



# MECANISMOS DE DEFESA DA BORBOLETA *ACTINOTE PELLENEA PELLENEA* (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE: HELICONIINAE) FRENTE A PREDADORES GENERALISTAS E ESPECIALISTAS

Andresa Regina da Silva

Ronaldo Bastos Francini

1 - Universidade Católica de Santos, Graduanda Curso de Ciências Biológicas, Avenida Conselheiro Nébias / Santos, São Paulo, Brazil. 2 - Universidade Católica de Santos, Orientador, Telefone: 55 13 3471 1763-andresa.bio@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Todos os seres vivos precisam se alimentar em alguma fase de sua vida e, por esta razão, qualquer um também pode ser usado como alimento (Schmidt, 2003; Begon *et al.*, 2007). A predação de ovos e larvas de borboletas tem sido observada em diferentes famílias (Trigo, 2000) sendo que este conhecimento tem uma aplicação no controle biológico daquelas espécies que podem ser prejudiciais a plantas cultivadas.

Para lidar contra predadores e parasitóides de seus ovos e larvas, os lepidópteros desenvolveram diferentes repostas algumas de natureza química e outras de natureza mecânica (Brown *et al.*, 1991) mas, mesmo assim, quaisquer que sejam as defesas sempre existem predadores ou parasitóides capazes de sobrepujá-las. Essas relações entre insetos aposemáticos e plantas tóxicas podem envolver muitos tipos de substâncias químicas algumas das quais com efetiva atividade farmacológica sendo, portanto importantes do ponto de vista aplicado (Brown *et al.*, 1989, 1990, 1991b).

Na região litorânea de São Paulo a borboleta *Actinote pellenaea pellenaea* é uma das espécies que pode ser encontrada em muitos pontos onde suas plantas de alimento larval *Mikania cordifolia*, *Mikania* aff. *Micrantha* e *Austroeupeatorium inulaefolium* são comuns (Francini, 1985, 1989).

Todas as 16 espécies de *Actinote* e as 12 de *Altinote* estudadas por Brown & Francini (1990) tinham adultos e larvas que eram cianogênicos e Francini (1989) observou que ovos de *A. pellenaea pellenaea* também o eram. Mas mesmo sendo protegidas por substâncias tóxicas como os glicosídeos cianogênicos a predação de ovos e larvas de espécies do gênero *Actinote* já foi observada em diferentes locais e ocasiões. A predação de larvas de *Actinote carycina* por ninfas e adultos de hemípteros foi observada na Serra do Japi, em Jundiá por F. Frieiro - Costa (comunicação pessoal) em 1990. A predação de ovos de *Actinote dalmeidai* por ninfas do hemíptero *Stirethrurus* sp. foi observada em Campos de Jordão por R.B. Francini (comunicação pessoal) em janeiro de 2006 assim como a predação de ovos de *A. zikani* (Francini *et al.*, 2005), *A. parapheles* e *A. pellenaea pel-*

*lenea* (R.B. Francini, comunicação pessoal) por formigas do gênero *Solenopsis* e *Pheidole* no Vale do Rio Quilombo em março e abril de 2008. Além disso, várias espécies de moscas taquinídeas parasitóides têm larvas que também conseguem alimentar - se das de *Actinote* (Francini, 1989).

Glicosídeos cianogênicos são O -  $\beta$  - glicosídeos de  $\alpha$  - hidroxinitrilas (cianohidrinás) que são compostos orgânicos biosintetizados derivados de aminoácidos (Trigo, 2000). Quando suas moléculas são quebradas por enzimas específicas, como a  $\beta$  - glicosidase, eles liberam HCN por hidrólise que um inibidor do transporte de elétrons na cadeia respiratória (CONN, 1979). CHAI (1990) observou que borboletas *Actinote antea*s e *A. lapihita* eram rejeitadas por pássaros em gaiolas, mas ainda existe muita especulação em relação ao papel dos glicosídeos cianogênicos na defesa química de borboletas (Trigo, 2000).

## OBJETIVOS

Observar diariamente, durante a época de oviposição, o destino dos ovos de oviposições observando o comportamento predatório de formigas ou outros insetos;

Observar no campo o comportamento defensivo de larvas testando respostas a diferentes tipos de predadores;

Testar o grau de aceitação de ovos e larvas por predadores invertebrados e vertebrados em condições controladas de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

Bioensaio com *Gallus gallus*

Foram usados 10 indivíduos de *Gallus gallus* Linnaeus 1758 (Galliformes: Phasianidae), adquiridos em avicultura, com aproximadamente 30 dias de vida e mantidos sem comida durante 8h. Antes dos testes, eles foram mantidos separados em gaiolas numeradas com dimensões 35 x 50 x 16 cm, com tampa metálica gradeada e mantidos a base de ração de rato

e sem água. A numeração das gaiolas evitou a marcação individual dos pintinhos diminuindo seu estresse.

Os bioensaios foram feitos em uma arena constituída por uma caixa plástica branca com dimensões de 30 x 35 x 55 cm e forrada com jornal. Os pintinhos foram colocados individualmente na arena obedecendo à ordem numérica crescente. Uma etapa dos testes foi feita pela manhã (1000h) e outra à tarde (1500h) do dia 3 de fevereiro de 2009.

Na primeira etapa de testes, primeiro foi oferecido miolo de pão moldado na forma e tamanho das lagartas de *Actinote pellenea pellenea* e depois uma lagarta viva em terceiro estágio sendo ambos amarrados em linha preta. No segundo teste, cinco horas depois do primeiro, foram tomados os mesmos cuidados sendo que a única diferença foi a inversão da ordem a qual foram oferecidas a lagarta e o pão.

Numa segunda etapa de testes foram adquiridos em avicultura 32 indivíduos de *G. gallus* com aproximadamente 5 dias de vida e massa entre 25 e 30 gramas. Estes foram mantidos em laboratório, sendo que 16 ficaram em jejum durante 24h e 16 alimentados com ração própria a base de farelo e milho, ambos sem água. Antes dos testes, eles ficaram separados 3 a 3 em nas mesmas gaiolas do teste anterior. A numeração das gaiolas foi feita de 1 a 5 com ração e 1 a 5 sem ração, para a marcação individual dos pintinhos foi feita uma marca na cabeça com a caneta de retroprojektor, eles receberam nenhuma marca (1), ou uma marca vermelha (2) e preta (3).

Bioensaio com formigas

Lagartas de terceiro estágio foram colocadas em galhos de *Cecropia* que era pastejado por formigas *Azteca alfari*, e em correição de formigas de *Neivamyrmex* sp. no seu hábitat natural. Todos os movimentos onde ocorreram interações entre as formigas e a lagarta foram anotados e fotografados.

Bioensaio com aranhas

Foram usadas lagartas de terceiro estágio, que foram colocadas nas teias de aranhas no seu hábitat natural. Todas as interações entre as aranhas e a lagarta foram anotadas e fotografadas.

## RESULTADOS

Bioensaio com *Gallus gallus*

Dos 10 indivíduos testados na primeira etapa de manhã, os dois primeiros mostraram - se apáticos tanto ao pão quanto à larva, um foi eliminado. Todos os outros pintinhos atacaram rapidamente o pão e a larva oferecida depois. Após bicarem as larvas os pintinhos geralmente aparentavam um desconforto, sendo que alguns apresentaram o comportamento de limpar o bico no substrato evitando a larva posteriormente.

A repetição, com a segunda etapa do teste à tarde, mostrou resultados inequívocos. Os dois pintinhos (1 e 2) que estavam apáticos de manhã atacaram a larva e tiveram as mesmas reações dos pintinhos da manhã. Todos os outros oito rejeitaram as larvas, mas atacaram quase que instantaneamente o pão oferecido após a larva.

No segundo teste foi observado que o comportamento era estabelecido pelo efeito de grupo, as vocalizações eram iniciadas e finalizadas em conjunto. Outro comportamento que

signalizava esse efeito de grupo foi que ao colocarmos um único pintinho na arena, eles não expressavam quaisquer comportamentos para alimentação. Os pintinhos ficavam parados apáticos à situação. Mas, ao colocarmos um grupo, a disputa tanto pelo controle como pela lagarta era praticamente imediata, assim que um deles dava início ao ataque logo era seguido pelos outros.

As substâncias químicas secundárias nem sempre apresentam funções conhecidas e muitas delas são tóxicas para alguns herbívoros (TRIGO, 2000). No entanto, fitófagos especialistas podem seqüestrar essas substâncias químicas na defesa contra inimigos naturais.

*Gallus gallus* não se apresenta como inimigo natural de lagartas de *A. p. pellenea*, por viverem em ambientes distintos e por lagartas não entrarem na dieta preferencial de pintinhos ainda que estes convivessem juntos. Porém mesmo assim parece que pintinhos, que foram usados como modelo de predadores vertebrados tem problemas ao entrarem em contato com as substâncias apresentadas por estas lagartas.

Os pintinhos apresentam mecanismo sensorial apurado; são capazes de distinguir após o primeiro contato, pelo cheiro ou pela forma e cor o que lhe oferece perigo. A rejeição é comum a praticamente todos os pintinhos que tiveram contato com a lagarta no primeiro teste. O comportamento de rejeição dos pintinhos aumenta conforme vão tendo contato com as lagartas o que mostra que há um processo de aprendizagem pelos pintinhos.

Seria esperado que conforme aumentássemos o número de ensaios, os pintinhos apresentassem um comportamento ainda mais expressivo de total rejeição; como realizamos apenas dois testes com cada grupo, observamos que estes antes da rejeição ou defesa necessitam de um tempo relativamente grande de observação da larva para detectar seus padrões de coloração.

Bioensaio com formigas

A lagarta colocada sobre o caule da *Cecropia* foi percebida pelas formigas após alguns minutos. Estas vieram e iniciaram um ataque para imobilizá-la. As formigas morderam a lagarta que teve liberação da hemolinfa. Assim que a lagarta ficou estática, as formigas voltaram a sua atividade normal de pastejo. Pode - se inferir que seja defesa, já que estas formigas não são carnívoras e pela literatura é sabido que formigas e *Cecropias* possuem uma relação mutualística, o que leva as formigas a atacarem de forma massiva tudo o que apresente perigo e possa danificar o vegetal, em troca a *Cecropia* lhes serve como mantenedora de recursos (BEGON *et al.*, 2007).

Para o ensaio com larva de *Actinote pellenea pellenea*, observou - se que a atitude em dilacerar com a mandíbula a região lateral do abdômen para liberar a hemolinfa, implica para que aja a liberação do HCN já que em *Actinote* o composto que confere proteção química são os glicosídeos cianogênicos. Para que a larva se torne palatável é necessária a liberação do HCN para o ar (FRANCINI, 1989).

Bioensaio com Aranhas

Nestes biotestes observamos dois comportamentos distintos entre as aranhas. Assim que estas percebem a presença da lagarta na teia, apresentam processos diferentes para a

predação da mesma. Para *Argiope*, foram contados cinco comportamentos, o mesmo para *Nephila clavipes*.

Aparentemente aranhas conseguem neutralizar os efeitos das substâncias tóxicas. Indicando que essas substâncias não devem causar grandes efeitos, porque é sabido que aranhas quando aprisionam algum animal que lhes possa causar dano, cortam o pedaço da teia onde este se encontra (TRIGO, 1987).

## CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho pudemos concluir que lagartas de *Actinote pellenae pellenae* apresentam defesas químicas eficazes. Porém essas defesas têm eficácia diferenciada frente ao predador a qual estas são expostas.

Contudo, algumas questões ainda podem ser levantadas a partir deste trabalho, um exemplo seria a comparação da predação com lagartas de *Actinote pellenae pellenae* mantidas com dietas variadas, já que as concentrações dos compostos químicos são diferentes nas plantas das quais *Actinote* se alimenta. Outro ponto que pode ser levantado é a diferença básica entre adultos e lagartas quanto a sua proteção, traçando diferenças quantitativas da quantidade de alcalóides encontradas em ambas.

Agradecimento: Ao financiamento recebido pelo Proin-PIBIC/CNPQ

## REFERÊNCIAS

- Begon, M. B.; Townsend, C. R. & Harper, J. L. (2007) Ecologia: de indivíduos a ecossistemas (4a. edição). Artmed, Porto Alegre.
- Brown, K. S., Jr.; Trigo, J. R.; Francini, R. B.; Henriques, S. A.; Morais, A. B. B.; Motta, P. C.; Klitzke, C. F.; Cardoso, M. Z. (1989) Chemical ecology at the interface between medicinal plants and aposematic Lepidoptera in: Quimica de Productos Naturales y Ecologia, ed. Academia de Ciências de América Latina, Valparaíso, Chile, pags. 21 - 29.
- Brown, K. S., Jr.; Trigo, J. R.; Motta, P. C.; Francini, R. B.; Morais, A. B. B.; Henriques, S. A.; Klitzke, C. F.; Cardoso, M. Z. (1990) Medicinal host - plants of aposematic butterflies: coevolutionary tendencies at a chemically unstable interface. Report on the workshop on Chemical Interactions Between Organisms, 27 - 45.
- Brown, K. S., Jr.; Francini, R. B. (1990) Evolutionary strategies of chemical defense in aposematic butterflies: cyanogenesis in Asteraceae - feeding American Acraeinae. Chemoecology, 1(2):52 - 6.
- Brown, K. S., Jr.; Trigo, J. R.; Francini, R. B.; Morais, A. B. B.; Motta, P. C. (1991a) Aposematic insects on toxic host plants: coevolution, colonization, and chemical emancipation in: Plant - animal interactions. Evolutionary ecology in tropical and temperate regions, edit. Price, P. W.; Lewinsohn, T. M.; Fernandes, G. W.; Benson, W. W. Wiley - Interscience Publication, New York, pp. 375 - 402.
- Brown, K. S., Jr.; Trigo, J. R.; Klitzke, C. F.; Santos, E. R.; Francini, R. B.; Henriques, S.; Cardoso, M. Z. (1991b)

Chemical ecology and coevolution at the insect plant interface. 2. Brazilian-Deutsches Symposium für Naturstoffchemie: 2 - 5.

Bücherl, W. (1972) Invertebrados As aranhas. 1ª ed. São Paulo: Livraria Editora Ltda.

Byers, J. (2006) Analysis of Insect and Plant Colors in Digital Images Using Java Software on the Internet. Annals of the Entomological Society of America, 99(5):865 - 874.

Chai, P. (1990) Relationships between Visual Characteristics of Rainforest Butterflies and Responses of a Specialized Insectivorous Bird In Adaptive Coloration in Invertebrates; Proceedings of a Symposium Sponsored by the American Society of Zoologists. Wicksten, M., Ed. Texas A&M University Sea Grant College Program, p. 31 - 60.

Coddington, J. A. & Levi, H. W. (1991) Systematics and evolution of spiders (Araneae). Annual Review of Ecology and Systematics. 22: 565-592.

Coley, P.D., Bryant, J.P. & Chapin, F.S. (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. Science 230: 895 - 899.

Conn, E. E. (1979) Cyanide and cyanogenic glycosides in: Herbivores. Their interaction with secondary plant metabolites, edit. Rosenthal, G. A. & Janzen, D. H. Academic Press, New York, pags. 387 - 411.

Foelix, R. F. (1996) Biology of spiders. Second Edition, Oxford University Press, New York.

Francini, R. B. (1985) Ecologia de populações de *Actinote* do litoral de São Paulo (Lepidoptera, Nymphalidae). Resumos do XII Congresso Brasileiro de Zoologia, Campinas, :104 - 105.

Francini, R. B. (1989) Biologia e ecologia das borboletas *Actinote* (Lepidoptera, Nymphalidae, Acraeinae) na transição subtropical no sudeste do Brasil. Dissertação de mestrado do Programa de Pós - Graduação em Ecologia, IB, UNICAMP, 236 pags.

Francini, R. B. (1992) Ecologia de taxocenoses de *Actinote* (Lepidoptera: Nymphalidae) em Asteraceae (Angiosperma: Magnoliatae) no sudeste do Brasil: subsídios para conservação. Tese de Doutorado do Programa de Pós - Graduação em Ecologia, IB, UNICAMP, 194 pags.

Francini, R. B.; Freitas, A. V. L.; & Brown, K. S., Jr. (2005) Rediscovery of *Actinote zikani* (D'Almeida) (Nymphalidae, Heliconiinae, Acraeini): Natural history, population biology and conservation of an endangered butterfly in SE Brazil. Journal of the Lepidopterists' Society, 59(3):134 - 142.

Francini, R. B. & Penz, C. (2006) An illustrated key to male *Actinote* from Southeastern Brazil (Lepidoptera, Nymphalidae). Biota Neotropica, 6(1): <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?identification-key+bn00606012006>

Gonsales, E.M.L., Melo, F.P.L., Romero, G.Q., Mokross, K. & Menezes, S. (2002) Controle da estrutura de colônias de formigas *Azteca alfari* (Hymenoptera, Formicidae) pela mirmecófito *Cecropia purpurascens* (Cecropiaceae), pp. 12 - 14. In: Ecologia da Floresta Amazônica (Venticinque, E.M. & Zuanon, J., org.). PDBFF, Manaus.

Howe, H.F. & Westley, L.C. (1988) Ecological relationships of plants and animals. Oxford University Press, New York.

Janzen, D.H. (1973) Dissolution of mutualism between *Cecropia* and its *Azteca* ants. Biotropica 5: 15 - 28.

- Massuda, K. F. (2008) Mecanismos de defesa contra predadores em larvas da borboleta *Methona themisto* (Nymphalidae: Ithomiinae). Dissertação de mestrado do Programa de Pós - Graduação em Ecologia, IB, UNICAMP, 66 págs.
- Riechert, S. E. (1981) Spider Communication: Mechanisms and Ecological Significance. Princeton University Press, Princeton.
- Robinson, M. H; Olazarri, O. (1971) Units of behavior and complex sequences in the predatory behavior of *Argiope argentata* Fabricius. Smithsonian Contributions to Zoology. 65: 1-35.
- Silva, K. L. (2000) Alcalóides pirrolizidínicos utilizados na defesa química em insetos contra predadores vertebrados e invertebrados. Dissertação de mestrado, do Programa de Pós - Graduação em Ecologia, IB, UNICAMP, 125 págs.
- Schmidt, J. O. (2003) Defensive Behavior in: Encyclopedia of insects, edit. RESH, V. H.& CARDÉ, R. T., Academic Press, N. York, págs. 289 - 295.
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1981) Biometry. The principles and practice of statistics in biological research (2nd ed). W. H. Freeman and Company, New York, 859 págs.
- Trigo, J. R. (1987) Ecologia química na interação ithomiinae (lepidóptera: nymphalidae) echitoideae (angiospermae: apocynaceae). Dissertação de mestrado do Programa de Pós - Graduação em Ecologia, IB, UNICAMP, 216 págs.
- Trigo, J. R. (2000) The Chemistry of Antipredator Defense by Secondary Compounds in Neotropical Lepidoptera: Facts, Perspectives and Caveats. Journal of the Brazilian Chemical Society, 11(6): 551 - 561.
- Tulberg, B. S. & Hunter, A. F. (1996) Evolution of larval gregariousness in relation to repellent defences and warning coloration in tree - feeding Macrolepidoptera: a phylogenetic analysis based on independent contrasts. Biological Journal of the Linnean Society, 57: 253-276.
- Wise, D. H. (1979) Effects of an experimental increase in prey abundance upon the reproductive rates of two orb weaving spiders. Oecologia. 41: 289-300.