompensa os animais com um maior consumo de alimento, mas pode ser arriscado à medida que aumenta a sua exposição aos predadores. A agregação larval em *A. monuste orseis* resolve esse dilema de maneira brilhante, pois larvas gregárias obtêm uma performance adequada consumindo menos alimento e, consequentemente, expondo-se menos à predação. Além disso, a maior capacidade de produção de oócitos por larvas gregárias comparada às solitárias confere maior aptidão reprodutiva de larvas em agregações.

A maior taxa de eclosão e o menor tempo de desenvolvimento de larvas gregárias, principalmente nos ínstares iniciais, evidencia a importância da agregação larval em *A. monuste orseis* especialmente nas fases de ovo e primeiros ínstares, visto que desvantagens da agregação também ocorrem nos ínstares finais. Nesse sentido, a sobrevivência nesses estágios do desenvolvimento é um benefício extremamente importante para a espécie (Zalucki *et al.,* 2002). Como previsto por Krause (1994), os benefícios em pertencer a uma agregação não foram igualmente compartilhados entre os indivíduos do grupo. Para que a proteção individual na agregação ocorra, por exemplo, há o sacrifício de algumas larvas em benefício de suas irmãs. Apesar disso, a maior permanência das larvas (i.e. sobrevivência) de agregações maiores leva a uma maior aptidão das agregações larvais frente às larvas solitárias.

As características dos tecidos foliares são pressões seletivas para a agregação de herbívoros ou ela é função de consequências não nutritivas da ontogenia, como a agregação de ovos, termorregulação e/ou comportamentos de defesa contra inimigos

naturais (Hochuli, 2001). Muitos pesquisadores tem um especial interesse em elucidar as origens do hábito de oviposição em agregações em Lepidoptera, pelo fato da agregação larval ser primordialmente uma consequência da evolução da agregação de ovos (Courtney, 1984). O fato é que tanto a agregação de ovos como a alimentação gregária evoluíram independentemente em diversas linhagens de lepidópteros (Sillén-Tullberg, 1988) e é provável que cada uma dessas hipóteses sobre a agregação seja verdadeira para algum grupo (Fordyce, 2005).

Muitos estudos sobre o papel da agregação larval na defesa focaram-se na toxicidade e no aposematismo de lepidópteros (Stamp, 1980; Sillén-Tullberg, 1988; Hunter, 2000). No presente trabalho, foi verificado que larvas gregárias beneficiam-se na defesa pela amplificação dos comportamentos defensivos, mas pouco se sabe sobre o efeito do aposematismo nessas defesas. Larvas de *A. monuste orseis* são crípticas no início do desenvolvimento, mas tornam-se aposemáticas nos ínstares finais (A.F.K.S. observações pessoais). Lacunas no estudo da agregação larval nesta espécie podem ser preenchidas pelo estudo do efeito do aposematismo nas defesas. Além disso, feromônios na agregação podem evoluir quando os indivíduos beneficiam-se da agregação (Wertheim *et al.,* 2005). A presença de feromônios na seda, a comunicação química e a possível presença de defesas químicas e seus respectivos funcionamentos são outros possíveis estudos a serem realizados com larvas de *A. monuste orseis.*

Estudos com artrópodos pressociais fornecem pistas acerca do processo evolutivo e uma melhor compreensão das condições ecológicas em que a socialidade provavelmente evoluiu. A agregação larval em insetos geralmente apresenta efeitos tanto no crescimento quanto na sobrevivência larval, de maneira que o ponto em comum na evolução da socialidade larval tem um efeito do grupo nesses dois quesitos, sendo a importância de cada um deles variável de acordo com o contexto ecológico (Costa, 2006).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, A.F. Parent-offspring coadaptation and the dual genetic control of maternal care. **Science 292**:1710-1712, 2001.

ALDRICH, J. R. & BLUM, M. S. Aposematic aggregation of a bug (Hemiptera: Coreidae): the defensive display and formation of aggregations. **Biotropica 10**:58–61, 1978.

ALEXANDER, R.D. The evolution of social behavior. **Annual Review of Ecology and Systematics 5**:325-383, 1974.

ALLEN, P.E. Group size effects on survivorship and adult development in the gregarious larvae of *Euselasia chrysippe* (Lepidoptera, Riodinidae). **Insectes Sociaux 57**:199–204, 2010.

ALTMANN, J. Observational study of behavior: sampling methods. **Behaviour 49**: 227-267, 1974.

ANDERSSON, M. & WIKLUND, C.G. Clumping versus spacing out: experiments on nest predation in Fieldfares (*Turdus piluris*). **Animal Behaviour 26**: 1207-1212, 1978.

AWMACK, C.S. & LEATHER, S.R. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. **Annual Review of Entomology 47**:817-844, 2002.

BARRET, E.L.B.; HUNT, J.; MOORE, A.J. & MOORE, P.J. Separate and combined effects of nutrition during juvenile and sexual development on female life-history trajectories: the thrifty phenotype in a cockroach. **Proceedings of the Royal Society B 276**:3257-3264, 2009.

BARROS-BELLANDA, H.C.H. & ZUCOLOTO, F.S. Influence of chorion ingestion on the performance of *Ascia monuste* and its association with cannibalism. **Ecological Entomology 26**:557-561, 2001.

BARROS-BELLANDA, H.C.H. & ZUCOLOTO, F.S. Effects of intraspecific competition and food deprivation on the immature phase of *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera, Pieridae). **Iheringia 92**:93-98, 2002.

BARROS-BELLANDA, H.C.H. & ZUCOLOTO, F.S. Importance of larval migration (dispersal) for the survival of *Ascia monuste* (Godart) (Lepidoptera: Pieridae). **Neotropical Entomology 32**:11-17, 2003.

BARROS-BELLANDA, H.C.H. & ZUCOLOTO, F. Egg cannibalism in *Ascia monuste* in the field; opportunistic, preferential and very frequent. **Journal of Ethology 23**:133-138, 2005.

BARTON-BROWNE, L. Ontogenetic changes in feeding behavior. Pp.307-342. In: Chapman, R.F. & Boer, G. (eds.). **Regulatory mechanisms of insect feeding**, Chapman & Hall, New York, 1995.

BARTON-BROWNE, L. & RAUBENHEIMER, D. Ontogenetic changes in the rate of ingestion and estimates of food consumption in fourth and fifth instar *Helicoverpa armigera* caterpillars. **Journal of Insect Physiology 46**: 63–71, 2003.

BATRA, S.W.T. Nests and social behavior of halictine bees of India (Hymenoptera: Halictidae), **Indian Journal of Entomology 28**:375-393, 1966.

BENREY, B. & DENNO, R.F. The slow-growth-high-mortality hypothesis: a test using the cabbage butterfly. **Ecology 78**:997-999, 1997.

BERGELSON, J.M. & LAWTON, J.H. Does foliage damage influence insect predation on the insect herbivores of birch? **Ecology 69**: 434-445, 1988.

BERGSTRÖM, A., JANZ, N. & NYLIN, S. Putting more eggs in the best basket: clutch size regulation in the comma butterfly. **Ecological Entomology 31**:255-260, 2006.

BERNAYS, E.A. Diet-induced head allometry among foliage-chewing insects and its importance for graminivores. **Science 231**:495-497, 1986.

BERNAYS, E.A. Host range in phytophagous insects: the potential role of generalist predators. **Evolutionary Ecology 3**:299-322, 1989.

BERNAYS, E.A. Feeding by lepidopteran is dangerous. **Ecological Entomology 22**:121-123, 1997.

BERNAYS, E.A. Evolution of feeding behavior in insect herbivores: success seen as different ways to eat without being eaten. **Bioscience 48**:35-44, 1998.

BERNAYS, E.A. & CHAPMAN, R.F. **Host-plant selection by phytophagous insects**. Chapman & Hall, New York, 312 p., 1994.

BERNAYS, E.A. & WOODS, H.A. Foraging in nature by larvae of *Manduca sexta*—influenced by an endogenous oscillation. **Journal of Insect Physiology 46**:825-836, 2000.

BERNAYS, E.A., SINGER, M.S. & RODRIGUES, D. Foraging in nature: foraging efficiency and attentiveness in caterpillars with different diet breadths. **Ecological Entomology 29**:389–397, 2004.

BIANCHI, V. & MOREIRA, G.R.P. Preferência alimentar, efeito da planta hospedeira e da densidade larval na sobrevivência e desenvolvimento de *Dione juno juno* (Cramer) (Lepidoptera, Nymphalidae). **Revista Brasileira de Zoologia 22** :43-50, 2005.

BIEDERMANN, R. Aggregation and survival of *Neophilaenus albipennis* (Hemiptera: Cercopidae) spittlebug nymphs. **European Journal of Entomology 100**:493-499, 2003.

BITTENCOURT-RODRIGUES, R.S. & ZUCOLOTO, F.S. How feeding on young and old leaves affects the performance of *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera, Pieridae). **Revista Brasileira de Entomologia 53**:102-106, 2009.

BOGGS, C.L. Dynamics of reproductive allocation from juvenile and adult feeding: radiotrancer studies. **Ecology 78**:192-202, 1997.

BOGGS, C.L. & FREEMAN, K.D. Larval food limitation in butterflies: effects on adult resource allocation and fitness. **Oecologia 144**:353-351, 2005.

BOTHAN, M.S. KERFOOT, C.J., LOUCA, V. & KRAUSE, J. Predator choice in the field; grouping guppies, *Poecilia reticulata*, receive more attacks. **Behavioral Ecology and Sociobiology 59**:181-184, 2005.

BOWDAN, E. The effect of deprivation on microstructure of feeding by the tobacco hornworm caterpillar. **Journal of Insect Behaviour 1**:31-50, 1988.

BRYANT, S. R., THOMAS, C. D. & BALE, J. S. Thermal ecology of gregarious and solitary nettle-feeding nymphalid butterfly larvae. **Oecologia 122**:1-10, 2000.

BURGER, J. & GOCHFELD, M. Smooth-billed ani (*Crotophaga ani*) predation on butterflies in Mato Grosso, Brazil: risk decreases with increased group size. **Behavioral Ecology and sociobiology 49**:482-492, 2001.

BUZATTO, B.A., REQUENA, G.S. & MACHADO, G. Chemical communication in the gregarious psocid *Cerastipsocus sivorii* (Pscocoptera: Psocidae). **Journal of Insect Behavior 22**:388-398, 2009.

CARACO, T. & PULLIAM, H.R. Sociality and survivorship in animals exposed to predation. Pp. 279-309. In: Price, P.W., Slobodchikoff, C. N. & Gaud, W.S. (eds.). **A new ecology: novel approaches to interactive systems**. Wiley, New York, 1984.

CASEY, T.M. Effects os temperature on foraging in caterpillars, p.5-28. In: Stamp, N.E. & Casey, T.M. (eds.). **Caterpillars: ecological and evolutionary constrainst of foraging**. New York, 587p., 1993.

CATTA-PRETA, P. D. & F. S. ZUCOLOTO. Oviposition behavior and performance aspects of *Ascia monuste* (Godart, 1919) (Lepidoptera, Pieridae) on kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **Revista Brasileira de Entomologia 47**:169-174, 2003.

CHEW, F.S. & ROBBINS, R.K. Egg laying in butterflies. Pp. 73-76. In : Vane-Wright, R.I. & Ackery, P.R. (eds.). **The biology of butterflies**. Princeton University Press, New Jersey, 1983.

CHIVERS, D.P.& SMITH, R.J.F. Chemical alarm signalling in aquatic predator-prey systems: a review and prospectus. **Ecoscience 5** :338-352, 1998.

CLARK, B.R. & FAETH, S.H. The consequences or larval aggregation in the butterfly *Chlosyne lacinia*. **Ecological Entomology 22**: 408-415, 1997.

CLARK, B.R. & FAETH, S.H. The evolution of egg clustering in butterflies: a test of the egg desiccation hypothesis. **Evolutionary Ecology 12**:543-52, 1998.

CORNELL, J.C., STAMP, N.E. & BOWERS, M.D. Developmental change in aggregation, defense and escape behavior of buckmoth caterpillars, *Hemileuca lucina* (Saturniidae). **Behavioral Ecology and Sociobiology 20**:383-388, 1987.

COSTA, J.T. **The other insect societies**. 812 p., 2006.

COSTA, J.T. Caterpillars as social insects: largely unrecognized, the gregarious behavior of caterpillars is changing the way entomologists think about social insects. **American Scientist 85**:150-159, 1997.

COSTA, J.T. & FITZGERALD, T.D. Developments on social terminology: semantic battles in a conceptual war. **Trends in Ecology and Evolution 11**:285-289, 1996.

COSTA, J.T. & LOUQUE, R.W. Group foraging and trail following behavior of the red-headed pine sawfly. **Annals of the Entomological Society of America 94**:480-489, 2001.

COSTA, J.T. & ROSS, K.G. Fitness effects of group merging in a social insect. **Proceedings of the Royal Society of London B 270**:1697-1702, 2003.

COSTA, J.T., FITZGERALD, T.D., PESCADOR-RUBIO, A., MAYS, J. & JANZEN, D.H. Social behavior of larvae of the Neotropical processionary weevil *Phelypera distigma* (Boheman) (Coleoptera: Cuculionidae: Hyperinae). **Ethology 110**: 515-530, 2004.

COSTA-LIMA, A. Ordem Lepidoptera. In: **Insetos do Brasil**. 6º Tomo, Lepidópteros, 2ª parte, Escola Nacional de Agronomia, Rio de Janeiro, 1950.

COURTNEY, S.P. The evolution of egg clustering by butterflies and other insects. **American Naturalist 123** :276-281, 1984.

CRESONI-PEREIRA, C. & ZUCOLOTO, F.S. The presence of the sexual partner and nutritional condition alter the *Anastrepha obliqua* MacQuart (Diptera: Tephritidae) protein discrimination threshold. **Neotropical Entomology 34**:895-902, 2005.

DALY, H.V. Insect morphometrics. **Annual Review of Entomology 30**:415-38, 1985.

DAMBACH, M. & GOELEN, B. Aggregation density and longevity correlate with humidity in first-instar nymphs of the cockroach (*Blattella germanica* L., Dictyoptera). **Journal of Insect Physiology 45**:423-429, 1999.

DAMMAN, H. Defense and development in a gregarious leaf-mining beetle. **Ecological Entomology 19**:335-343, 1994.

DENEUGOURG, J.L., LIONI, A. & DETRAIN, C. Dynamics of aggregation and emergence of cooperation. **The Biological Bulletin 202**: 262–267, 2002.

DENNO, R. F. & B. BENREY. Aggregation facilitates larval growth in the neotropical nymphalid butterfly *Chlosyne janais*. **Ecological Entomology 22**:133-141, 1997.

DESPLAND E. & HAMZEH, S. Ontogenetic changes in social behaviour in the forest tent caterpillar, *Malacosoma disstria*. **Behavioural Ecology and Sociobiology 56**:177-184, 2004.

DESPLAND, E. & LE HUU, A. Pros and cons of group living in the forest tent caterpillar: separating the roles of silk and of grouping. **Entomologia Experimentalis et Applicata 122**:181-189, 2007.

DE VRIES, P.J. **The butterflies of Costa Rica and their natural history.** Volume I: Papilionidade, Pieridae, Nymphalidae. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 1987.

DYAR, H.G. The number of molts of lepidopterous larvae. **Psyche 5**:420-422, 1890.

EICKWORT, G.C. Presocial behavior, pp.151-153. In: Breed, M.D., Michener, C.D. & Evans, H.E. (eds.). **The biology of social insects**. Proceedings of the ninth congress of the international union for the study of social insects, 420 p., 1982.

FELIPE, M. C. & F. S. ZUCOLOTO. Estudo de alguns aspectos da alimentação em *Ascia monuste* (Lepidoptera, Pieridae). **Revista Brasileira de Zoologia 10**:333-341, 1993.

FITZGERALD, T. D. Sociality in caterpillars. In: **Caterpillars: Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging.** Eds. Stamp, N. E. & T. M. Casey, Chapman and Hall, New York, p.372-403, 1993.

FITZGERALD, T.D. & COSTA, J.T. Trail-based communication and foraging behavior of young colonies of forest tent caterpillars (Lepidoptera: Lasiocampidae). **Annals of the Entomological Society of America 79**: 999–1007, 1986.

FITZGERALD, T.D. & PETERSON, S.C. Cooperative foraging and communication in caterpillars. **Bioscience 38**: 20-25, 1988.

FITZGERALD, T.D. & VISSHER, C.R. Foraging behavior and growth of isolated larvae of a social caterpillar, *Malacosoma americanum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata 81**:293-299, 1996.

FOELIX, R.F. Ecology, pp. 234-260. In: **Biology of spiders** (2ª ed.), Oxford University Press, 330 p., 1996.

FORDYCE, J.A. Aggregative feeding of pipevine swallowtail larvae enhances hostplant suitability. **Oecologia 135**:250-257, 2003.

FORDYCE, J.A. Clutch size plasticity in the Lepidoptera, pp. 125-144. In: Ananthakrishnan, T.N. & Whitman, D.W. (eds.), **Insects and Phenotypic plasticity**, Science Publishers, Inc. Enfield, 2005.

FORDYCE, J.A. & AGRAWAL, A.A. The role of plant trichomes and caterpillar group size on growth and defence of the pipevine swallowtail *Battus philenor*. **Journal of Animal Ecology 70**: 997-1005, 2001.

FOSTER, W. A. & TREHERNE, J. E. 1981. Evidence for the dilution effect in the selfish herd from fish predation on a marine insect. **Nature 295**:466–467, 1981.

GHENT, A.W. A study of the group-feeding behaviour of larvae of the jack pine sawfly, *Neodiprion pratti banksianae* Roh. **Behaviour 16**:110-148, 1960.

GOBBI, N. & MACHADO, V.L.L. Material capturado e utilizado na alimentação de *Polybia (Trichothorax) ignobilis* (Haliday, 1836) (Hymenoptera, Vespidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 15**: 117-124, 1986.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ, 1994.

HAMILTON, W.D. Geometry for the selfish herd. **Journal of Theoretical Biology 31**:295-311, 1971.

HASSEL, M.P. & SOUTHWOOD, T.R.E. Foraging strategies of insects. **Annual Review of Ecology and Systematics 9**:75-98, 1978.

HEARD, S.B. & BUCHANAN, C.K. Larval performance and association within and between two Species of hackberry nipple gall insects, *Pachypsylla spp*. (Homoptera: Psyllidae). **The American Midland Naturalist 140**:353-357, 1998.

HOCHBERG, M.E. Viruses as costs to gregarious feeding behaviour in the Lepidoptera. **Oikos 61**:291-296, 1991.

HOCHULI, D.F. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behaviour, morphology and host use? **Austral Ecology 26**:563-570, 2001.

HUNTER, A. F. Gregariousness and repellent defenses in the survival of phytophagous insects. **Oikos 91**:213-224, 2000.

INMAN, A.J. & KREBS, J. Predation and group living. **Trends in Ecology & Evolution 2**:31-32, 1987.

INOUYE, B.D. & D.M. JOHNSON. Larval aggregation affects feeding rate in *Chlosyne poecile* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Florida Entomologist 88**:247-252, 2005.

JENSEN, K.H. & LARSSON, P. Predator evasion in *Daphnia*: the adaptive value of aggregation associated with attack abatement. **Oecologia 132**:461-467, 2002.

JÖRG-FERENZ, H. & SEIDELMANN, K. Pheromones in relation to aggregation and reproduction in desert locusts. **Physiological Entomology 28**:11-18, 2003.

KAGATA, H. & OHGUSHI, T. Clutch size adjustment of a leaf-mining moth (Lyonetiidae: Lepidoptera) in response to resource availability. **Annals of the Entomological Society of America 95**:213-217, 2002.

KAWASAKI, N., MIYASHITA, T. & KATO, Y. Leaf toughness changes the effectiveness of larval aggregation in the butterfly *Byasa alcinous bradanus* (Lepidoptera: Papilionidae). **Entomological Science 12**:135-140, 2009.

KIDD, N.A.C. Predator avoidance as a result of aggregation in the grey pine aphid, *Schizolachnus pineti*. **The Journal of Animal Ecology 51**:397-412, 1982.

KLOK, C. J. & S. L. CHOWN. Assessing the benefits of aggregation: thermal biology and water relations of anomalous Emperor moth caterpillars. **Functional Ecology 13**:417-427, 1999.

KRAUSE, J. Differential fitness returns in relation to spatial position in groups. **Biological Reviews 69**:187-206, 1994.

LAMAS, G. 2004. Pieridae. pp. 99-117. In: Lamas, G. (ed.). **Atlas of Neotropical Lepidoptera. Checklist: Part 4A. Hesperioidea - Papilionoidea**. Scientific Publishers, Gainesville. 2004.

LAVOIE, B. & OBERHAUSER, K.S. Compensatory feeding in *Danaus plexippus* (Lepidoptera: Nymphalidae) in response to variation in host plant quality. **Environmental Entomology 33**: 1062–1069, 2004.

LAWRENCE, W.S. The effects of group size and host species on development and survivorship of a gregarious caterpillar *Halisidota caryae* (Lepidoptera: Arctiidae). **Ecological Entomology 15**:53-62, 1990.

LE MASURIER, A.D. Costs and benefits of egg clustering in *Pieris brassicae*. **Journal of Animal Ecology 63**:677-685, 1994.

LINDSTEDT, C., HUTTUNEN, H., KAKKO, M. & MAPPERS, J. Disentangling the evolution of weak warning signals: high detection risk and low production cost of

chemical defenses in gregarious pine sawfly larvae. **Evolutionary Ecology 25**: 1029-1046, 2011.

McCLURE, M. & DESPLAND, E. Defensive responses by a social caterpillar are tailored to different predators and change with larval instar and group size. **Naturwissenchaften 98**:425-434, 2011.

McPEEK, M.A. The growth/predation risk trade-off: so what is the mechanism? **The American Naturalist 163**:E89-E111, 2004.

MICHENER, C.D. Comparative social behavior of bees. **Annual Review of Entomology 14**:299-342, 1969.

MICHENER, C.D. **The social behavior of bees**, Harvard University Press, 1974.

MILLER, W.E. Wing measure as a size index in Lepidoptera: the family Olethreutidae. **Annals of the Entomological Society of America 70**:253-56, 1977.

MINKENBERG, O.P.J.M., TATAR. M. & ROSENHEIM, J.A. Egg load as a major source of variability in insect foraging and oviposition behavior. **Oikos 65**:134-142, 1992.

MONTLLOR, C.B. & BERNAYS, E.A. Invertebrate predators and caterpillar foraging. pp. 170-202. *In*: **Caterpillars: ecological and evolutionary constrains on foraging**, Stamp, N.E. & Casey, T.M. (eds.), 1993.

MOORING, M.S. & HART, B.L. Animal grouping for protection from parasites: selfich herd and encounter-dilution effects. **Behaviour 123**:3-4, 1992.

MOUSSEAU, T.A. & DINGLE, H. Maternal effects in insect life histories. **Annual Review of Entomology 36**:511-34, 1991.

NIELSEN, E.S. & COMMON, I.F.B. Lepidoptera (moths and butterflies). pp. 33-67. *In*: **The insects of Australia**. Naumann, I.D. & CSIRO (eds.). Melbourne University Press & Cornell University Press, 1991.

PARKER, G.A. & COURTNEY, S.P. Models of clutch size in insect oviposition. **Theoretical Population Biology 26**: 27-48, 1984.

PENTEADO-DIAS, A.M. Parasitismo de *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) por *Cothesia glomerata* (L., 1758) (Hymenoptera: Braconidae: Microgastrinae). **Revista Brasileira de Entomologia 30**: 257-259, 1986.

PICANÇO, M., RIBEIRO, L.J., LEITE, G.L.D. & ZANUNCIO, J.C. Seletividade de inseticidas a *Podisus nigrispinus* predador de *Ascia monuste orseis*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira 32**:369-372, 1997.

PICANÇO, M., RIBEIRO, L.J., LEITE, G.L.D. & GUSMÃO, M.R. Seletividade de inseticidas a *Polybia ignobilis* (Haliday) (Hymenoptera: Vespidae) predador de *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera, Pieridae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 27**:85-90, 1998.

PILSON, D. & RAUSHER, M.D. Clutch size adjustment by a swallowtail butterfly. **Nature 333**:361-363, 1988.

POUGH, F.H. & L.P. BROWER. Predation by birds on great southern white butterflies (*Ascia monuste*) as a function of palatability, sex, and habitat. **American Midland Naturalist 98**: 50-58, 1977.

PRICE, P.W.; BOUTON C.E., GROSS, P., MCPHERSON, B.A., THOMPSON, J.N. & WEIS, A.E. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Annual Review of Ecology and Systematics 11**:41-65, 1980.

RAFFA, K.F. Mixed messages across multiple trophic levels: the ecology of bark beetle chemical communication systems. **Chemoecology 11**:49-65, 2001.

RALPH, C.P. Natural food requirements of the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera: Lygaenidae), and their relation to gregariousness and host plant morphology. **Oecologia 26**:157-175, 1976.

RAUBENHEIMER, D. & SIMPSON, S.J. Analysis of covariance: an alternative to nutritional indices. **Entomologia Experimentalis et Applicata 62**:221-231, 1992.

READER, T. & D. F. HOCHULI. Understanding gregariousness in a larval Lepidopteran: the roles of host plant, predation, and microclimate. **Ecological Entomology 28**: 729-737, 2003.

RENWICH, J.A.A. Nonpreference mechanisms: plants characteristics influencing insect behavior. In: Hedin, P.A. (ed.). **Plant resistence to insects**, American Chemical Society, Washington D.C., 543 p., 1983.

REYNOLDS, S.E., YEOMANS, M.R. & TIMMINS, W.A. The feeding behaviour of caterpillars (*Manduca sexta*) on tobacco and on artificial diet. **Physiological Entomology 11**: 39–51, 1986.

RIIPI, M., ALATALO, R.V., LINDSTROM, L. & MAPPES, J. Multiple benefits of gregariousness cover detectability costs in aposematic aggregations. **Nature 413**:512-514, 2001.

ROGER, C., CODERRE, D. & BOIVIN, G. Differential prey utilization by the generalist predator *Coleomegilla maculata lengi* according to prey size and species. **Entomologia Experimentalis et Applicata 94**:3-13, 2003.

RONNÄS, C., LARSSON, S. PITACCO, A. & BATTISTI, A. Effects of colony size on larval performance in a processionaty moth. **Ecological Entomology 35**:436-445, 2010.

RUOHOMÄKI, K., KLEMOLA, T., KAITANIEMI, P. & KÄÄR, M. Crowding-induced responses in a geometrid moth revisited: a field experiment. **Oikos 103**:489-493, 2003.

SANTANA, A.F.K. & ZUCOLOTO, F.S. Influence of previous experience on the preference, food utilization and performance of *Ascia monuste orseis* wild larvae (Godart) (Lepidoptera: Pieridae) for three different hosts. **Neotropical Entomology 40**:631-638, 2011.

SANTANA, A.F.K., ZAGO, R.C. & ZUCOLOTO, F.S. Effects of sex, host-plant deprivation and presence of conspecifics immatures on the cannibalistic behaviour of wild *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera: Pieridae). **Revista Brasileira de Entomologia 55**:95-101, 2011.

SCHOONHOVEN, L.M., JERMY, T.M. & VAN LOON, J.J.A. **Insect-plant biology: from physiology to evolution**. Chapman & Hall, 1998.

SCRIBER, J.M. & SLANSKY, F.JR. The nutritional ecology of immature insects. **Annual Reviews of Entomology 26**:183-211, 1981.

SILLANPÄÄ, S. How do food quality and larval crowding affect performance of the autumnal moth, *Epirrita autumnata*? **Entomologia Experimentalis et Applicata 129**:286-294, 2008.

SILLÉN-TULLBERG, B. Evolution of gregariousness in aposematic butterfly larvae: a phylogenetic analysis. **Evolution 42**:293-305, 1988.

SILLÉN-TULLBERG, B. & LEIMAR, O. The evolution of gregariousness in distasteful insects as a defense against predators. **American Naturalist 132**:723-734, 1988.

SIMPSON, S.J. & RAUBENHEIMER, D. The central role of the haemolymph in the regulation of nutrient intake in insects. **Physiological Entomology 18**, 395–403, 1993.

SIMPSON, S.J. & SIMPSON, C.L. The mechanisms of compensation by phytophagous insects. In: Bernays, E.A. (ed.), **Insect-Plant Interactions**, v. 2, pp. 112-160. CRC Press Inc., 1990.

SIMPSON, S.J., SWORD, G.A., LORCH, P.D. & COUZIN, I.D. Cannibal crickets on a forced march for protein and salt. **Proceedings of the National Academy of Science 103**:4152-4156, 2006.

SLANSKY, F. JR. **Nutritional ecology: the fundamental quest for nutrients**, pp. 29–91. In N. E. Stamp, N.E & T. M. Casey, T.M. (eds.). Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging. Chapman and Hall, New York, 1993.

SLANSKY, F. JR. & SCRIBER, J.M. Food consumption and utilization. In: **Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology**. Kerkut, G.A. & Gilbert, L.I. (eds.). Pergamon Press, Oxford, pp.87-163, 1985.

SLANSKY, F. JR. & RODRIQUEZ, J.G. **Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates**. Wiley, New York, 1016 p., 1987.

SLANSKY, F. JR. & WHEELER, G.S. Compensatory increases in food consumption and utilization efficiencies by velvetbean caterpillars mitigate impact of diluted diets on growth. **Entomologia Experimentalis et Applicata 51**:175-187, 1989.

SLANSKY, F. JR. & WHEELER, G.S. Catterpillar´s compensatory feeding response to diluted nutrients leads to a toxic allelochemical dose. **Entomologia Experimentalis et Applicata 65**:171-186, 1992.

STAMP, N.E. Egg deposition patterns in butterflies: why do some species cluster their eggs rather than deposit them singly? **American Naturalist 115**:367-380, 1980.

STAMP, N. E. Effect of group size on parasitism in a natural population of the Baltimore checkerspot *Euphydryas phaeton*. **Oecologia 49**:201-206, 1981.

STAMP, N.E. & BOWERS, M.D. Variation in food quality and temperature constrain foraging of gregarious caterpillars. **Ecology 71**:1031-1039, 1990.

STAMP, N.E. & BOWERS, M.D. Direct and indirect effects of predatory wasps (*Polistes* sp.: Vespidae) on gregarious caterpillars (*Hemileuca lucina*: Saturniidae). **Oecologia 75**:619-624, 1988.

STAMP, N.E. & CASEY, T.M. **Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging**. 587 p., 1993.

STEINHAUS, E.A. Crowding as a possible stress factor in insect disease. **Ecology 39**:503-514, 1958.

STORER, A.J, WAINHOUSE, D. & SPEIGHT, M.R. The effect of larval aggregation behaviour on larval growth of the spruce bark beetle *Dendroctonus micans*. **Ecological Entomology 22**:109-115, 1997.

TAMMARU, T., RUOHOMÄKI, K. & MONTOLA, M. Crowding-induced plasticity in *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae): weak evidence of specific modifications in reaction norms. **Oikos 90**:171-181, 2000.

TIMMINS, W.A., BELWARD, K., STAMP, A.J., REYNOLDS, S.E. Food intake, conversion efficiency and feeding behaviour of tobacco hornworn caterpillar given artificial diet of varying nutrient and water content. **Physiological Entomology 13**: 303–314, 1988.

TOWNSEND, C.R. & CALOW, P. **Physiological ecology: an evolutionary approach to resource use**. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 393 p., 1981.

TOWNSEND, C.R., BEGON, M. & HARPER, J.L. **Fundamentos em Ecologia**. Artmed, 2ª ed. 592 p., 2006.

TSUBAKI, Y. Some beneficial effects of aggregation in young larvae of *Pryeria sinica* Moore (Lepidoptera: Zygaenidae). **Researches on Population Ecology**, **23**:156-167, 1981.

TSUBAKI, Y. & Y. SHIOTSU. Group feeding as a strategy for exploiting food resources in the burnet moth *Pryeria sinica*. **Oecologia 55**:12-20, 1982.

TURCHIN, P. & P. KAREIVA. Aggregation in *Aphis varians*: an effective strategy for reducing predation risk. **Ecology 70**:1008-1016, 1989.

VINSON, S.B. Host selection by insect parasitoids. **Annual Review of Entomology 21**:109-133, 1976.

VON ZUBEN, C.J.; STANGENHAUS, G. & W.A.C. GODOY. Competição larval em *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera, Calliphoridae): efeitos de diferentes níveis de agregação larval sobre estimativas de peso, fecundidade e investimento reprodutivo. **Revista Brasileira de Biologia 60**:195-203, 2000.

VULINEC, K. Collective security: aggregation by insects as a defense. In: Evans, D.L. & Schmidt, J.O. (eds.), **Insect defenses: Adaptive mechanisms and strategies of prey and predators**, pp.251-288. State University of New York Press, New York, 1990.

WALDBAUER, G.P. The consumption and utilization of food by insects. **Advances in Insect Physiology 5**:229–288, 1968.

WEED, A.S. Benefits of larval group feeding by *Chrysolina aurichalcea asclepiadis* on *Vincetoxicum*: improved host location or feeding facilitation? **Entomologia Experimentalis et Applicata 137**:220-228, 2010.

WHEELER, D. The role of nourishment in oogenesis. **Annual Review of Entomology 41**:407-431, 1996.

WHEELER, W.M. **The social insects: their origin and evolution**, Harcourt Brace, 1928.

WERTHEIM, B., MARCHAIS, J., VET, L.E.M & DICKE, M. Allee effect in larval resource exploitation in *Drosophila*: an interaction among density of adults, larvae, and micro-organisms. **Ecological Entomology 27**:698-617, 2002.

WERTHEIM, B., VET, L.E.M & DICKE, M. Increased risk of parasitism as ecological costs of using aggregation pheromones: laboratory and field study of *Drosophila*-Leptopilina interaction. **Oikos 100**:269-282, 2003.

WERTHEIM, B., VAN BAALEN, E.J.A., DICKE, M. & VET, L.E.M. Pheromone-mediated aggregation in non-social arthropods: an evolutionary ecological perspective. **Annual Review of Entomology 50**:321-346, 2005.

WESELOH, R.M. Potential effects of parasitoids on the evolution of caterpillar foraging behavior. Pp.203-223. In: Stamp, N.E. & Casey, T.M. (eds.). **Caterpillars: ecological and evolutionary constrains on foraging**, 1993.

WILLMER, P.G. The effects of a fluctuating environment on the water relations of larval Lepidoptera. **Ecological Entomology 5**:271-292, 1980.

WILSON, E.O. **The Insect societies**. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1971.

WILSON, D.S. The adequacy of body size as niche difference. **American Naturalist 109**:169-84, 1975.

WILSON, K.; R. KNELL; M. BOOTS & J. KOCH-OSBORNE. Group living and investment in immune defence: an interspecific analysis. **Journal of Animal Ecology 72**:133-143, 2003.

WISE, M.J.; KIEFFER, D.L.; ABRAHAMSON, W.G. Costs and benefits of gregarious feeding in the meadow spittlebug, *Philaenus spumarius*. **Ecological Entomology 31**:548-555, 2006.

WOODS, H.A. & SINGER, M.S. Contrasting responses to desiccation and starvation by eggs and neonates of two Lepidoptera. **Physiological and Biochemical Zoology 74**:594-606, 2001.

WRONA, F.J. & DIXON, R.W.J. Group size and predation risk: a field analysis of encounter and dilution effects. **The American Naturalist 137**:186-201, 1991.

YANG, Y & JOERN, A. Compensatory feeding in response to variable food quality by *Melanoplus differentialis*. **Physiological Entomology 19**:75-82, 1994.

YOUNG, A.M. & MOFFET, M.W. Studies on the population biology of the tropical butterfly *Mechanitis isthmia* in Costa Rica. **American Midland Naturalist 101**:309-319, 1979.

ZAGO-BRAGA, R. C. & F. S. ZUCOLOTO. Cannibalism studies on eggs and newly hatchet caterpillars in a wild population of *Ascia monuste* (Godart) (Lepidoptera, Pieridae). **Revista Brasileira de Entomologia 48**:415-420, 2004.

ZALUCKI, M.P., CLARKE, A.R., MALCOLM, S.B. Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. **Annual Review of Entomology 47**:361-93, 2002.

ZANOTTO, F.P., SIMPSON, S.J. & RAUBENHEIMER, D. The regulation of growth by locusts through post-ingestive compensation for variation in the levels of dietary protein and carbohydrate. **Physiological Entomology 18**:425-434, 1993.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. Prentice Hall, New York, 1999.

ZUCOLOTO, F.S. Qualitative and quantitative competition for food in *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Revista Brasileira de Biologia 48**:523-526, 1987.

ZUR, T.; NEMNY-LAVY, E.; PAPADOPOULOS, N.T. & D. NESTEL. Social interactions regulate resource utilization in a Tephritidae fruit fly. **Journal of Insect Physiology 55**:890-897, 2009.