UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

Influência da cópula e da nutrição adulta na performance reprodutiva de fêmeas selvagens de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae)

Laura de Castro Lamonica

Monografia apresentada ao Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

RIBEIRÃO PRETO – SP

2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

Influência da cópula e da nutrição adulta na performance reprodutiva de fêmeas selvagens de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae)

Laura de Castro Lamonica

Monografia apresentada ao Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Alessandra Figueiredo Kikuda Santana
Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Sérgio Zucoloto

RIBEIRÃO 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.

Lamonica, Laura de Castro Lamonica.

Influência da cópula e da nutrição adulta na performance reprodutiva de fêmeas selvagens de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae) / Laura de Castro Lamonica; orientadora Alessandra Figueiredo Kikuda Santana – Ribeirão Preto, 2012.

35 p.

Monografia (conclusão de curso) – Universidade de São Paulo, 2012.

1. Comportamento de oviposição. 2. Insetos. 3. Nutrição. 4. *Brassica oleraceae*. 5. Performance Reprodutiva.

Dedico este trabalho aos meus pais,

Hélcio e Simone, por estarem sempre comigo.

Agradecimentos

Chegando até aqui, fica fácil perceber que tenho muito a agradecer. Agradeço, primeiramente, aos meus pais. Por toda a dedicação, amor e paciência. Por sempre me apoiarem e estarem ao meu lado; por nunca terem medido esforços para que eu chegasse até aqui.

Muito obrigada ao meu irmão, Lucão, por ser esse cara incrível que se tornou minha inspiração. Por ser o irmão mais velho, o meu exemplo. E obrigada também à toda minha família, meus avôs, avós, tios, tias, primos e primas. Obrigada pelo colo que sempre tive!

Agradeço aos amigos de Piracicaba, que me mostraram como a verdadeira amizade pode ser mantida independente da distância. Marina, Mariana, Paula, Carol, Bruna, Aline, Mayra, Camila, Carol, Livia, Cover, Dalla, Pedro, Héctor, Rica, Bruno e Kauê, tenham certeza de que também contribuíram muito nessa minha trajetória. Agradeço também aos amigos do IURE, sempre irmãos!

Agradeço aos grandes companheiros sul africanos Dennis, Ntosh e Joe, por terem acrescentado tanto à minha transformação diária de percepção de mundo, e também à estado unidense Ashely, por ter me acompanhado nessa trilha.

Tenho agradecimentos muito especiais a todas as pessoas que encontrei no Laboratório de Nutrição e Comportamento Alimentar de Insetos. Ao professor Fernando S. Zucoloto, pelas brincadeiras de todo dia, e pela paixão imensurável pela biologia, que me encanta e me inspira nessa carreira. À Alessandra, grande companheira e orientadora, por toda a paciência, doçura e compreensão, por ser essa admirável pesquisadora. À Thamara e à minha grande amiga Moita, que também estiveram comigo durante os primeiros anos no laboratório. Ao nosso querido técnico Laércio, pela disponibilidade e dedicação, por toda a ajuda prática do trabalho e pelo futebolzinho aos sábados. Agradeço também à Ana Raquel e ao Diego, aqueles que não são do laboratório, mas que passaram em alguns momentos por lá para falar de outros assuntos, e que também fizeram parte da minha trajetória.

Nessa vida, tive muita sorte. Entrei na faculdade sem estar preparada para encarar esse novo mundo, e o que encontrei foi a melhor turma de todos os tempos. Meus sinceros agradecimentos a cada integrante da 44ª turma da Biologia. Por me fazerem amadurecer tanto, por todas as comemorações, viagens, aniversários surpresa, assembleias e votações. Enfim, por estarmos sempre juntos!

E por falar em estar juntos, jamais poderia imaginar que Ribeirão Preto, São Paulo, Araraquara, Ilha Solteira e Tübingen fossem tão próximos. Dio, Ju, Koana, Mestre, Moc, Moita, Piolha, Poka e Xu, só tenho que agradecer por tê-los encontrado. Panela, obrigada por existir!

Um agradecimento muito especial também ao Bronha, à Jussa, ao Vespa e à Ninfa, por participarem intensamente da minha vida durante a faculdade.

E foi aqui, em Ribeirão Preto, que encontrei as irmãs que não tive. Lau, Cupu e Zinha, obrigada por fazerem da Rep. Pipoca minha verdadeira casa por todos esses anos. Obrigada por compartilharem, além das roupas e da tpm, tantas ideias e sentimentos.

Obrigada também aos frequentadores assíduos, K7, Kpta, Frango e Mulan, pelos jantares, filmes e reflexões.

E nessa estrada, encontrei aqueles que só fazem bem. Sem ser da minha turma, ou da minha casa, Mo e Gugu, muito obrigada por tudo!

Agradeço também ao aconchegante Lab e aos incríveis residentes: Buzunda, Sula e Piter. É muito experiência para uma casa só!

Muito obrigada ao Ob, ao Salsas e ao Ity, pelos sorrisos involuntários desencadeados pelas pessoas mais determinadas, mobilizadas e livres de preconceito que tive o prazer de conhecer.

Um agradecimento muito especial ao Totó. Por ter entrado na minha vida de uma forma tão inesperada e encantadora, e por me dar lições constantes de que, para continuar nessa vida, vale a pena erguer a cabeça e ir à briga! Duduca, obrigada por estar ao meu lado!

Gostaria de agradecer aos companheiríssimos da Bio 45: Úlcera, Tênia, Loba, Ketchup e todos os moradores da Xoxô. Aos veteranos, Doidinho, Garça, Presunto e Lumbriga, por me acolherem desde caloura.

Agradeço, também, a todos aqueles que participaram comigo dos projetos que representam minha formação após todos esses anos. Obrigada a todos do PEIC, por me darem a oportunidade de me apaixonar pela educação, e conseguir entender o significado dessa transformação. Obrigada aos neurocientistas e educadores do Projeto Plural de 2010.

Agradeço à AAALL, por todas as vivências humanas possibilitadas. Em especial, àqueles que me mostraram a gratificação de trabalhar pela FILÔ, Salsas, Charales, Preta, Axé e Zé Manso, e àqueles que estiveram comigo nos piores e melhores momentos da vida atleticana, Cocota, Dasein, Bunda e Sobrinho.

Agradeço aos esportes da FILÔ, especialmente ao futsal e ao CISCA, por confiarem em mim e por contribuírem com aquelas horinhas prazerosas dos treinos de toda semana.

Meus sinceros agradecimentos ao InterBio, como participante e organizadora, por representar, ao mesmo tempo, um cenário de intensa troca e escape.

Muito obrigada ao pessoal da Biométrica, da Toyota – Sorocaba e do Pantanal: os verdadeiros filhos do Arvão, que contribuíram tanto para minha formação. Álvaro, valeu mesmo, prof.!

E um agradecimento especial à Rô, ou Xilema, por estar com seu carisma, com sua inteligência e comigo nessa trilha.

Gostaria de agradecer a todos os professores do Departamento de Biologia, que contribuíram imensamente para minha paixão pela profissão, e dos quais nunca esquecerei. Aqui, os agradecimentos especiais vão para a Sumi, por estar sempre por perto e por só fazer crescer meu encanto pela profissão, e ao Marcelo Pereira, por me mostrar o que significa ser humano. Agradeço também à Ana Lodi e à Elomena, pelo conhecimento de educação de surdos e de LIBRAS que tanto engrandeceram minha formação.

Cada um com sua contribuição, obrigada a todos que passaram pela minha vida ao longo desses cinco anos e meio de formação acadêmica e humana.

Agradeço, também, à FAPESP e ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

Disse a flor ao Pequeno Príncipe:

"É preciso que eu suporte duas ou três larvas se quiser conhecer as borboletas. Dizem que são tão belas!"

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

LAMONICA, L. C. **Influência da cópula e da nutrição adulta na performance reprodutiva de fêmeas selvagens de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae).** 2012. 35 p. Monografia (conclusão de curso) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Em algumas espécies de insetos holometábolos, a oviposição ocorre mesmo na ausência de alimentação durante a fase adulta, devido ao estoque de nutrientes decorrente da alimentação na fase larval. Outras espécies necessitam da ingestão de proteínas na fase adulta para a produção de oócitos. Além disso, a ocorrência de cópulas múltiplas pode interferir no comportamento reprodutivo da fêmea, devido ao oferecimento de material nutritivo dos machos por meio dos espermatóforos, já que estes contêm tanto substâncias que estimulam a oviposição quanto substâncias nutritivas. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência 1) do número de cópulas e 2) da ingestão de fonte proteica na performance reprodutiva de fêmeas de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera, Pieridae). Os ovos foram coletados em campo, as larvas criadas em laboratório e os adultos recém-emergidos, transferidos para uma casa de vegetação, na presença de hospedeiros de oviposição (*Brassica oleraceae*) e alimentadores. No experimento 1, foram testadas fêmeas que não copularam (controle), que copularam uma (tratamento 1) e duas vezes (tratamento 2) (N=10/tratamento). No experimento 2, fêmeas copuladas uma vez foram alimentadas com dieta sem fonte proteica (água e mel) e com fonte proteica (água, mel e lêvedo) (N=11/tratamento). Os parâmetros registrados foram: número de ovos/fêmea, tempo para o início da oviposição e longevidade das fêmeas. Apesar dos grupos não terem apresentado diferença significativa para a maioria dos parâmetros, provavelmente devido ao pequeno tamanho amostral, os resultados encontrados são interessantes. Fêmeas que copularam duas vezes colocaram mais ovos, apesar da menor longevidade, que fêmeas que copularam uma vez. Fêmeas não-copuladas colocaram menos ovos e demoraram mais para iniciar a oviposição, sugerindo uma maior espera pela oportunidade de cópula. Fêmeas alimentadas com dieta sem fonte proteica apresentaram uma tendência a uma melhor performance reprodutiva do que as alimentadas com fonte proteica. Apesar dos claros benefícios da ingestão de proteína durante a fase larval para a performance, na fase adulta a

suplementação protéica parece sobrecarregar fisiologicamente a fêmea, causando prejuízos na performance reprodutiva. Coletas de dados adicionais são necessárias para uma maior apuração dos resultados.

Palavras-chave: insetos, oviposição, nutrição, *Brassica oleraceae*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gaiolas de madeira cobertas com tule e com abertura para manipulação na casa de vegetação..... 9

Figura 2. Alimentador..... 10

Figura 3. Dietas sem (Dieta 1) e com (Dieta 2) fonte proteica embebidas em algodão e servidas nos alimentadores..... 10

Figura 4. Média ± erro padrão (N=10) dos parâmetros: número total de ovos depositados (a), início da oviposição (b) e longevidade (c) de fêmeas de *A. monuste orseis* virgens (C), com uma (E1) e duas (E2) cópulas (Teste Kruskal-Wallis, p>0,05). Números acima das barras de erros representam as médias de cada tratamento..... 14

Figura 5. Frequência relativa do número de ovos por postura (%) para fêmeas virgens (a), que copularam uma (b) e duas (c) vezes. Números acima das barras de erros representam a frequência relativa de cada categoria..... 15

Figura 6. Média ± erro padrão (N=11) dos parâmetros: número total de ovos depositados, início de oviposição e longevidade de fêmeas de *A. monuste orseis* que ingeriram dieta sem (a) e com (b) fonte proteica (Teste de Mann-Whitney, p>0,05 para a e b e p<0,05 para c). Números acima das barras de erros representam a média de cada parâmetro. *diferença significativa..... 17

SUMÁRIO

Dedicatória.....iii
Agradecimentos.....iv
Resumo.....viii
Lista de Figuras.....x

Introdução.....1
Introdução Geral.....1
Efeitos da cópula .na oviposição.....3
Efeitos da nutrição adula na oviposição.....4

Objetivos.....7

Material e Métodos.....8
Coleta dos ovos.....8
Criação dos imaturos e dos adultos.....8
Preparação das dietas dos adultos.....9
Montagem e manutenção dos experimentos.....11
Análise de dados.....12

Resultados.....13
Resultados da fase 1.....13
Resultados da fase 2.....16

Discussão.....19

Conclusão.....25

Considerações finais.....26

Referências Bibliográficas.....28

INTRODUÇÃO

Introdução Geral

O cuidado maternal tem um efeito biológico importante para a ecologia e a evolução dos animais, podendo contribuir, de maneira complexa, para o fenótipo da prole (Bernardo, 1996). Esse cuidado tem início antes mesmo do nascimento da progênie, tem efeitos diversos entre a maioria dos taxa e se relaciona com a performance dos imaturos desde cedo (Bernardo, 1996).

Entre os insetos, o sucesso na eclosão dos imaturos e o desenvolvimento adequado da prole dependem, mesmo que indiretamente, dos processos fisiológicos da fêmea parental (Fox, 1993) e da sua escolha do sítio de oviposição (Rausher, 1983 *apud* Resetarits-Jr., 1996; Thompson, 1988). Nesse sentido, a ocorrência de cópula, o número de cópulas e a alimentação larval e adulta podem influenciar o comportamento de oviposição de diversas formas.

A espécie *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) – o curuquerê da couve – é considerada herbívora oligófaga, pois se alimenta somente de plantas da família Brassicaceae durante a fase imatura e de néctar de flores e sucos de frutos maduros durante a fase adulta (Felipe & Zucoloto, 1993). Porém, larvas recém-eclodidas ingerem o córion do seu próprio ovo e de ovos da mesma postura, sendo que o córion ingerido chega a representar metade da massa corporal das larvas nessa fase do desenvolvimento (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2001). A ingestão do córion ocorre antes do início da ingestão do hospedeiro e tem um efeito positivo na performance do inseto (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2001). Além disso, as lagartas ingerem seu exoesqueleto após a ecdise (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2001) e realizam canibalismo de ovos e lagartas recém-eclodidas (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2001; Zago-Braga & Zucoloto, 2004), razão pela qual alguns autores não consideram a espécie exclusivamente herbívora (Barros-Bellanda & Zucoloto 2001, 2005).

Entre os hospedeiros de *A. monuste orseis* mais conhecidos, a couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.) destaca-se pela riqueza em vitaminas, minerais e fibras, e pela facilidade de cultivo (Tagliari, 2007). É encontrada o ano todo, embora seja típica de clima frio, possuindo pico de crescimento no outono-inverno (Tagliari, 2007). *A. monuste orseis* desenvolve-se somente nos períodos mais quentes do ano no hemisfério

Sul, de novembro a maio, mantendo-se em subpopulações durante o período frio e seco (Barros, 1998). A presença de glicosinolatos, característica das brassicáceas, ocorre em concentrações variadas (Bittencourt-Rodrigues & Zucoloto, 2005) e são esses compostos a substância responsável pelo reconhecimento do hospedeiro por adultos e larvas de Lepidoptera (Chew, 1988).

Fêmeas de *A. monuste orseis* colocam vários ovos em uma mesma postura em campo (em média, posturas com 40 ovos, chegando até posturas com mais de 100 ovos) e as larvas se alimentam em grupo no local onde a mãe ovipositou. Na maioria das espécies de Lepidoptera, as fêmeas colocam os ovos isolados e as larvas se desenvolvem solitárias (Stamp, 1980). Apesar de ovipositar em agregados, não há competição intraespecífica entre imaturos de *A. monuste orseis* durante os primeiros ínstares, uma vez que os indivíduos nesse período ingerem uma pequena quantidade de alimento; já durante os três ínstares finais, os imaturos migram para outras regiões do hospedeiro a fim de completar o desenvolvimento (Catta-Preta & Zucoloto, 2003). Larvas de 4º e 5º ínstares são capazes de se mover razoavelmente, até para outro cultivar (Catta-Preta & Zucoloto, 2003).

Percebe-se, então, que a oviposição é particularmente crucial nos Lepidoptera, uma vez que as larvas recém-eclodidas são relativamente imóveis e, portanto, dependem da escolha criteriosa da planta pela fêmea adulta. Dessa forma, as pistas sensoriais, que podem induzir ou inibir a oviposição, exercem um importante papel na sobrevivência desses animais, assim como na da maioria dos insetos (Renwick & Chew, 1994).

A. monuste orseis prefere ovipositar em plantas que não possuem oviposição anterior (Bastos *et al.*, 1997; Barros-Bellanda & Zucoloto, 2005). Tal fato pode ser devido à utilização de marcadores químicos pelas fêmeas nas folhas em que ovipositam, o que impediria uma oviposição excessiva na mesma folha, reduzindo a competição intraespecífica entre as larvas eclodidas (Mitchell, 1975; Vasconcellos-Neto & Monteiro, 1993). Além disso, especificamente em *A. monuste orseis*, há um alto risco de canibalismo, o que pode explicar a ocorrência de oviposição em mesma folha que outras posturas de ovos, mas não quando larvas coespecíficas estão presentes (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2005).

Os eventos comportamentais em direção à oviposição por mariposas ou borboletas grávidas geralmente seguem a sequência de procura, orientação, encontro, aterrissagem, avaliação da superfície e aceitação ou rejeição do hospedeiro, sendo todos

os estágios dessa sequência dependentes de uma ampla variedade de pistas sensoriais (Renwick & Chew, 1994).

Após a seleção da planta adequada para oviposição, os oócitos maduros passam pelo oviduto do aparato reprodutivo das fêmeas por um processo chamado ovulação (Klowden, 2007). As células foliculares que envolvem o oócito degeneram, deixando-o livre para mover-se por meio do oviduto (Klowden, 2007). As contrações musculares dos ovaríolos e do oviduto são coordenadas por miotropinas secretadas por células neurosecretoras quando o Sistema Nervoso Central recebe a informação de que ocorreu a cópula e de que os ovos estão maduros (Chapman, 1998).

Os ovos podem, então, ser fixados na superfície do hospedeiro e protegidos contra dessecação e predadores pela secreção das glândulas acessórias das fêmeas, as quais aparecem bem desenvolvidas em fêmeas de Lepidoptera que cobrem os ovos com essas secreções (Chapman, 1998).

Visto que o comportamento de oviposição é essencial para o sucesso das espécies de Lepidoptera, assim como dos demais grupos de insetos, o estudo de fatores que influenciam a oviposição da fêmea de *A. monuste orseis* é de grande importância na compreensão da biologia e das relações ecológicas dessa espécie.

Efeitos da cópula na oviposição

A vida reprodutiva dos insetos tem seu primeiro passo na maturação sexual de machos e fêmeas (Gillott, 2005). O controle dessa maturação se dá por intermédio de hormônios e a habilidade de maturar oócitos em quantidades variadas e no tempo apropriado permite aos insetos ajustar taxas de maturação conforme variações na qualidade e na disponibilidade de hospedeiro (Papaj, 2000). Esse controle é afetado por fatores ambientais – temperatura, umidade, fotoperíodo – e por outros fatores relacionados à estrutura e densidade da população, à cópula e à quantidade e qualidade de alimento ingerido (Gillott, 2005).

A cópula é o comportamento pelo qual ocorre a transferência de esperma do macho para a fêmea. A localização do parceiro pelos insetos ocorre através de mecanismos visuais, olfatórios, auditivos e táteis (Gillott, 2005). Além disso, a nutrição, não apenas dos adultos, mas também durante a fase imatura dos insetos, tem um importante papel na quantidade e qualidade dos presentes nupciais e no comportamento e fisiologia envolvidos com o comportamento de cópula (Medeiros *et al.*, 2008). A

alimentação do macho, por exemplo, pode interferir no tamanho dos espermatóforos produzidos (Delisle & Bouchard, 1995). O tamanho do espermatóforo, bem como o tamanho do macho com o qual a fêmea copula, pode influenciar a fecundidade das fêmeas (Cardoso *et al.*, 2009), e quanto maior o ejaculado recebido, maior o período refratário, ou seja, maior o tempo de espera até a próxima cópula (Cardoso *et al.*, 2009) em espécies que copulam mais de uma vez.

O conteúdo das glândulas acessórias dos insetos inclui aminoácidos, carboidratos, lipídios, ácido úrico, prostaglandinas e hormônios – como o Hormônio Juvenil –; esse conteúdo é transferido às fêmeas e efetua uma série de funções, como a proteção do esperma depositado pelo macho e a interferência na fecundidade, na ovulação, na oviposição e no comportamento reprodutivo da fêmea (Gillott, 2005). Além disso, algumas substâncias transferidas pelo macho podem proteger os ovos contra predação (Dussourd *et al.*, 1988, 1989; Medeiros *et al.*, 2008;).

A ocorrência de cópulas múltiplas pode aumentar a longevidade (Silva, 2008) e/ou melhorar o estado nutricional da fêmea, devido ao oferecimento de material nutritivo dos machos por meio das secreções das glândulas acessórias, dos espermatóforos e do alimento coletado ou do ejaculado, já que essas substâncias fornecidas contêm tanto substâncias que estimulam a ovulação e a oviposição, quanto substâncias nutritivas (Chen, 1984). Dessa forma, cópulas múltiplas podem aumentar a fecundidade de fêmeas adultas e a taxa de eclosão das larvas (Kamimura, 2003). Por outro lado, cópulas múltiplas também podem causar uma redução na longevidade das fêmeas (Kawagoe *et al.*, 2001), provavelmente devido ao custo fisiológico relacionado à cópula.

Muitas fêmeas de insetos retêm os oócitos enquanto permanecem virgens, os depositando no hospedeiro apenas após a cópula (Chapman, 1998). Essa mudança de comportamento é induzida por peptídeos e outras substâncias transferidas à fêmea pelos machos por meio das glândulas acessórias (Chapman, 1998), ou seja, a prontidão para a oviposição é influenciada pela cópula.

Efeitos da nutrição adulta na oviposição

A alimentação dos insetos na fase imatura pode influenciar a massa corporal, o tempo de desenvolvimento, a sobrevivência, a composição química do corpo e o tamanho do adulto (Slansky & Scriber, 1985). Na fase adulta, são influenciadas a

produção de oócitos, a habilidade na cópula, a sobrevivência e a capacidade para dispersão (Slansky & Scriber, 1985). A alimentação inadequada durante a fase imatura pode, frequentemente, retardar a emergência do adulto, o que pode resultar em uma dessincronia dos adultos em relação aos seus hospedeiros (Slansky & Scriber, 1985). Além disso, o tamanho reduzido quando adultos e a falta de nutrientes estocados durante a fase imatura podem prejudicar a produção de feromônios, afetando a produção de oócitos e a competição por parceiros sexuais (Slansky & Scriber, 1985).

A maioria dos lepidópteros alimenta-se muito na fase imatura, e os adultos emergem praticamente prontos para a reprodução (Bernays, 1998), já que a alimentação age indiretamente sobre o processo de maturação sexual por meio da ativação do sistema endócrino (Wheeler, 2006). Em alguns insetos, a ingestão de fontes proteicas é necessária para a ativação desse sistema, relacionado à produção de oócitos (Wheeler, 2006), a qual parece ter efeito no comportamento de oviposição (Papaj, 2000). Essa necessidade de ingestão de proteína pode diminuir no adulto em casos de ingestão de itens não vegetais na fase larval, o que proporciona maior sequestro de nutrientes necessários para a produção dos oócitos (Medeiros *et al.*, 2008)..

Os nutrientes utilizados na produção de oócitos pelas fêmeas de Lepidoptera derivam, em diferentes graus, da alimentação larval e adulta (Boggs & Gilbert, 1979; Boggs, 1997; Erhardt & Rusterholz, 1998), e a falta de alimento para algumas fêmeas pode resultar na supressão da maturação dos oócitos pelo controle hormonal exercido pelo Hormônio Juvenil, que induz a síntese de vitelo pelo corpo gorduroso em algumas espécies (Wheeler, 1996).

Larvas de Lepidoptera chegam a ingerir de duas a três vezes a sua massa corporal durante os últimos dias dos ínstares finais (Bernays, 1998). A alimentação larval sustenta o crescimento dos indivíduos durante essa fase do desenvolvimento e, posteriormente, os nutrientes são acumulados e estocados ao longo da metamorfose para o corpo do adulto; alguns deles podem ser alocados como reserva na forma de lipídios ou proteínas (Boggs & Freeman, 2005). Devido ao estoque de nutrientes decorrente da alimentação na fase larval, a oviposição em algumas espécies de Lepidoptera pode ocorrer até mesmo na ausência de alimento na fase adulta (Telang *et al*., 2001). Os recursos energéticos adquiridos na fase larval podem contribuir para o processo de vitelogênese e para a maturação dos oócitos antes mesmo da emergência do adulto (Milano *et al.*, 2010).

A alimentação dos adultos também é bastante importante para a reprodução dos lepidópteros, já que, em algumas espécies, 80% do carbono presente nos ovos produzidos pelas fêmeas é derivado do néctar ingerido na fase adulta (Boggs, 1997; O'Brien *et al.*, 2004). Segundo Milano *et al.* (2008), a maturação de novos oócitos é dependente da nutrição na fase adulta e os nutrientes transferidos pelo macho junto ao fluido seminal não substituem os nutrientes adquiridos via alimentação em algumas espécies. Porém, a alimentação nessa fase pode apresentar diferentes efeitos na fecundidade e na longevidade das fêmeas entre espécies distintas, principalmente em relação à ingestão de aminoácidos. Apesar de as flores polinizadas por borboletas terem o néctar rico em aminoácidos (Mevi-Schütz & Erhardt, 2005), o acréscimo de outros itens proteicos à dieta adulta pode acarretar efeitos positivos (Mevi-Schütz & Erhardt, 2005), negativos (Hill, 1989) ou nulos (Hill & Pierce, 1989) à fecundidade.

Dessa forma, observa-se que a ingestão de fonte proteica durante a fase adulta não resulta em efeitos únicos na performance reprodutiva de fêmeas de Lepidoptera e outros insetos. Por esta razão, o estudo desses efeitos em diferentes grupos são necessários para uma melhor compreensão dos processos fisiológicos que levam a esses diferentes resultados ecológicos.

OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi verificar a influência da cópula e da nutrição adulta no comportamento de oviposição de fêmeas de *A. monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae). Para isso, o trabalho foi dividido em duas fases:

FASE 1.

Estudar, em casa de vegetação e na ausência de predadores, a influência do número de cópulas na performance de fêmeas de *A. monuste orseis*, tendo como parâmetros o número total de ovos depositados por fêmea, o tempo até o início da oviposição e a longevidade das fêmeas. Espera-se que um maior número de cópulas influencie positivamente a performance reprodutiva das fêmeas analisadas, já que durante a cópula há a passagem de nutrientes do macho para a fêmea por meio dos presentes nupciais. Dessa forma, é esperado um maior número de ovos, um menor tempo até o início da oviposição e uma maior longevidade para as fêmeas que copularem mais vezes.

FASE 2.

Verificar, em casa de vegetação e na ausência de predadores, a influência da ingestão de fonte proteica por fêmeas adultas de *A. monuste orseis* na sua performance reprodutiva. Os parâmetros são os mesmos mencionados na fase 1. A hipótese é a de que a ingestão de fonte proteica possa interferir positivamente na performance reprodutiva das fêmeas, já que aumentaria o valor nutricional da dieta ingerida pelas borboletas, em comparação ao que ocorre na natureza. Dessa forma, são esperados o aumento do número de ovos e da longevidade, além de uma diminuição do tempo até o início da oviposição das fêmeas alimentadas com fonte proteica quando comparadas àquelas que ingeriram apenas a dieta controle.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta dos ovos

Para a realização dos experimentos das duas fases, posturas de *A. monuste orseis* foram coletadas em folhas de couve variedade manteiga (AG20) em uma horta, na qual não se aplicou nenhum tipo de agrotóxico, localizada próxima ao bloco 7 do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP (FFCLRP / USP – 21º 09' 55" S; 47º 51' 38" O) e levadas ao Laboratório de Nutrição e Comportamento Alimentar de Insetos (FFCLRP/USP).

Criação dos imaturos e dos adultos

Após a eclosão, as larvas foram criadas em caixas de acrílico transparentes (12 x 18 x 28 cm) forradas com papel toalha umedecido e mantidas em estufa (70 x 23 x 29 cm) e câmara climática ELETROLAB® (93,5 x 50 x 51 cm, modelo EL 212) em condições abióticas controladas: temperatura de 29±1°C, umidade relativa de 75% e luz fluorescente (400 lx) por 10 horas ao dia (das 8h às 18h).

Durante todo o período larval, as larvas foram alimentadas com folhas de couve variedade manteiga (AG20), retiradas do hospedeiro e fornecidas ainda frescas às lagartas. Nos ínstares iniciais, as folhas de couve e o papel toalha umedecido eram trocados a cada dois dias; porém, aproximadamente a partir do terceiro instar, as trocas de alimento e a higienização das caixas foram realizadas diariamente.

Após a emergência, os adultos foram separados por sexo e colocados em gaiolas de alumínio (20 x 20 x 20 cm) cobertas com tule e com abertura para a manipulação das borboletas. As datas de emergência de cada indivíduo foram anotadas.

Os adultos dos diferentes tratamentos foram transferidos para gaiolas de alumínio ou de madeira (80 x 80 x 80 cm) cobertas com tule e com abertura para a manipulação (Figura 1) das mesmas e mantidas em casa de vegetação (5,3 x 2,3 m de base e 3,9 m de altura), localizada próxima ao bloco 7 do Departamento de Biologia.

Figura 1. Gaiolas de madeira cobertas com tule e com abertura para manipulação na casa de vegetação.

Preparação das dietas dos adultos

Para os experimentos da fase 1, as fêmeas foram alimentadas com uma dieta padrão de água e açúcar, de concentração aproximada de 0,55 g/L, e corante alimentício azul, embebida em algodão e sustentada por alimentadores (Figura 2) confeccionados com placas circulares de 6 cm de diâmetro e 1 cm de profundidade pendurados no interior das gaiolas da casa de vegetação.

Para a fase 2, o mesmo procedimento acima foi realizado, mas as borboletas de tratamentos diferentes foram alimentadas com duas dietas distintas (Figura 3). Uma delas foi composta apenas por água, mel dissolvido (25 g de mel para 200 ml de água) e corante alimentício azul. A outra dieta foi constituída por água, mel dissolvido, corante e lêvedo. Para a preparação desta, 6,25 g de lêvedo foram dissolvidos em 100 ml de água, enquanto 25 g de mel foram dissolvidos em outros 100 ml de água. A solução de água e mel foi levada ao fogo até ferver e, então, a solução de lêvedo foi acrescentada aos poucos, até se obter uma solução homogênea. O corante alimentício azul foi acrescentado após o resfriamento da dieta e as duas dietas foram disponibilizadas às

borboletas embebidas em algodão, como na fase 1. A dieta com fonte proteica havia sido testada previamente, quando foi observado que fêmeas de *A. monuste orseis* a ingeriam e, por isso, optou-se por manter a receita.

O número de gotas do corante alimentício utilizado nas duas fases experimentais não foi padronizado, uma vez que cada dieta apresentava uma consistência. Dessa forma, foi acrescentado corante até a obtenção de colorações semelhantes para todas as dietas (Figura 3).

Em ambos os experimentos, as dietas foram trocadas a cada dois dias. As dietas foram armazenadas em geladeira após o preparo.

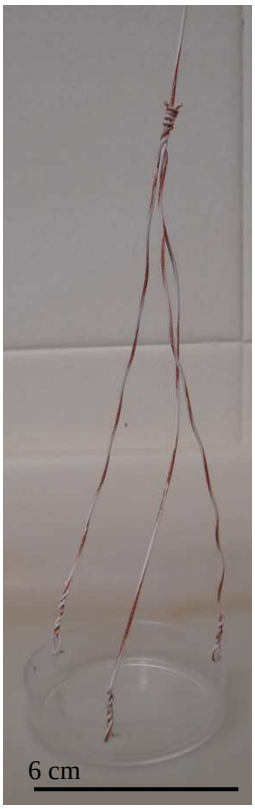

Figura 2. Alimentador.

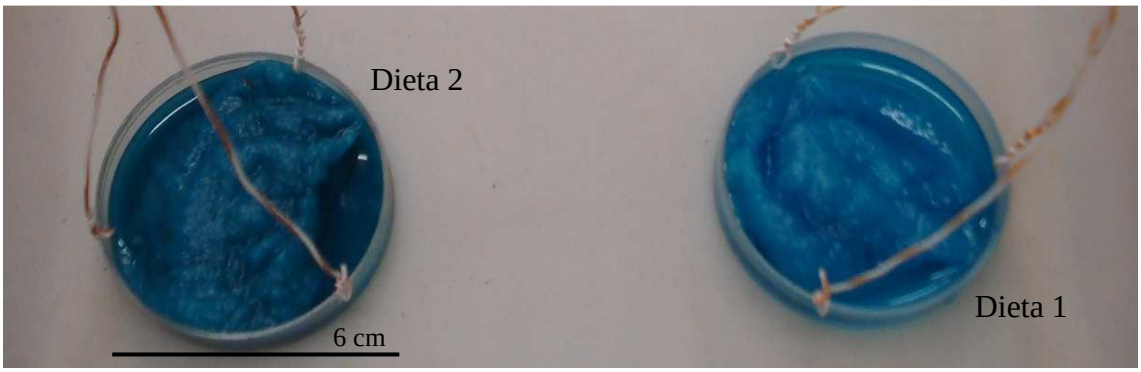

Figura 3. Dietas sem (Dieta 1) e com (Dieta 2) fonte proteica embebidas em algodão e servidas nos alimentadores.

Montagem e manutenção dos experimentos

Fêmeas com um dia de vida foram colocadas nas gaiolas anteriormente descritas, na casa de vegetação, na presença do alimentador e de um vaso de couve – o hospedeiro de oviposição. Após um dia nessa condição, um macho de mesma idade e não alimentado previamente foi colocado em cada gaiola para a ocorrência de cópula. A ocorrência ou não de cópula foi registrada por meio da observação dos casais após a colocação do macho nas gaiolas.

Para a fase 1, os casais foram divididos em três tratamentos: “sem cópula” (tratamento controle – C), “uma cópula” (tratamento experimental 1 – E1) e “duas cópulas” (tratamento experimental 2 – E2) (N=10/tratamento). Os machos foram retirados das gaiolas após o número de cópulas esperado para cada tratamento. Mesmo as fêmeas que copularam duas vezes, o fizeram com o mesmo macho da primeira cópula. No tratamento “sem cópula”, o macho foi mantido no interior da gaiola, dentro de uma gaiola menor, pelo mesmo tempo dos machos que copularam, na tentativa de evitar que a simples presença do macho fosse uma variável.

Na fase 2, as fêmeas recém-emergidas foram separadas em dois tratamentos: fêmeas alimentadas com água e mel (grupo controle – C) e com água, mel e lêvedo (grupo experimental – E) (N=11/tratamento). Os casais foram mantidos juntos e, após observada cópula, os machos foram retirados.

Em ambas as fases, os machos foram retirados das gaiolas quando não houve ocorrência da cópula no período de observação e recolocados no dia seguinte, junto da mesma fêmea, para uma nova tentativa de cópula. O tempo de observação teve duração variando de 2 a 4 horas, e ocorreu entre as 10h e as 16h.

Nas duas fases, as folhas do hospedeiro de oviposição foram checadas diariamente para a contagem e registro das posturas dos ovos – data de postura e número de ovos por postura para cada fêmea. As folhas com posturas foram retiradas e levadas ao laboratório para o acompanhamento da eclosão. Além disso, registrou-se a longevidade das fêmeas. Os vasos com o hospedeiro de oviposição foram trocados toda semana.

As gaiolas foram mantidas até a morte das fêmeas, porém, a contagem dos ovos foi feita até o 15º dia, pois dados prévios mostraram que após esse período a oviposição é quase nula (dados não mostrados). Todas as fêmeas foram congeladas após a morte para posterior dissecação, realizada com o intuito de checar a ocorrência de cópula e do

número de cópulas, indicado pelo número de espermatóforos no interior da bolsa copuladora das fêmeas. O procedimento possibilitou a confirmação do que foi observado previamente, inclusive para a divisão de grupos da fase 1.

Após o descongelamento, as asas foram retiradas e os corpos fixados por alfinetes em placa de Petri com a região ventral do animal voltada para cima e coberta com solução salina 10%. Para abrir o abdômen, foram utilizados um estilete e pinças de ponta fina. O procedimento foi realizado sob estereomicroscópio trinocular Bel Photonics® (modelo SZT) com câmera de vídeo digital Bel Photonics de 1.3 MP acoplada (modelo DV 1300), e o programa Bell View foi utilizado para obtenção de imagens. Após a abertura do abdômen, a bolsa copuladora da fêmea era isolada e aberta para contagem dos espermatóforos em seu interior.

Análise de dados

Os parâmetros relativos à fase 1 foram comparados entre os tratamentos (C, E1 e E2) através do teste de Kruskal Wallis, devido à não-normalidade dos dados. Todos os parâmetros da fase 2 foram comparados através do teste de Mann Whitney. Para todos os testes foi considerado um α de 5%. Os dados foram analisados com o auxílio do programa GraphPad, o mesmo utilizado para confecção dos gráficos.

RESULTADOS

FASE 1 – *Influência da cópula na performance reprodutiva e na longevidade*

Apesar da ausência de significância de acordo com os testes estatísticos utilizados, os resultados encontrados mostraram tendências biológicas interessantes. Fêmeas virgens colocaram menos ovos do que fêmeas que copularam uma e duas vezes (Teste de Kruskal-Wallis, p=0,42, Figura 4a). Além disso, fêmeas virgens demoraram mais para iniciar a oviposição (Teste de Kruskal-Wallis, p=0,41) e apresentaram menor longevidade (Teste de Kruskal-Wallis, p=0,21) do que as fêmeas que copularam uma e duas vezes (Figura 4b e 4c, respectivamente). Fêmeas que copularam duas vezes também colocaram posturas com maiores agregações de ovos (Figura 5).

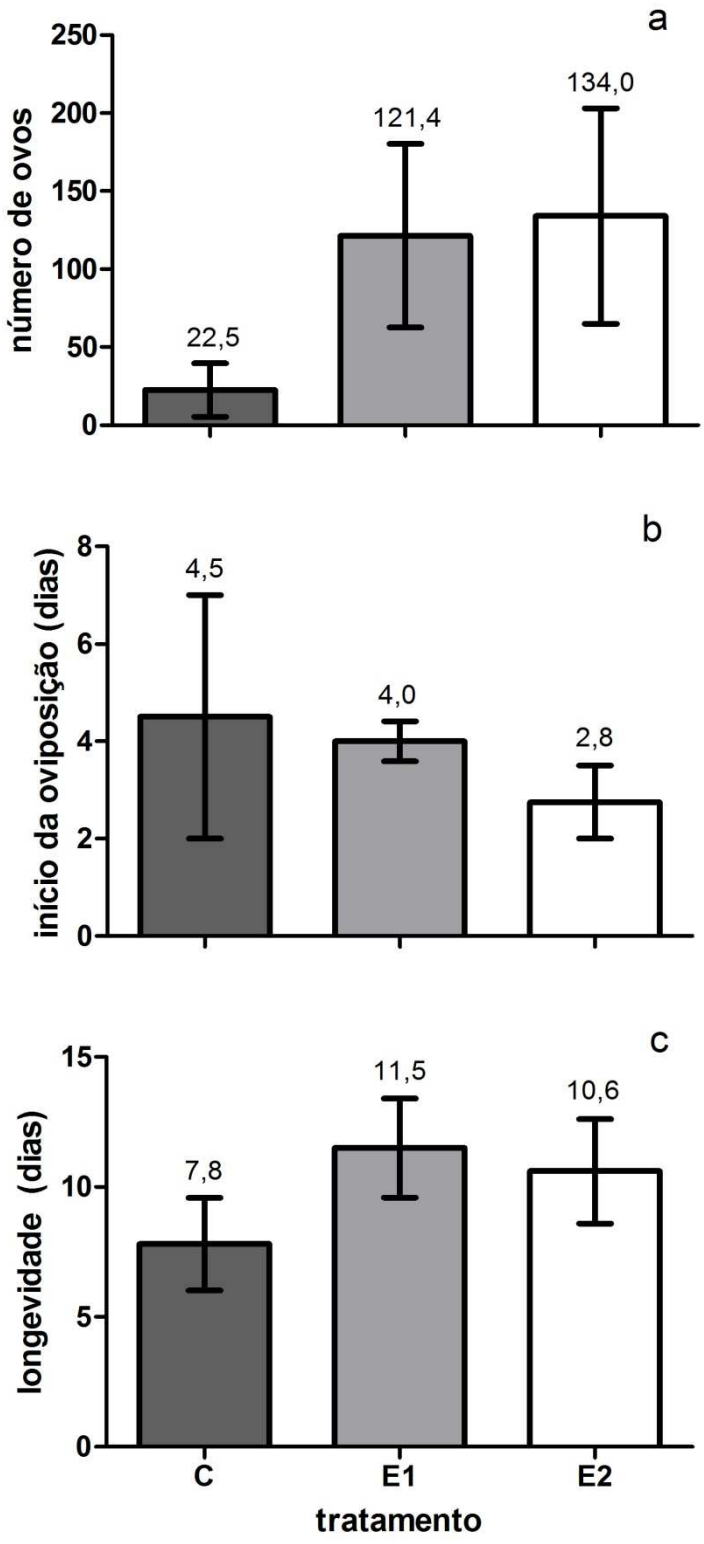

Figura 4. Média ± erro padrão (N=10) dos parâmetros: número total de ovos depositados (a), início da oviposição (b) e longevidade (c) de fêmeas de *A. monuste orseis* virgens (C), com uma (E1) e duas (E2) cópulas (Teste Kruskal-Wallis, p>0,05). Números acima das barras de erros representam as médias de cada tratamento.

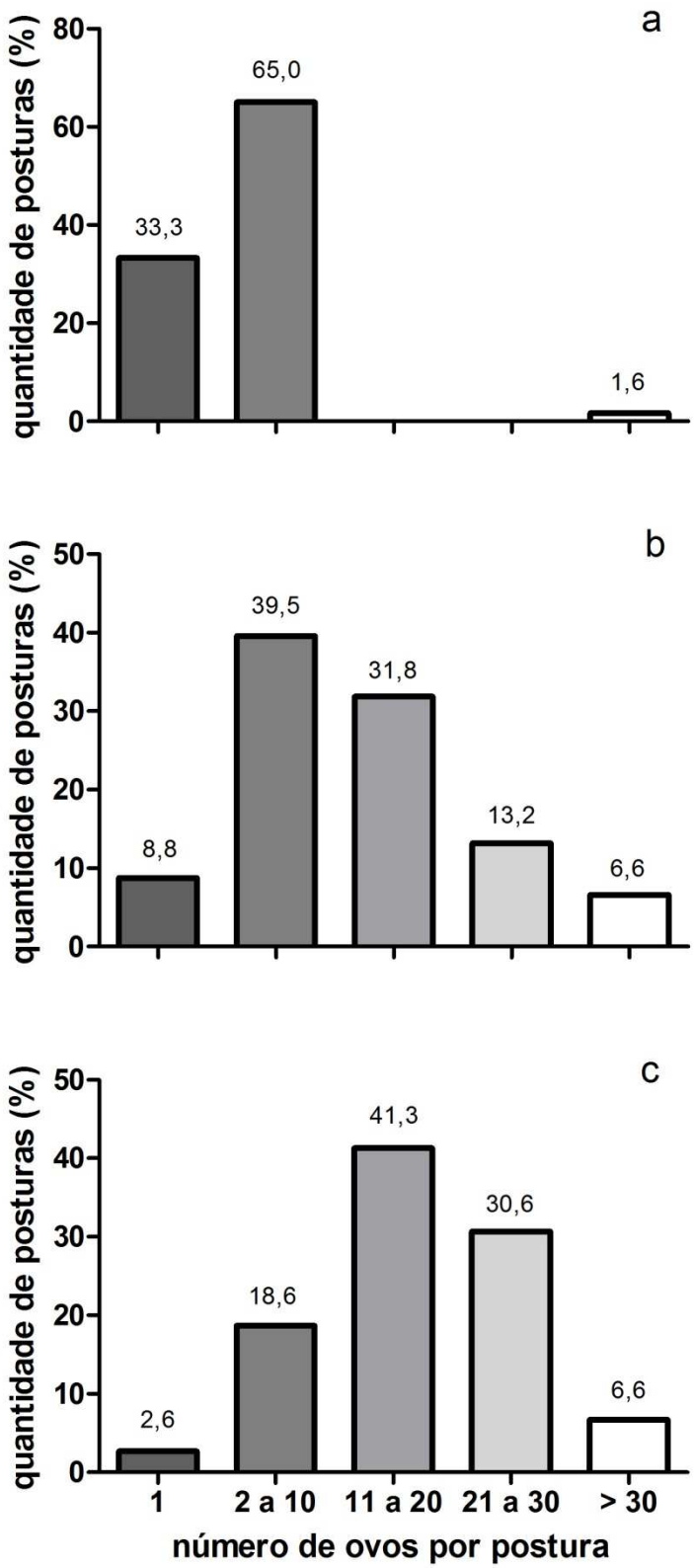

Figura 5. Frequência relativa do número de ovos por postura (%) para fêmeas virgens (a), que copularam uma (b) e duas (c) vezes. Números acima das barras de error representam a frequência relativa de cada categoria.

Com exceção de uma fêmea, que colocou uma única postura com 36 ovos, as fêmeas que não copularam colocaram apenas ovos isolados ou em posturas de no máximo 10 ovos (Figura 5). Enquanto isso, fêmeas que copularam uma ou duas vezes tiveram a maioria de suas posturas com mais de 10 ovos (Figura 5).

FASE 2 – *Influência da nutrição adulta na performance reprodutiva e na longevidade*

Fêmeas de *A. monuste orseis* alimentadas sem e com fonte proteica durante a fase adulta não apresentaram diferença significativa em relação aos parâmetros número de ovos (Teste de Mann-Whitney, p=0,12) e início de oviposição (Teste de Mann-Whitney, p=0,19). Apesar disso, de maneira geral, fêmeas que não ingeriram fonte proteica colocaram mais ovos (Figura 6a) e começaram a colocar ovos depois de fêmeas que tiveram fonte proteica na dieta (Figura 6b). Em relação à longevidade, fêmeas que não ingeriram fonte proteica durante a fase adulta viveram mais do que fêmeas que ingeriram dieta com fonte proteica (Teste de Mann-Whitney, p=0,04, Figura 6c).

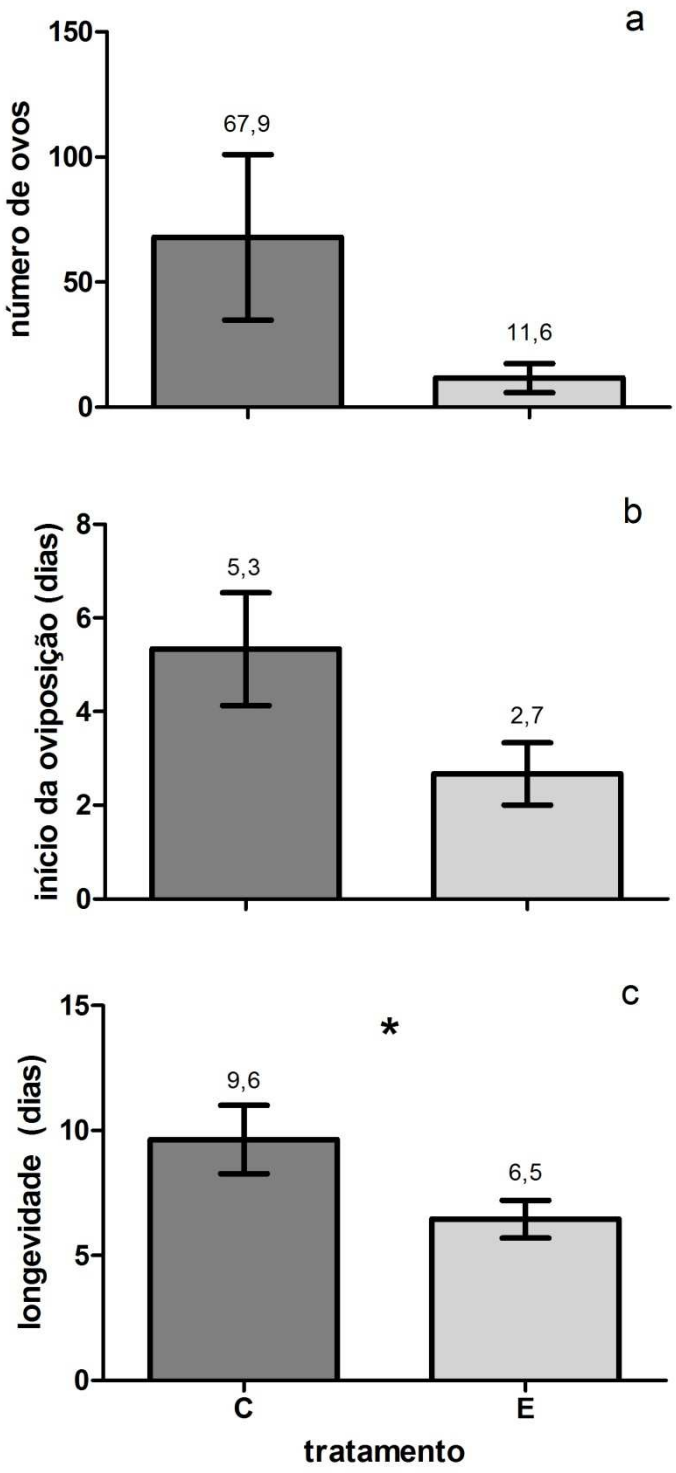

Figura 6. Média ± erro padrão (N=11) dos parâmetros: número total de ovos depositados, início de oviposição e longevidade de fêmeas de *A. monuste orseis* que ingeriram dieta sem (a) e com (b) fonte proteica (Teste de Mann-Whitney, p>0,05 para a e b e p<0,05 para c). Números acima das barras de erros representam a média de cada parâmetro. *diferença significativa.

As dissecações das fêmeas das fases 1 e 2 confirmaram o número de cópulas observado previamente, devido ao número correspondente de espermatóforos encontrados nas suas bolsas copuladoras.

DISCUSSÃO

Apesar de não terem apresentado diferenças estatísticas significativas, provavelmente devido ao pequeno tamanho amostral, os resultados encontrados representam tendências biológicas interessantes para discussão.

A ocorrência de cópula e o número de cópulas parece influenciar positivamente a performance reprodutiva das fêmeas de *A. monuste orseis*, já que aquelas que copularam apresentaram maior número de ovos e menor tempo até o início da oviposição. A longevidade só pareceu ser influenciada pela ocorrência ou não de cópula, e não pelo número de cópulas, enquanto o tamanho das posturas se relacionou positivamente com o número de cópulas.

A transferência de nutrientes dos machos para as fêmeas juntamente com o espermatóforo pode ser confirmada pela maior longevidade das fêmeas copuladas comparadas às virgens. Inclusive, observou-se que muitas fêmeas que não receberam o espermatóforo do macho acabaram morrendo sem colocar ovos.

Além da transferência do macho para as fêmeas de compostos de valor nutricional (Boggs & Gilbert, 1979; Boggs, 1995), o presente nupcial também se baseia em compostos relacionados à proteção da fêmea e de seus ovos (Dussourd *et al.*, 1988, 1989). Alguns desses defensivos químicos do adulto são derivados do hospedeiro alimentar da fase larval, mas algumas fêmeas podem perdê-los no momento da oviposição; a cópula, então, pode ser o meio pelo qual essas substâncias são repostas, devido à passagem desses compostos com o presente nupcial dos machos para as fêmeas (Cardoso *et al.*, 2009).

A demora até iniciar a oviposição, observada para as fêmeas virgens, pode indicar uma espera pela oportunidade de cópula. Apesar de as fêmeas dessa espécie colocarem ovos não fecundados normalmente, o gasto energético despendido na oviposição desses ovos parece ser desnecessário do ponto de vista biológico.

Ovos inférteis podem ser considerados ovos tróficos e parecem servir de alimento para a prole (Crespi, 1992). A oviposição de ovos tróficos tem chamado atenção de pesquisadores de diversos taxa (anfíbios, insetos, peixes e gastrópodes marinhos) (Perry & Roitberg, 2006) e, embora as diferentes espécies apresentem ecologias e histórias de vida distintas, elas parecem compartilhar uma estratégia maternal extraordinária: reativam a maquinaria ovariana para a produção de alimento

para seus descendentes, enquanto, às vezes, arriscam perder uma nova prole viável (Perry & Roitberg, 2006).

A função de ovos não fecundados para *A. monuste orseis* ainda é desconhecida, mas as posturas tróficas podem ter mesmo a função de alimento para uma nova prole que esteja por vir, ainda mais considerando que o canibalismo de ovos ocorre com frequência nesta espécie (Barros-Bellanda & Zucoloto, 2005). Quando falamos sobre fêmeas virgens, não há prole a ser alimentada, mas talvez os ovos tróficos sejam consumidos na ocorrência de uma oportunidade de cópula posterior. A oviposição de fêmeas virgens pode indicar um processo fisiológico natural, decorrente de um acúmulo de oócitos não fecundados que acabam sendo liberados, possibilitando a continuidade de síntese de outros oócitos pela fêmea.

Além da transferência de nutrientes e da oportunidade de fertilização, a cópula parece estimular o comportamento de oviposição, uma vez que o número de ovos por fêmea foi crescente conforme o número de cópulas. A oportunidade crescente de fecundação devido a um maior número de espermatozoides que alcançam a bolsa copulatória das fêmeas pode estimular a produção de ovos e, consequentemente, o comportamento de oviposição. Além disso, cópulas múltiplas parecem aumentar a fecundidade, devido também à contribuição acumulada de presentes nupciais (LaMunyon, 1997).

Foi observado por Morais *et al.* (2009) que os ovários de fêmeas virgens apresentam tamanho maior que os de fêmeas copuladas. Isso ocorre, muito provavelmente, pelo desenvolvimento e acúmulo de oócitos na base dos ovaríolos decorrente da ausência de cópula (Morais *et al.*, 2009). Segundo Steigenga & Fisher (2007), apesar da cópula não induzir o desenvolvimento desses oócitos, ela pode acelerar a oviposição. Sendo assim, fêmeas virgens tendem a reter seus oócitos dentro dos ovários por mais tempo (Morais *et al.*, 2009).

O estímulo à oviposição decorrente da cópula pode ser desencadeado por diversas vias. Em *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Bombycidae), o estímulo ocorre através da sensibilização de gânglios abdominais localizados na junção do duto seminal com o oviduto comum, e pela presença de células espermáticas férteis (Karube & Kabayashi, 1999). Já em *Zeiraphera diniana* (Guenée, 1845) (Tortricidae), o estímulo acontece com a própria presença do espermatóforo na bolsa copuladora e do esperma na espermateca (Benz, 1969).

Além do estímulo químico provocado pela cópula, esse comportamento se relaciona à oviposição também indiretamente, devido à influência na síntese de oócitos. A produção de oócitos por fêmeas de Lepidoptera depende de nutrientes que derivam, em diferentes graus, da alimentação larval e adulta (Boggs & Gilbert, 1979; Boggs, 1997). Porém, a nutrição adulta não se baseia apenas na ingestão de açúcares, mas também pode incluir substâncias que representam um investimento do macho na produção de oócitos (Boggs & Gilbert, 1979), o que pode ocorrer de diversas formas nos diferentes grupos e, nesse caso, pode justificar um aumento do número de ovos com o número de cópulas.

Em determinadas espécies de insetos, já foi verificado que os espermatóforos podem ser absorvidos pelas fêmeas internamente e, dessa forma, elas poderiam utilizar as estruturas lipoproteicas na produção dos oócitos e na própria manutenção somática (Boggs & Gilbert, 1979). Foi o que Boggs & Gilbert (1979) mostraram por meio de aminoácidos radioativos em três espécies de borboletas com diferentes hábitos de cópula e alimentação adulta. Tal trabalho reporta que os nutrientes passados com o espermatóforo dos machos foram incorporados aos ovos produzidos, o que foi observado já nos primeiros ovos, ou seja, a absorção ocorre rapidamente. Além disso, Boggs & Gilbert (1979) observaram que tanto os ovos férteis quanto os inférteis estavam radioativos, o que sugere que as substâncias passadas contribuem não apenas para a vitelogênese, mas também para a manutenção somática das fêmeas. Esses dados mostram uma nítida correlação entre cópula e longevidade das fêmeas, além de corroborar o efeito positivo da cópula na fecundidade observada em *A. monuste orseis*.

Quando as fêmeas apresentam o hábito de copular pela segunda vez, podem mostrar um segundo pico das substâncias passadas pelo macho incorporadas aos ovos, o que mostra uma dinâmica de incorporação, variando com cópulas múltiplas (Boggs & Gilbert, 1979). Porém, mais de duas cópulas mostram um decaimento do montante de substâncias transferidas (Boggs & Gilbert, 1979).

Vale ressaltar que o pequeno tamanho amostral da etapa experimental em questão pode ter tornado alguns dos nossos dados pouco consistentes para essa discussão. Isso porque das dez fêmeas que não copularam, oito morreram antes de colocar ovos, enquanto que nos outros dois grupos – de uma e duas cópulas –, quatro fêmeas ovipositaram normalmente antes de morrer. Além disso, uma das fêmeas que não copulou demorou consideravelmente até o início da oviposição, o que, consequentemente, significou um número total de ovos reduzido quando comparado aos

outros grupos. Repetições adicionais serão necessárias para uma maior robustez na discussão desses resultados.

O padrão das posturas também apresentou diferenças aparentes entre os grupos de diferentes números de cópulas: fêmeas virgens colocaram mais ovos isolados ou em pequenos grupos (com exceção de um grupo de 36 ovos, os demais não passaram de 10 ovos). Enquanto isso, fêmeas que copularam raramente colocaram ovos isolados; a maioria dos ovos pertencia a posturas grandes, resultado que pode estar relacionado aos benefícios do comportamento de agregação larval de *A. monuste orseis* (Santana, 2012).

O comportamento de ovipositar em agregados é típico da espécie e representa uma estratégia biológica que pode significar benefícios para a prole, principalmente relativos ao forrageio e ao aumento de defesa contra predadores (Santana, 2012). Além disso, agregações maiores de ovos de *A. monuste orseis* correlacionam-se com maiores taxas de eclosão das larvas (Santana, 2012). Em seu doutorado, Santana (2012) encontrou benefícios na performance larval e adulta dos indivíduos agregados, além de as agregações aumentarem a viabilidade dos ovos, a assimilação de alimento pelas larvas e a proteção larval contra inimigos naturais.

Os ovos férteis, provindos das fêmeas que copularam uma e duas vezes, são mais comumente colocados em agregados quando comparados aos ovos inférteis, colocados pelas fêmeas virgens. Tal fenômeno pode estar relacionado com o hábito da espécie de ovipositar em agregações descrito acima: ovos inférteis não geram descendentes e, nesse sentido, a oviposição em agregados não é necessariamente vantajosa. Possivelmente, a cópula e, consequentemente, a fecundação dos oócitos, influenciam as escolhas da fêmea grávida, o que pode determinar o tamanho de cada postura. Na ausência de cópula, então, a determinação por agregados maiores de ovos parece não existir, provavelmente pela ausência de algum estímulo fisiológico.

Sugere-se que o mecanismo regulador dos tamanhos das posturas seja uma resposta aos mesmos estímulos usados pelas fêmeas na seleção de hospedeiros de oviposição (Bergström *et al.*, 2006).

Quanto à influência da dieta adulta na performance reprodutiva das fêmeas, o ponto mais interessante das tendências encontradas é que elas vão de encontro com a hipótese inicial do trabalho, de que a ingestão de fonte proteica seria positiva para a performance reprodutiva da espécie. Essa hipótese baseou-se no efeito positivo da ingestão de proteína durante a fase adulta conhecido para algumas espécies de insetos,

como, por exemplo, o díptero *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera, Tephritidae) (Cangussu e Zucoloto, 1995).

Apesar das fêmeas de *A. monuste orseis* testadas que ingeriram fonte proteica terem começado a ovipositar mais cedo, aquelas que se alimentaram apenas com água e mel colocaram mais ovos e viveram mais. A suplementação proteica em *A. monuste orseis* parece sobrecarregar fisiologicamente a fêmea, corroborando o prejuízo apresentado na performance reprodutiva de fêmeas do tratamento alimentado com fonte proteica. Isso pode ocorrer pela ausência de mecanismos de digestão de proteína da espécie na fase adulta. Como o alimento natural dos adultos dessa espécie é pobre em relação a este nutriente, a necessidade de degradação e incorporação deste é pequena.

Os efeitos da ingestão de itens proteicos variam muito entre as diferentes espécies de Lepidoptera. Para *Bicyclus anynana* (Butler, 1879) (Nymphalidae), *Charaxes fulvescens* (Aurivillius, 1891) (Nymphalidae) e *Jalmenus evagoras* (Donovan, 1805) (Lycanenidae), por exemplo, a ingestão de aminoácidos na fase adulta não interferiu no potencial reprodutivo e na longevidade das fêmeas (Molleman *et al.*, 2008a; Molleman *et al.*, 2008b; Hill & Pierce, 1989, respectivamente). Em indivíduos de *Euploea core corinna* (Macleay, 1826) (Nymphalidae), a disponibilidade de proteína na fase adulta não interferiu na longevidade e ainda mostrou um efeito negativo na fecundidade (Hill, 1989). Para *Pieris brassicae* (Linnaeus, 1758) (Pieridae), as fontes de alimento da fase adulta tiveram efeito significativo na fertilidade, longevidade, período reprodutivo e taxa de oviposição diária; alguns açúcares acarretaram num grande aumento da longevidade, enquanto outros significaram uma diminuição da mesma (Romeis & Wäckers, 2002). Os itens proteicos pareceram ter nenhum ou um pequeno efeito nos parâmetros testados para essa espécie; porém, quando acrescidos a um açúcar de efeito negativo na fecundidade, pareciam compensar tal efeito, mantendo a fecundidade (Romeis & Wäckers, 2002). De forma geral para os Lepidoptera, o açúcar é mostrado como um importante componente da dieta adulta, enquanto o requerimento de aminoácidos continua não tendo um papel conservador dentre as espécies.

Embora não tenha havido diferença significativa para o número de ovos entre os tratamentos, os resultados para esse parâmetro podem ser analisados juntamente à longevidade das fêmeas, já que a fecundidade pode ser determinada pela longevidade (Boggs & Freeman, 2005). Além disso, a longevidade e suas influências parecem ser os fatores mais proximamente relacionados à fecundidade entre os lepidópteros (Leather, 1988). Outra relação íntima é estabelecida entre a longevidade e a disponibilidade de

alimento na fase adulta (Leather, 1988), o que também foi mostrado nos resultados do presente trabalho.

Há a possibilidade de fêmeas que foram alimentadas com dieta proteica terem ingerido uma menor quantidade de alimento por não serem estimuladas pelo cheiro, sabor, cor, textura ou alguma outra substância presente nas dietas. Ou, ainda, pode haver algum subproduto (determinada vitamina ou certo aminoácido) de valor tóxico para a espécie no lêvedo utilizado na dieta.

O efeito de uma menor ingestão da dieta proteica pode ser comparado ao resultado encontrado por Boggs & Ross (1993), um decréscimo linear da reprodução com a redução na ingestão de néctar por *Speyeria mormonia* (Boisduval, 1869) (Nymphalidae). Fêmeas privadas de néctar não tiveram a sobrevivência afetada, mas a diminuição da reprodução foi consequência de uma reabsorção dos oócitos, e uma realocação dos seus nutrientes (Boggs & Ross, 1993). Da mesma maneira, a redução do número de ovos em *A. monuste orseis* pode estar relacionada a uma reabsorção dos oócitos desencadeada pelo possível estresse alimentar na fase adulta.

Essa realocação foi observada também em *E. core corinna*, espécie para a qual o acréscimo de aminoácidos na dieta apresentou efeito negativo na fecundidade (Hill, 1989). Nesse trabalho, Hill (1989) fez um teste de manutenção somática, o qual permitiu saber que os aminoácidos ingeridos estavam sendo assimilados pelas fêmeas. Talvez um teste como esse, ou uma microscopia do sistema digestório de fêmeas de *A. monuste orseis*, pudesse ser feito em trabalhos posteriores, para uma análise mais profunda desses dados.

Apesar dos efeitos negativos na performance reprodutiva das fêmeas, a ingestão de fonte proteica acelerou o início da oviposição. Esse resultado vai de encontro com a hipótese da incapacidade de digestão dessa proteína pelos indivíduos, uma vez que indica um aproveitamento da proteína ingerida para a síntese mais rápida dos ovos. Ao mesmo tempo, esse dado pode estar relacionado apenas com a diminuição da longevidade dos indivíduos, como uma estratégia biológica de compensação. O balanço entre reprodução e sobrevivência é discutido em muitos trabalhos (Boggs & Ross, 1993; Boggs & Freeman, 2005; Molleman *et al.*, 2008a) e parece ocorrer durante a ingestão de lêvedo em *A. monuste orseis*.

CONCLUSÃO

Neste trabalho, o número de cópulas influenciou positivamente a aptidão reprodutiva de fêmeas em *A. monuste orseis*, enquanto a alimentação com fonte proteica mostrou-se negativa nesse sentido. A transferência de nutrientes do macho que ocorre no momento da cópula aumentou o número de ovos depositados pela fêmea e diminuiu o tempo até a primeira oviposição, corroborando as hipóteses iniciais do trabalho.Já a longevidade das fêmeas não mostrou ser influenciada pelo número de cópulas apenas pela ocorrência ou não da cópula. O tamanho das posturas apresentou uma relação positiva com a quantidade de cópulas da fêmea, o que pode estar relacionado com o hábito de ovipositar em agregações conhecido para essa espécie.

A ingestão de fonte proteica, especificamente de lêvedo, parece influenciar negativamente a performance reprodutiva e a longevidade das fêmeas de *A. monuste orseis*, diferente do que era esperado no início do trabalho. Apesar de fêmeas que ingeriram fonte proteica terem começado a ovipositar mais cedo, as que se alimentaram apenas com água e mel na fase adulta colocaram mais ovos e viveram mais. Esse decréscimo da performance reprodutiva com a adição de lêvedo na dieta dos adultos pode estar relacionado à não digestão da proteína pela espécie. Outra possibilidade é de ter ocorrido uma menor ingestão de alimento devido à cor, sabor, cheiro ou textura da dieta proteica. Ou, ainda, pode haver algum subproduto de valor tóxico para a espécie presente no lêvedo. Metodologia específica e um estudo mais aprofundado são necessários para resolver essas questões.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho realizado apresentou grandes dificuldades metodológicas, principalmente por se tratar da biologia e comportamento de animais vivos, o que nos faz depender de diversas condições naturais dos indivíduos na tentativa de simular seu ambiente.

A princípio, a espécie estudada tem o período reprodutivo restrito ao verão, ou seja, as etapas experimentais deveriam ser organizadas apenas para esse período, e os dados coletados fora desse período podem ter apresentado alterações naturais em relação aos demais.

A observação de cópula foi difícil pelo mesmo motivo, já que os animais dificilmente copulam em tempo frio ou chuvoso, ou em determinadas horas do dia, e a literatura é muito pobre em trabalhos com adultos da espécie em questão, ou seja, a metodologia foi definida sem esse conhecimento.

Além da cópula em si, a oviposição também depende de condições ambientais, como o tempo ou o período do dia, mas, além disso, tem relação com as condições do hospedeiro e, na experimentação, apenas um vaso era colocado por gaiola, enquanto na natureza as borboletas possuem possibilidade de selecionar folhas e plantas para a oviposição. Dessa forma, se o vaso escolhido para determinada gaiola apresentasse qualquer característica desfavorável para aquela fêmea, a oviposição podia apresentar diferenças com relação a outro grupo em condição distinta.

A taxa de eclosão das lagartas, que era um dos parâmetros iniciais do trabalho, apesar de sua importância para o significado biológico dos experimentos, foi de difícil avaliação, já que muitos ovos – talvez a maioria deles – que eram retirados da planta e levados à estufa para acompanhamento ressecavam e as larvas acabavam não eclodindo; ou a folha morria antes da eclosão, impossibilitando-a. Além disso, a ocorrência de canibalismo entre os indivíduos recém-eclodidos é bastante comum na espécie e dificultava a contagem das larvas totais.

Na tentativa de resolver o problema, os ovos começaram a ser acompanhados na própria casa de vegetação, no local onde eram colocados, apenas com marcações nas folhas para indicar a postura; porém, tal controle exigia trocas mais recorrentes dos vasos e, consequentemente, um número maior de vasos de couve. A alteração metodológica é possível e viável – desde que a taxa de canibalismo também seja

considerada –, mas deve ser mais bem estudada e aperfeiçoada, já que esse parâmetro é de extremo valor biológico e dá significado à própria fecundidade. À maneira como foi medida, a taxa de eclosão não foi considerada no presente trabalho.

Apesar de todas as dificuldades em trabalhar com animais vivos, dependendo deles para obter dados passíveis de análise, os resultados são extremamente gratificantes e compensadores. Não há nada mais interessante, na biologia, do que testar hipóteses acerca de biologia e comportamento dos seres, encontrando uma gama de materiais a serem pensados e discutidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, T. C. Origin of courtship and sex pheromones of the oriental fruit moth and discussion of the role of phytochemicals in the evolution of lepidopteran males scents. In: Chou, C. H. & Waller, G. R. (ed.), **Phytochemical ecology: allelochemicals, mycotoxins and insect pheromones and allomones**. Academia Sinica Monograph Series 9. Institute of Botany, Taipei, p. 401-418, 1989.

BARROS, H. C. H. & F. S. ZUCOLOTO. Performance and host preference of *Ascia monuste* (Lepidoptera, Pieridae). **Journal of Insect Physiology 45:** 7-14, 1999.

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

BASTOS, C.S.; PICANÇO, M.; LÔBO, A.P.; da SILVA, E.A. & NEVES, L.L.M. Oviposição de *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera, Pieridae) em couve comum. **Revista Brasileira de Zoologia 14**: 187-193, 1997.

BENZ, G. Influence of mating, insemination and other factors on oogenesis and oviposition in the moth *Zeiraphera diniana*. **Journal of Insect Physiology 15:** 55-71, 1969.

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.

BERNARDO, J. Maternal effects in animal ecology. **American Zoologist 36:** 83-105, 1996.

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.

BITTENCOURT-RODRIGUES, R.S. & ZUCOLOTO, F.S. Effect of host age on the oviposition and performance of *Ascia monuste* Godart (Lepidoptera: Pieridae). **Neotropical Entomology 34:** 169-175, 2005.

BOGGS, C. L. Male nuptial gifts: phenotypic consequences and evolutionary implications. In: Leather, S. R. & Hardie, J. **Insect reproduction**. CRC, New York, p. 215-242, 1995.

BOGGS, C. L. Dynamics of reproductive allocation from juvenile and adult feeding: radiotracer 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:** 353-361, 2005.

BOGGS, C. L. & GILBERT, L. E. Male contribution to egg production in butterflies: evidence for transfer of nutrients at mating. **Science 206:** 83-84, 1979.

BOGGS, C. L. & ROSS, C. L. The effect of adult food limitation on the life history traits in *Speyeria mormonia* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Ecology 74:** 433-441, 1993.

BONEBRAKE, T. C.; BOGGS, C. L.; MCNALLY, J. M.; RANGANATHAN, J. & EHRLICH, P. R. Oviposition behavior and offspring performance in herbivorous insects: consequences of climatic and habitat heterogeneity. **Oikos 119:** 927-934, 2010.

CANGUSSU, J. A. & ZUCOLOTO, F. S. Self-selection and perception threshold in adult females of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Journal of Insect Physiology 41:** 223-227, 1995.

CARDOSO, M. Z., ROPER, J. J. & GILBERT, L. E. Prenuptial agreements: mating freequency predicts gift-giving in *Heliconius* species. **Entomologia Experimentalis et Applicata 131:** 109-114, 2009.

CATTA-PRETA, P.D. & ZUCOLOTO, F.S. Oviposition behavior and performance aspects of *Ascia monuste* (Godart, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) on kale

(*Brassica oleracea* var. *acephala*). **Revista Brasileira de Entomologia 47:** 169-74, 2003.

CHAPMAN, R. F. **The Insects: structure and function**, Cambridge University Press, 747p., 1998.

CHEN, P. S. The functional morphology and biochemistry of insect male accessory glands and their secretions. **Annual Review of Entomology 29:** 233-255, 1984.

CHEW, F. S. Biological effects of glucosinolates. In: Cutler, H. G. (ed.) **Biologically Active Natural Products: Potential Use in Agriculture**, American Chemical Society, Washington, DC, p. 155-181, 1988.

CRESPI, B. J. Cannibalism and trophic eggs in subsocial and eusocial insects. – In: Crespi, B. J. (ed.), **Cannibalism: ecology and evolution among diverse taxa**. Oxford Univ. Press, 176-213, 1992.

DELISLE, J. & BOUCHARD, A. Male larval nutrition in *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae): an important factor in reproductive success. **Oecologia 104:** 508-517, 1995.

DUNLAP-PIANKA, H., BOGGS, C. L. & GILBERT, L. E. Ovarian dynamics in heliconiine butterflies: programmed senescence versus eternal youth. **Science 197:** 487-490, 1977.

DUSSOURD, D. E. UBIK, K., HARVIS, C., RESCH, J., MEINWALD, J. & EISNER, T. Biparental defensive endowment of eggs with acquired plant alkaloid in the moth Utetheisa ornatrix. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 85:** 5992-5996, 1988.

DUSSOURD, D. E., HARVIS, C. A., MEINWALD, J. & EISNER, T. Paternal allocation of sequestered plant pyrrolizidine alkaloid to eggs in the danaine butterfly, *Danaus gillipus*. **Experientia 45:** 896-898, 1989.

ERHARDT, A. Nectar sugar and amino acid preferences of *Battus philenor* (Lepidoptera, Papilionidae). **Ecological Entomology 16:** 425-434, 1991.

ERHARDT, A. Preferences and non-preferences for nectar constituents in *Ornithoptera priamus Poseidon* (Lepidoptera, Papilionidae). **Oecologia 90:** 581-585, 1992.

ERHARDT, A. & RUSTERHOLZ, H. Do Peacock butterflies (*Inachis io* L.) detect and prefer nectar amino acids and other nitrogenous compounds? **Oecologia 117:** 536-542, 1998.

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.

FOX, C. W. The influence of maternal age and mating frequency on egg size and offspring performance in *Callosobruchus maculates* (Coleoptera: Bruchidae). **Oecologia 96:** 139-146, 1993.

GILLOTT, C. **Entomology**. Springer, Netherlands. 2005.

HILL, C. J. The effect of adult diet on the biology of butterflies: the common crow butterfly, *Euploea core corinna*. **Oecologia 81:** 258-266, 1989.

HILL, C. J. & PIERCE, N. E. The effect of adult diet on the biology of butterflies: the common imperial blue, *Jalmenus evagoras*. **Oecologia 81:** 249-257, 1989.

JORDÃO, A. L.; NAKANO, O. & JANEIRO, V. Adult carbohydrate feeding affects reproduction of *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology 39:** 315-318, 2010.

KAMIMURA, Y. Effects of repeated mating and polyandry on the fecundity, fertility and maternal behavior of female earwigs, *Euborellia plebeja*. **Animal Behaviour 65:** 205-214, 2003.

KARUBE, F. & KOBAYASHI, M. Presence of eupyrene spermatozoa in vestibulum accelerates oviposition in the silkworm moth, *Bombys mori*. **Journal of Insect Physiology 45:** 947-957, 1999.

KAWAGOE, T., SUZUKI, N. & MATSUMOTO, K. Multiple mating reduces longevity of females of the wildmill butterfly *Atrophaneura alcinous*. **Ecological Entomology 26:** 258-262, 2001.

KLOWDEN, M. J. **Physiological systems in insects**. Academic Press, Moscow, 2007.

LAMUNYON, C. W. Increased fecundity, as a function of multiple mating, in an arctiid moth, *Utetheisa ornatrix*. **Ecological Entomology 22:** 69-73, 1997.

LEATHER, S. R. Size, reproductive potential and fecundity in insects: things aren't as simples as they seem. **Oikos 51**: 386-389, 1988.

MEDEIROS, L.; CRESONI-PEREIRA, C. & ZUCOLOTO, F.S. Insects making choices: physiology related to choices in feeding, mating and oviposition. In: Maes, R. P. (ed.). **Insect Physiology: New Research**. Nova Science Publishers, Inc. 2008.

MEVI-SCHÜTZ, J. & ERHARDT, A. Mating frequency influences nectar amino acid preference of *Pieris napi*. **Proceedings of the Royal Society of London 271:** 153-158, 2004.

MITCHELL, R. The evolution of oviposition tactics in the bean weevil, *Callosobruchus maculates* (F.). **Ecology 56:** 696-702, 1975.

MILANO, P.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ODA, M. L. & CÔNSOLI, F. L. Efeito da alimentação da fase adulta na reprodução e longevidade de espécies de Noctuidae, Crambidae, Tortricidae e Elachistidae. **Neotropical Entomology 39:** 172-180, 2010.

MILANO, P.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P & CÔNSOLI, F. L. Influência da temperatura na frequência de cópula de *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology 37:** 528-535, 2008.

MOLLEMAN, F., DING, J., WANG, J., BRAKEFIELD, P. M., CAREY, J. R. & ZWAAN, B. J. Amino acid sources in the adult diet do not affect life span and fecundity in the fruit-feeding butterfly *Bicyclus anynana*. **Ecological Entomology 33:** 429-438, 2008.

MOLLEMAN, F., DING, J., WANG, J., ZWAAN, B. J., CAREY, J. R. & BRAKEFIELD, P. M. Adult diet affects lifespan and reproduction of the fruit-

feeding butterfly *Charaxes fulvescens*. **Entomologia Experimentalis et Applicata 129:** 54-65, 2008.

MORAIS, R. M.; REDAELLI, L. R. & SANT'ANA, J. Anatomia comparada dos órgãos internos de reprodução de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae). **Biotemas 22**: 59-67, 2009.

O'BRIEN D. M., BOGGS, C. L. & FOGEL, M. L. Making eggs from nectar: connections between butterfly life history and the importance of nectar carbon in reproduction. **Oikos 105:** 279-291, 2004.

O'BRIEN D. M., BOGGS, C. L. & FOGEL, M. L. Making eggs from nectar: the role of life history and dietary carbon turnover in butterfly reproductive resource allocation. **Oikos 105:** 279-291, 2004.

PAPAJ, D.R. Ovarian dynamics and host use. **Annual Review of Entomology 45**: 423-448. 2000.

PERRY, J. C. & ROITBERG, B. D. Trophic egg laying: hypotheses and tests. **Oikos 112:** 706-714, 2006.

RENWICK, J.A.A. & CHEW, F.S. 1994. Oviposition behavior in Lepidoptera. **Annual Review of Entomology 39**: 377-400.

RESETARITS-JR., W. J. Oviposition site choice and life history evolution. **American Zoologist 36:** 205-215, 1996.

ROMEIS, J. & WÄCKERS, F. L. Feeding responses by female *Pieris brassicae* butterflies to carbohydrates and amino acids. **Physiological Entomology 25:** 247-253, 2000.

ROMEIS, J. & WÄCKERS, F. L. Nutritional suitability of individual carbohydrates and amino acids for adult *Pieris brassicae*. **Physiological Entomology 27:** 148-156, 2002.

SANTANA, A. F. K. **Influência da agregação larval na história de vida de *Ascia monuste orseis* (Godart, 1819) (Lepidoptera, Pieridae)**. 2012. 76 p. Tese

(Doutorado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

SILVA, S. S. **Fatores da biologia reprodutiva que influenciam o manejo comportamental de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae).** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 63pp. 2008.

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

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.

STEIGENGA, M. J. & FISCHER, K. Ovarian dynamics, egg size, and egg number in relation to temperature and mating status in a butterfly. **Entomologia Experimentalis et Applicata 125:** 195-203, 2007.

TAGLIARI, S. R. A. **Não-preferência para oviposição, alimentação e antibiose de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) por genótipos de couve (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala* D.C.).** Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual de São Paulo, 65pp. 2007.

TELANG, A.; BOOTON, V.; CHAPMAN, R. F. & WHEELER, D. E. How female caterpillars accumulate their nutrient reserves. **Journal of Insect Physiology 47:** 1055-1064, 2001.

THOMPSON, J. N. Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. **Entomologia Experimentalis et Applicata 47:** 3-14, 1988.

VASCONCELLOS-NETO, J. & MONTEIRO, R. F. Inspection and evaluation of host plant by the butterfly *Mechanitis lysimnia* (Nymph., Ithomiinae) before laying eggs: a mechanism to reduce intraspecific competition. **Oecologia 95:** 431-438, 1993.

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

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