

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

Centro de Biociências

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

**ESTRATÉGIAS DE ACASALAMENTO E QUALIDADE DO
ESPERMATÓFORO EM *HELICONIUS* (LEPIDOPTERA,
NYMPHALIDAE)**

Emmanuelle Séfora Cabral Silva

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Emmanuelle Séfora Cabral Silva

ESTRATÉGIAS DE ACASALAMENTO E QUALIDADE DO
ESPERMATÓFORO EM *HELICONIUS* (LEPIDOPTERA, NYMPHALIDAE)

Dissertação apresentada ao
como requisito parcial à obtenção
do título de Mestre do Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Biológicas.

Orientador: Márcio Zikán Cardoso

Natal / RN

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

Centro de Biociências

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

A Dissertação **Estratégias de acasalamento e qualidade do espermátóforo em *Heliconius* (Lepidoptera, Nymphalidae)**.

elaborada por ***Emmanuelle Séfora Cabral Silva***

e aprovada por todos os membros da Banca examinadora foi aceita pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas e homologada pelos membros da banca, como requisito parcial à obtenção do título de

MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Data da Apresentação: 03.08.2009

BANCA EXAMINADORA

Professor Márcio Zikán Cardoso
(Orientador)

Professor Gilberto Corso
(1º Avaliador)

Professor Martinho Cardoso de Carvalho Junior
(2º Avaliador)

Natal / RN

2009

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, irmãos, colegas e professores pelo apoio e incentivo para a conclusão deste curso.

À Anastácio Montenegro de Sousa, que acompanhou em toda a jornada, desde a seleção no Programa até a apresentação final deste trabalho.

Às alunas da graduação Ana Clézia, Ilana Cristina, Jeniffer Medeiros e Lívia Mayara pela preciosa ajuda em todas as etapas do desenvolvimento do trabalho, desde o início.

Aos meus colegas de laboratório Elieudo Dias, Luciana Lopes e Priscila Albuquerque, que contribuíram substancialmente com esse estudo.

Ao professor Márcio Zikán Cardoso, pela paciência e orientação dada durante todo o período de planejamento e execução da pesquisa.

Ao Professor Maurício Pereira de Sales e seus alunos do Laboratório de Bioquímica que me acompanharam durante as análises químicas.

Ao Professor Alexandre Vasconcellos e Gilberto Corso pelo auxílio no tratamento estatístico dos dados.

Aos professores avaliadores, Gilberto Corso e Martinho Cardoso de Carvalho Junior, que aceitaram participar da banca e contribuir para o aperfeiçoamento da dissertação.

Aos meus colegas de laboratório pelas discussões em reuniões, muito importantes para o embasamento teórico.

Resumo

Borboletas são insetos bem conhecidos, presentes em uma grande diversidade de ambientes e de fácil identificação visual. A forma adulta pode ser freqüentemente encontrada em flores em busca de néctar. Entretanto, para muitas espécies de *Heliconius* (Lepidoptera, Nymphalidae) a visita a flores também representa a coleta de pólen, uma importante fonte de proteína para os adultos. A proteína obtida do pólen permite a manutenção de processos fisiológicos que reforçam o desempenho do indivíduo, promovendo maior longevidade e produção de ovos. Para os machos, proteínas podem também fazer parte no seu investimento no sucesso reprodutivo e na aptidão da prole, através de uma contribuição nutricional que é transferida para a fêmea no ato da cópula, como um presente nupcial. Sabe-se que este presente contém proteínas essenciais para o desempenho da fêmea na oviposição, entretanto a proporção dos conteúdos e a importância específica para as espécies monogâmicas e poligâmicas ainda não é conhecida. Considerando que as espécies estudadas nesse trabalho apresentam diferentes padrões na estratégia de acasalamento pôde-se verificar uma significativa diferença na qualidade dos espermatozóides, entre *H. erato* e *H. melpomene*, em relação à quantidade de proteína presente nessa estrutura, indicando uma diferença no investimento do macho entre as estratégias reprodutivas.

Abstract

Butterflies are insects known, in a variety of environments and for easy visual identification. The adult form may be frequently found in flowers looking for nectar. However, for many species of *Heliconius* (Lepidoptera, Nymphalidae) to visit the flower also represents the collecting of pollen, an important source of protein for adults. The protein obtained from the pollen allows the maintenance of physiological processes that increase the performance of the individual, promoting greater longevity and egg production. For males, proteins can also be part in your investment in reproductive success and fitness of offspring through a nutritional contribution that is transferred to the female in the act of mating as a nuptial present. It is known that this protein contains essential to the performance of the female oviposition, however the proportion of content and specific importance to the monogamous and polygamous species is not known yet. Whereas the species studied in this work have different patterns of mating in the strategy was to verify a significant difference in the quality of the spermatophore, and *H. erato* and *H. melpomene*, on the amount of protein present in this structure, indicating a difference in investment between the male reproductive strategies.

SUMÁRIO

Introdução	8
Material e Métodos	11
O sistema <i>Heliconius</i>	11
Espécies estudadas	11
Manutenção em cativeiro	12
Alimentação dos adultos	14
Acasalamentos	14
Dissecação e Análises Químicas	16
Análises Estatísticas	18
Resultados	19
Massa dos espermatozóides	20
Quantificação protéica nos espermatozóides	21
Múltiplos acasalamentos e investimento do macho	23
<i>Investimento do macho e ordem do acasalamento</i>	23
<i>Heliconius erato</i>	24
<i>H. melpomene</i>	25
Discussão	32
Referências	35

Introdução

Ao longo de sua vida adulta, dependendo da espécie, uma borboleta fêmea pode acasalar uma única (monandria) ou várias vezes (poliandria) (Drummond, 1984; Svärd e Wiklund, 1989; Wiklund *et al.*, 1993; Wedell, Wiklund e Cook, 2002). No último caso, há ainda variações quanto ao grau de poliandria, ou seja, o número médio de machos com que as fêmeas acasalam difere entre as espécies (Wedell, 2001; Wedell, Wiklund e Cook, 2002). Embora ainda haja um intenso debate sobre o porquê dessa variação, é consenso que a competição entre os machos por acesso às fêmeas pode fornecer as pistas (Bissoondath e Wiklund, 1995). Uma das mais promissoras idéias sobre essa variação refere-se à correlação positiva entre grau de poliandria e tamanho e/ou qualidade do espermátóforo (Bissoondath e Wiklund, 1995, 1997; Karlsson, 1995, 1996).

O espermátóforo é uma estrutura produzida pelo macho e transferida para a fêmea no momento da cópula (Boggs e Gilbert, 1979) e apresenta, em sua composição, algumas substâncias que podem ser muito importantes para a fêmea. Por exemplo, a parte protéica contida no espermátóforo é utilizada pela fêmea para a manutenção de processos fisiológicos que reforçam o desempenho do indivíduo, promovendo maior longevidade e maior produção de ovos (Gilbert, 1972; Boggs e Gilbert, 1979).

Em sistemas poliândricos os repetidos acasalamentos das fêmeas podem proporcionar uma competição de esperma entre machos (Arnqvist e Nilson, 2000; Torres-Vila e Jennions, 2005). Como conseqüência e, aparentemente, como um modo de reduzir as chances de um subsequente acasalamento pela fêmea, machos de espécies poliândricas tendem a produzir espermátóforos maiores (Wiklund *et al.*, 1993), taxas altas de produção de esperma (Svärd e Wiklund, 1989) e alocação estratégica de esperma (Wedell e Cook, 1999a,b), caracterizando um maior investimento no espermátóforo que machos de espécies monândricas (Bissoondath e Wiklund, 1995, 1997; Karlsson, 1995, 1996).

O tamanho e a composição (qualidade) do espermatozóide variam entre as diferentes estratégias reprodutivas (Bissoondath e Wiklund, 1995, 1997; Karlsson, 1995, 1996; Cardoso *et al.*, 2009). Evidências sugerem que esses fatores correlacionam-se positivamente com a duração do período não receptivo da fêmea após o acasalamento (Silberglied *et al.*, 1984; Oberhauser, 1989; Cook e Wedell, 1999), constituindo uma estratégia importante de desempenho na competição sexual entre os machos. A correlação entre o número de acasalamentos e a massa do espermatozóide sugere que espécies em que a competição de espermatozóides seja potencialmente mais intensa, os espermatozóides produzidos são maiores (Svård e Wiklund, 1989), ou seja, machos poliândricos tendem a produzir espermatozóides de maior massa.

Borboletas do gênero *Heliconius* constituem um sistema modelo interessante para o teste de algumas destas hipóteses, pois possuem diferentes estratégias de acasalamento, variando entre estrita monandria e poliandria (Cardoso e Gilbert, 2007; Cardoso *et al.*, 2009). Filogeneticamente, as espécies são divididas em dois grandes clados, constituídos por espécies que acasalam na pupa (estritamente monândricas) e espécies que não acasalam na pupa (presumivelmente poliândricas) (Béltran *et al.*, 2008). Nas espécies que apresentam o comportamento de acasalamento na pupa os machos visitam regularmente as plantas hospedeiras em busca de pupas fêmeas, monitoram-nas e competem entre si por posição na pupa, aguardando o início da eclosão de modo a garantir a cópula no momento em que a fêmea está prestes a emergir (Deinert *et al.*, 1994; Deinert, 2003). Nestas espécies, as fêmeas não têm controle sobre a escolha do macho e os machos tendem a copular com o maior número de fêmeas. Entre as espécies que não acasalam na pupa, em que as fêmeas copulam mais de uma vez, a pressão seletiva é para que os machos maximizem o tempo que a fêmea passará colocando ovos, minimizando as chances dela copular com outro macho rapidamente.

Cardoso *et al.* (2009) analisaram a relação entre a massa do espermatozóide e a quantidade de cianeto presente nele em nove espécies de *Heliconius* e sugerem

que tanto a massa quanto a concentração de cianeto estão positivamente relacionados com o grau de poliandria. No entanto, os dados foram obtidos em experimentos não controlados e as informações sobre conteúdo de proteína nos espermátóforos não foram obtidas. Além disso, pouco se sabe sobre o “custo” de produção de espermátóforo em machos poliândricos e monândricos.

A proposta desse trabalho é de testar se a massa e a quantidade de proteína do espermátóforo diferem, em duas espécies de *Heliconius* que apresentam sistemas de acasalamento distintos. Secundariamente, pretende-se também entender a relação entre sistema de acasalamento e custo de produção de espermátóforo, medido em velocidade de recuperação de massa e proteína após acasalamento. As perguntas a serem respondidas são: (i) A massa do presente nupcial é significativamente diferente entre as duas espécies? (ii) A quantidade de proteína presente no espermátóforo da espécie poliândrica é diferente que a encontrada na espécie monândrica? (iii) O investimento do macho, em relação à massa e à quantidade protéica, varia em função da ordem de acasalamento? (iv) Existe relação entre massa, quantidade de proteína e tempo entre eventos de acasalamento?

Material e Métodos

O sistema Heliconius

As borboletas deste grupo constituem um dos táxons mais bem estudados entre os insetos, podem ser encontradas desde o sul dos Estados Unidos até a América do Sul e Índias Ocidentais, com a maior diversidade de espécies e subespécies na bacia Amazônica (DeVries, 1987). As lagartas têm vida curta (menos de vinte dias) e alimentam-se de espécies do gênero *Passiflora* (maracujá) (Brown, 1992). Algumas espécies colocam um ou poucos ovos por dia, outras colocam vários ovos em uma mesma folha, de forma gregária (Gilbert, 1972).

Os adultos são impalatáveis, aposemáticos e voam lentamente. São modelos clássicos de mimetismo Mülleriano com várias espécies com padrões de asa convergentes (Brown, 1981) e têm um tempo de vida considerado longo, variando entre 90 e 180 dias (Brown, 1992). Estas borboletas são especializadas no processamento do pólen como recurso alimentar (Gilbert, 1972) e possuem um sistema nervoso bem desenvolvido, sendo capazes de memorizar e seguir diariamente um mesmo trajeto em busca de recursos (Gilbert, 1991).

Espécies estudadas

Foram estudadas as espécies *Heliconius erato* (L., 1758) e *H. melpomene* (L., 1758) (Figura 1), representantes dos dois grandes clados da filogenia de *Heliconius* (Béltran *et al.*, 2008). *Heliconius erato* é uma espécie monândrica, que apresenta o comportamento de acasalamento na pupa, ao passo que *H. melpomene* não acasala na pupa e a fêmea é poliândrica.



Figura 1 – As duas espécies de *Heliconius* utilizadas no estudo: *H. melpomene*, identificada com o número 39 na asa, e *H. erato*, com o número 269. Foto: Emmanuelle Silva.

Manutenção em cativeiro

Os experimentos foram conduzidos em gaiola de aproximadamente 18 m³ (Figura 2) e a criação das larvas foi feita em laboratório. O trabalho foi realizado de agosto de 2007 a janeiro de 2009.



Figura 2 – Estrutura (18 m³) utilizada para a realização de experimentos de acasalamento de *Heliconius*. O teto é de plástico e as laterais são fechadas com tela sombrite. Observa-se plantas de alimentação dos adultos e plantas hospedeiras para eventos onde se obteve ovos de fêmeas adultas. A estrutura era sombreada durante quase todo o dia. Foto: Emmanuelle Silva.

Para a obtenção de ovos e larvas fêmeas foram coletadas em diversas áreas ao redor de Natal. As fêmeas coletadas foram mantidas na gaiola, com acesso a alimento e plantas hospedeiras para obtenção de ovos. Novas fêmeas foram coletadas periodicamente. Os ovos foram coletados diariamente e as larvas mantidas em potes individuais com planta hospedeira no laboratório até a fase adulta. Após a eclosão, cada borboleta foi identificada com um número único na asa anterior (veja exemplo na Figura 1) e colocada na casa de criação para acasalar.

Alimentação dos adultos

Como fontes de recursos para a manutenção dos adultos em cativeiro foi usada uma solução de aminoácidos e açúcar a 20%, bem como flores de *Lantana camara* e *Zinnia elegans*, renovadas diariamente, quando possível (Figura 3).

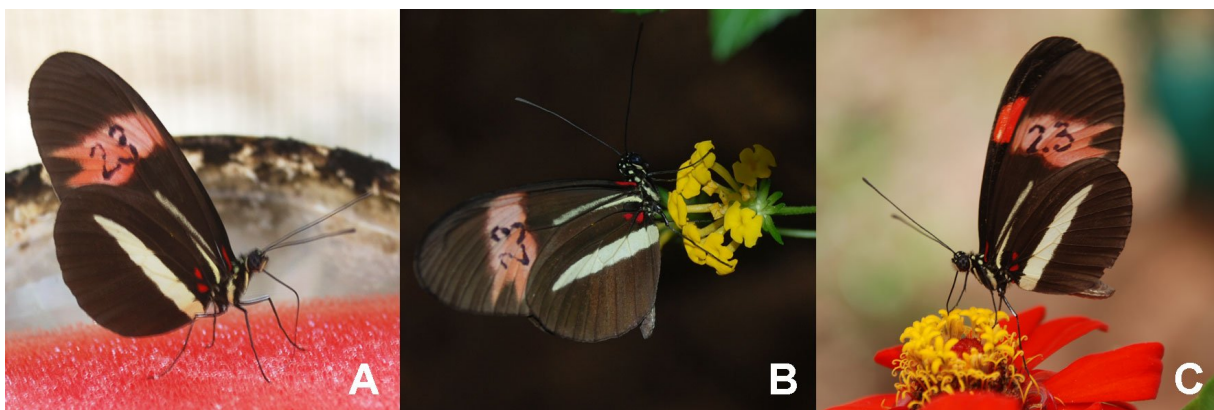


Figura 3 – Borboleta em cativeiro alimentando-se na solução de açúcar e aminoácidos (A), em flor de *Lantana camara* (B) e em flor de *Zinnia elegans* (C). Fotos: Emmanuelle Silva.

Acasalamentos

Informações sobre data de eclosão, espécie, sexo, peso, medida do corpo, do abdômen, e comprimento das asas foram registrados para cada indivíduo. À medida que os adultos eclodiam foram sendo transferidos para a casa de criação. Os machos permaneceram na gaiola o maior tempo possível. Já as fêmeas, a cada soltura, foram monitoradas a cada cinco minutos, até ser observado o acasalamento com um dos machos presentes. Para cada cópula (Figura 4) foi registrado o número do macho, da fêmea, a data, horário e duração do evento. Imediatamente ao término

da cópula, as fêmeas foram colocadas em envelopes entomológicos, acondicionados em sacos tipo “ziplock”, e colocadas em congelador até a dissecação.



Figura 4 – Cópula da fêmea M35 com o macho M18 (*H. melpomene*). Foto: Emmanuelle Silva.

Um subconjunto dos machos, escolhidos de forma não sistemática, foram deixados na gaiola e puderam consolidar outras cópulas, em geral até 3-4 no total. Isso permitiu comparar os espermatóforos produzidos ao longo do tempo e analisar como a massa e/ou a quantidade de proteína variaram em função da ordem das cópulas e do tempo entre elas.

Os intervalos (de dias) entre as cópulas não foi padronizado, nem os casais pré-definidos. À medida que as fêmeas eclodiam e eram liberadas na gaiola eram

cortejadas pelos machos presentes. Muitos eram rejeitados até a fêmea aceitar copular.

Dissecação e Análises Químicas

A dissecação foi feita em placa de Petri com uma base de parafina. O abdômen da fêmea foi removido com uma tesoura, acomodado e fixado em uma pequena cavidade na base de parafina e mantido em solução salina (0,15 M) durante todo o manuseio. A porção proximal do abdômen foi presa com auxílio de alfinetes entomológicos e o procedimento foi realizado com a utilização de pinças.

A membrana lateral (pleura) foi rompida lateralmente, a partir da porção terminal. A bursa copulatória foi removida e o espermatóforo, facilmente identificado, retirado (Figura 5). Embora a forma do espermatóforo varie entre espécies de borboletas, as estruturas em *H. erato* e *H. melpomene* são bastante similares.



Figura 5 – Bursa copulatória de *Heliconius numata* com espermatóforo. A linha lateral é conhecida com signa e é característica do clado de *H. melpomene*. As pequenas estruturas ao redor da bursa são corpos gordurosos (pequenos bastonetes) e traquéias (formas afiladas). Foto: Márcio Cardoso.

Após terem sido retirados das fêmeas os espermatóforos foram acondicionados individualmente em tubos Eppendorf contendo 0,25 ml de solução salina e mantidos congelados até as análises químicas.

Para a quantificação de proteína os espermatóforos foram macerados em gelo por 10 minutos e centrifugados (12000 rpm) por 15 minutos. A quantidade de proteína foi estimada utilizando-se o método de Bradford (Bradford, 1976), que permite estimar o total de proteína presente em uma amostra usando como referência concentrações conhecidas de uma proteína padrão (albumina). Para cada

espermátóforo foram feitas leituras da solução pura, além de três diluições em triplicata. A curva padrão da proteína de referência foi feita usando seis diferentes concentrações, também em triplicata.

Após a análise química, cada amostra foi mantida na estufa durante aproximadamente 48 horas (a 100°C) para a obtenção do peso seco dos espermátóforos.

Análises Estatísticas

Para a análise comparativa entre as duas espécies, relativa à massa do espermátóforo e a quantidade de proteína nele presente, foi utilizada a análise de variância usando a massa corporal (mg) e a medida da asa (cm) do macho como covariáveis. Como essas duas variáveis estão relacionadas ao tamanho do indivíduo e podem refletir no tamanho dos espermátóforos que os mesmos podem produzir, a influência dessas medidas na massa e na quantidade de proteína dos espermátóforos para cada espécie foi mensurada através da regressão múltipla.

A relação entre o investimento do macho (massa e quantidade de proteína) e a ordem do acasalamento foi analisada usando anova com duas entradas utilizando o teste de Tukey a posteriori.

A variação de massa e quantidade de proteína em múltiplos acasalamentos foi analisada sob duas perspectivas, a primeira, considerando os intervalos de dias após o último acasalamento e a segunda, classificando os acasalamentos em três categorias: primeiros acasalamentos, acasalamentos que ocorreram entre 1 e 5 dias e acasalamentos com mais de 5 dias. A primeira análise foi feita usando regressão linear simples e a segunda usando análise de variância, com teste a posteriori, quando necessário. Todas as análises foram feitas em Systat v.12.

Resultados

Foram obtidos 50 acasalamentos, sendo 24 em *H. erato* e 26 em *H. melpomene* (Tabela 1). Destes, 29 foram com machos virgens (14 *H. erato* e 15 *H. melpomene*) e 21 com machos não virgens (10 *H. erato* e 11 *H. melpomene*). Em média os acasalamentos duraram 117 ± 29 minutos em *H. erato* e 125 ± 37 minutos em *H. melpomene*.

Tabela 1 – Média da massa seca (mg), quantidade de proteína dos espermatozóides (μg) e duração dos eventos (min) para cada cada seqüência de acasalamento (desvio padrão entre parênteses) para duas espécies de *Heliconius*, *H. erato* e *H. melpomene*.

Espécie	Ordem	N	Massa seca	Proteína	Duração
<i>H. erato</i>	1	14	2,31 (0,39)	6,38 (0,8)	110,36 (25,68)
	2	7	1,94 (0,28)	6,23 (0,59)	123,57 (18,64)
	3	3	2,10 (0,44)	6,38 (1,26)	131,67 (59,65)
<i>H. melpomene</i>	1	15	2,5 (0,56)	7,89 (1,08)	125,67 (29,02)
	2	5	2,3 (0,70)	6,9 (1,35)	93 (13,96)
	3	4	2,3 (0,42)	6,5 (2,4)	175 (46,55)
	4	2	1,7 (0,14)	0,98 (0,84)	105 (7,71)

Massa dos espermatóforos

A massa seca dos espermatóforos provenientes dos acasalamentos com machos virgens variou entre (média \pm erro padrão) $2,31 \pm 0,1$ mg em *H. erato* e $2,52 \pm 0,14$ mg em *H. melpomene*. Não houve diferença significativa entre as espécies (Anova simples, $F_{1,25} = 3,34$; $P = 0,08$), apesar de *H. erato* apresentar um valor médio menor que *H. melpomene* (Figura 6). A massa (mg) e a medida da asa (cm) do macho foram incluídas na análise como covariáveis (Tabela 2), mas nenhuma das duas influenciou significativamente a massa do espermatóforo (massa do macho: $F_{1,25} = 0,34$; $P = 0,56$; medida da asa do macho: $F_{1,25} = 1,37$; $P = 0,25$).

Como já era de se esperar, dado o resultado da análise de variância, nem massa do adulto nem comprimento da asa tiveram relação significativa com a massa do espermatóforo em *H. erato* (massa: $P = 0,426$; asa: $P = 0,436$). No entanto, comprimento da asa sugere uma ligeira relação com a massa do espermatóforo em *H. melpomene* (massa: $P = 0,82$; asa: $P = 0,08$).

Tabela 2 – Valores médios (desvio padrão) da massa fresca (mg) e comprimento da asa anterior (cm) dos machos recém-eclodidos das duas espécies estudadas.)

Espécies	N	Massa macho	Asa macho
<i>H. erato</i>	14	100,61 (33,36)	3,39 (0,23)
<i>H. melpomene</i>	15	119,1 (48,58)	3,7 (0,28)

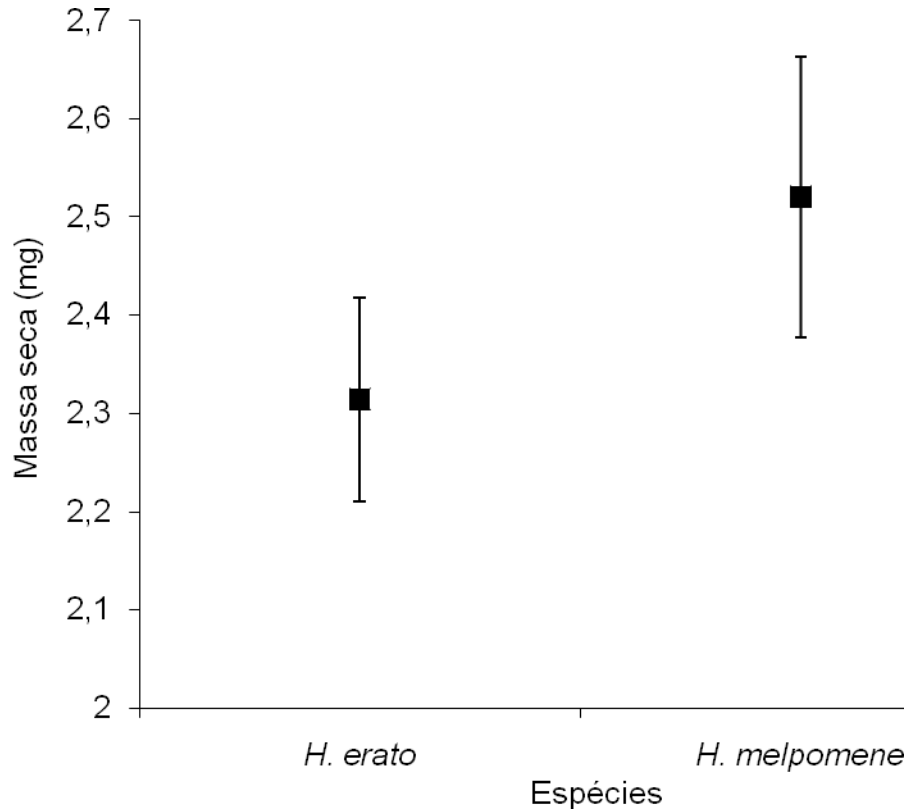


Figura 6 – Média da massa seca dos espermatozoides do acasalamento de machos virgens de *Heliconius. erato* (N=14) e *H. melpomene* (N=15). As barras representam o erro padrão.

Quantificação protéica nos espermatozoides

A quantidade média de proteína nos espermatozoides de *H. erato* foi $6,38 \pm 0,21 \mu\text{g}$ e $7,9 \pm 0,28 \mu\text{g}$ em *H. melpomene*, apresentando diferença significativa entre as duas espécies (Anova simples, $F_{1,25} = 8,58$; $P = 0,007$) (Figura 7). Assim como na análise anterior, massa e tamanho da asa do macho foram utilizados como

covariáveis, e não apresentaram influência significativa sobre a quantidade de proteína nos espermatozoides (massa: $F_{1,25} = 0,87$; $P = 0,36$; comprimento da asa: $F_{1,25} = 0,94$; $P = 0,34$). Analisando as espécies separadamente, nenhuma das covariáveis influenciou significativamente a quantidade de proteína do espermatozoide em *H. erato* (massa: $P = 0,21$; asa: $P = 0,53$) ou *H. melpomene* (massa: $P = 0,74$; asa: $P = 0,17$).

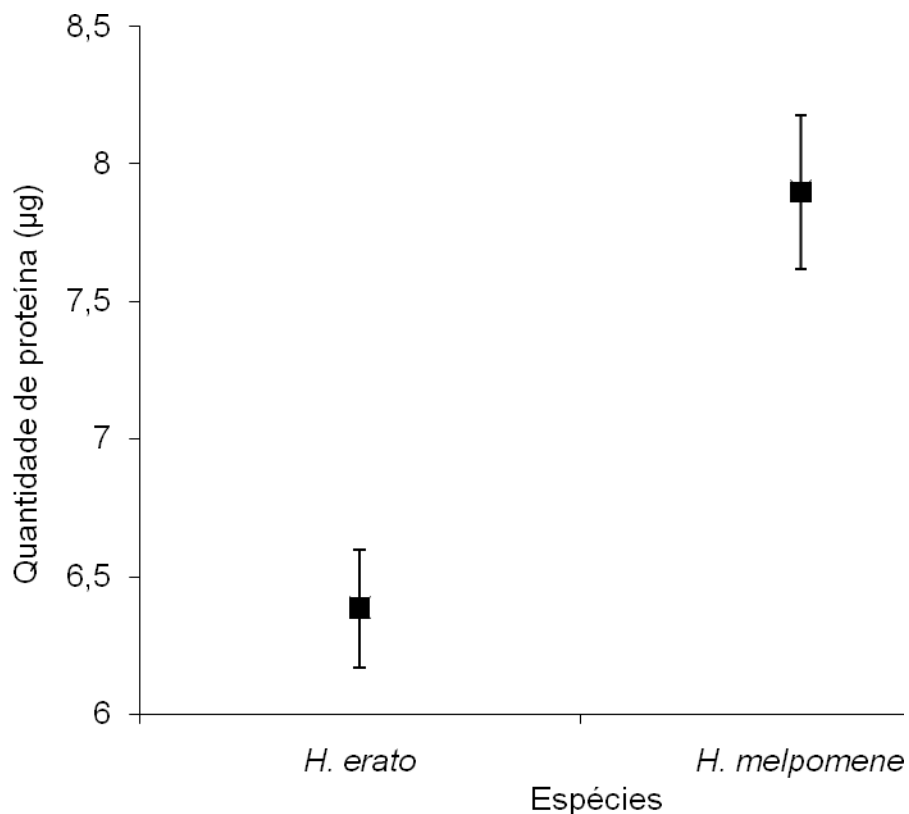


Figura 7 – Quantidade média de proteína em espermatozoides provenientes de machos virgens de uma espécie monândrica (*Heliconius erato*; N=14) e de uma espécie poliândrica (*H. melpomene*; N=15). Barras correspondem ao erro padrão.

Múltiplos acasalamentos e investimento do macho

Investimento do macho e ordem do acasalamento

A ordem dos acasalamentos não influenciou significativamente a massa dos espermatozoides entre as espécies (Anova com duas entradas, $F_{1,42} = 2,55$; $P = 0,12$). Entretanto a quantidade de proteína apresenta uma ligeira diferença (Anova com duas entradas, $F_{1,42} = 3,88$; $P = 0,055$), refletida principalmente pela diferença entre o primeiro e o terceiro acasalamento em *H. melpomene* ($P = 0,06$) (Figura 8).

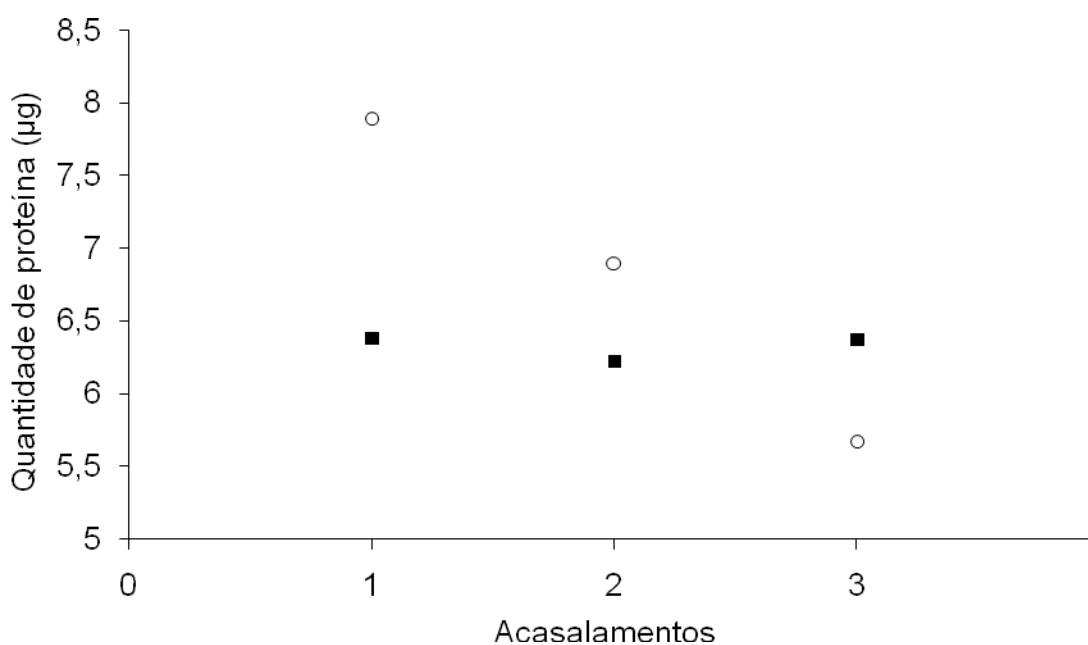


Figura 8 – Quantidade média de proteína dos primeiros, segundos e terceiros acasalamentos nas duas espécies de *Heliconius* estudadas. *H. erato* - quadrado; *H. melpomene* - círculo.

Heliconius erato

Foram obtidos 7 segundos acasalamentos e 3 terceiros acasalamentos. O tempo médio entre os acasalamentos foi de $7,3 \pm 3,9$ dias. Não houve variação significativa entre a massa seca ($R^2 = 0,00$; $P = 0,7$) ou a quantidade de proteína ($R^2 = 0,00$; $P = 0,82$) dos espermátóforos produzidos ao longo do tempo, ou seja, não foi verificada uma relação entre a massa seca ou a quantidade protéica das estruturas e o número de dias em que o macho levou para acasalar novamente (Figuras 9 e 10).

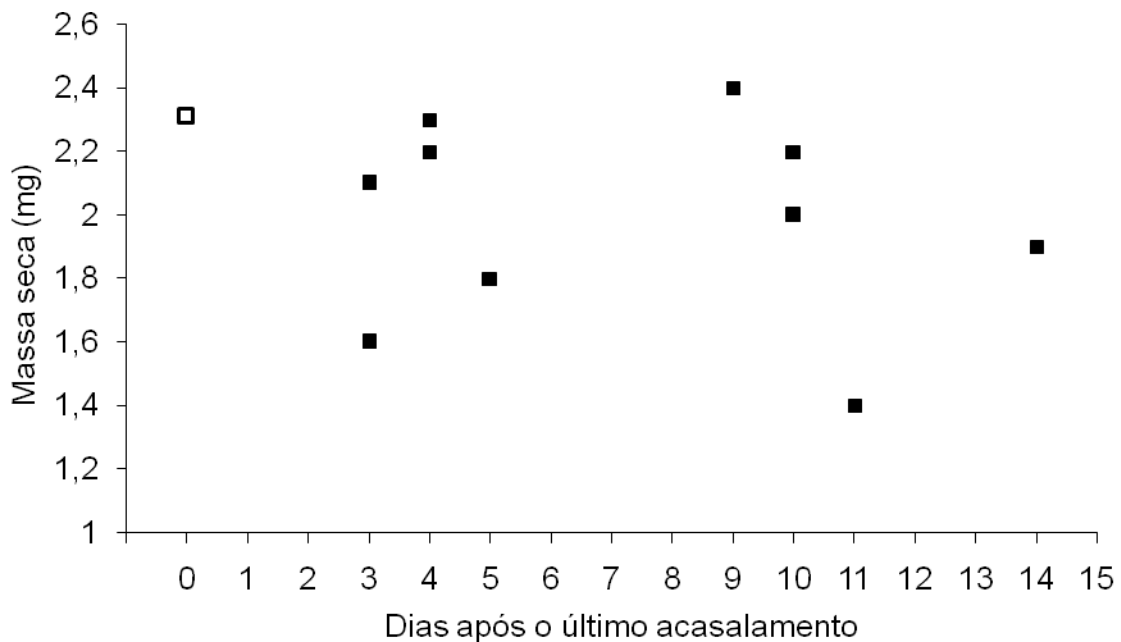


Figura 9 – Massa seca média dos espermátóforos em relação ao intervalo em dias entre acasalamentos em seqüência de *Heliconius erato* (N = 10). O valor referente ao acasalamento com dia igual a zero corresponde à média dos acasalamentos dos machos quando virgem (N = 14). Esse valor não foi usado nas análises e consta aqui apenas como referência.

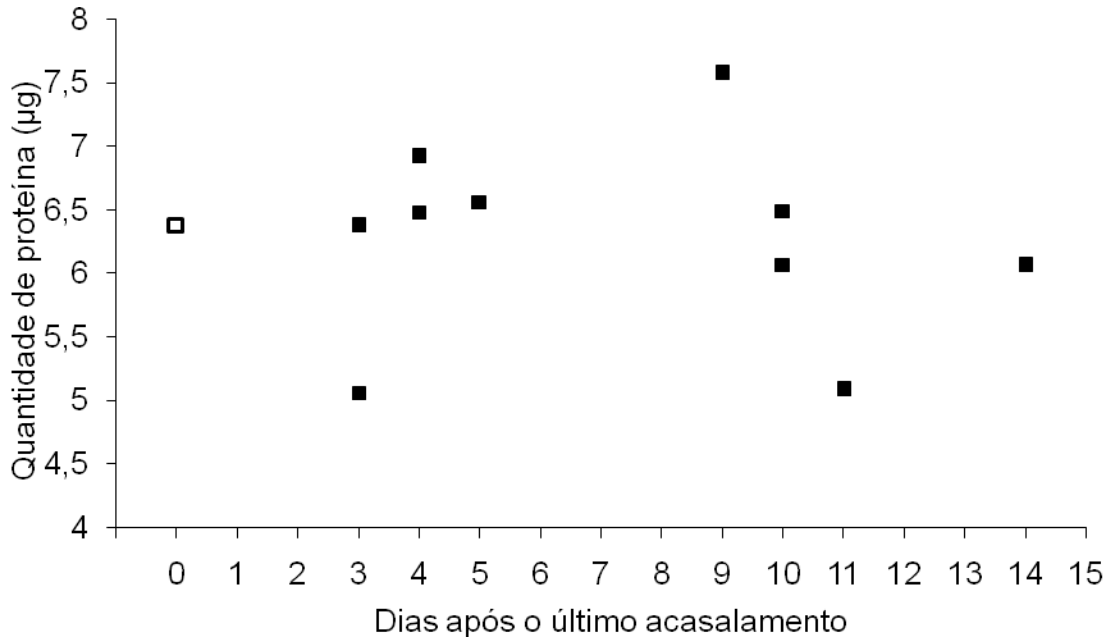


Figura 10 – Quantidade de proteína média dos espermatóforos em relação ao intervalo em dias entre acasalamentos em seqüência de *Heliconius erato* (N = 10). O valor referente ao acasalamento com dia igual a zero corresponde à média dos acasalamentos dos machos quando virgem (N = 14). O valor não foi usado nas análises e consta aqui apenas como referência.

H. melpomene

Foram registrados 11 acasalamentos subsequentes às cópulas de machos virgens, dos quais 5 correspondem a segundas cópulas, 4 a terceiras cópulas e 2 a quartas cópulas. O tempo médio entre esses eventos foi de $5,5 \pm 2,7$ dias. Houve uma tendência à retomada da massa semelhante à do macho virgem em função do aumento do número de dias entre acasalamentos. ($R^2 = 0,54$; $P = 0,006$), mas não em relação à quantidade de proteína ($R^2 = 0,09$; $P = 0,19$) (Figuras 11 e 12).

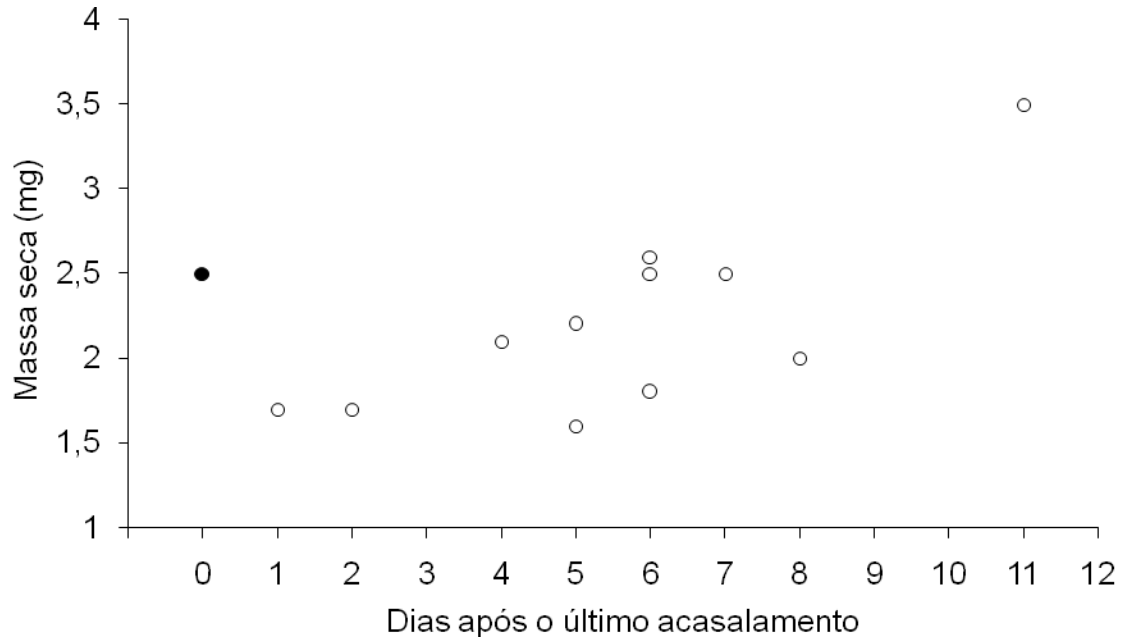


Figura 11 – Massa média dos espermatozoides dos acasalamentos subsequentes (N = 11) considerando a média para os primeiros acasalamentos em *H. melpomene* (N = 15).

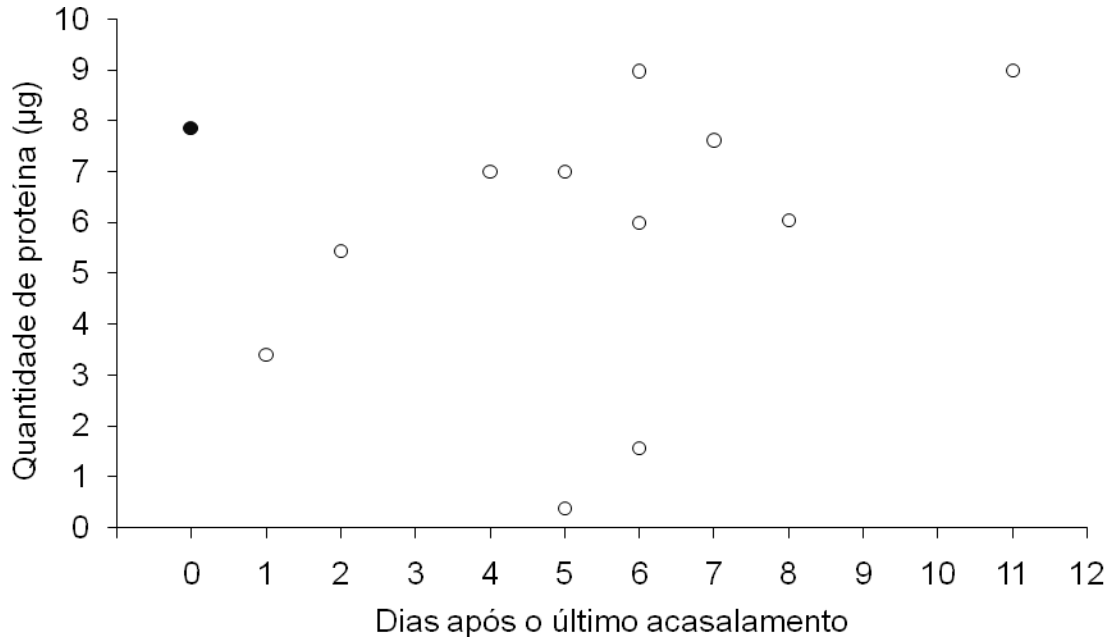


Figura 12 – Quantidade protéica média dos espermatóforos dos acasalamentos subseqüentes (N = 11) considerando a média para os primeiros acasalamentos em *H. melpomene* (N = 15).

Em função deste experimento “não-sistemático”, os acasalamentos acabaram acontecendo em intervalos de dias variáveis, ocasionando a falta de réplicas adequada para um determinado período. Assim, de forma a melhor analisar como a massa seca e a quantidade de proteína variaram com o tempo entre acasalamentos, os dados foram classificados em três categorias referentes ao intervalo de tempo decorrido entre as cópulas: primeiras cópulas (classe de tempo zero), cópulas ocorridas entre 1 e 5 dias após a cópula anterior e cópulas ocorridas com mais de 5 dias de intervalo.

Em *H. erato* nem a massa (Figura 13; Anova, $F_{2,21} = 2,252$; $P = 0,13$) nem a quantidade de proteína (Figura 14; Anova, $F_{2,21} = 0,059$; $P = 0,94$) apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Em *H. melpomene* há uma tendência,

embora não significativa, da massa variar em função do intervalo de dias (Figura 15; Anova, $F_{2,23} = 3,09$; $P = 0,065$). Já a quantidade de proteína é influenciada significativamente pelo intervalo de dias (Figura 16; Anova, $F_{2,23} = 5,472$; $P = 0,011$). A principal diferença observada se dá pela significativa queda nos acasalamentos realizados com reduzida distância temporal. Analisando as classes observa-se que a maior diferença encontrada foi entre a classe zero e a 1-5 (teste de Tukey, $P = 0,009$). As comparações entre a classe zero e > 5 ($P=0,33$) e 1-5 e > 5 ($P = 0,26$) não foram significativas.

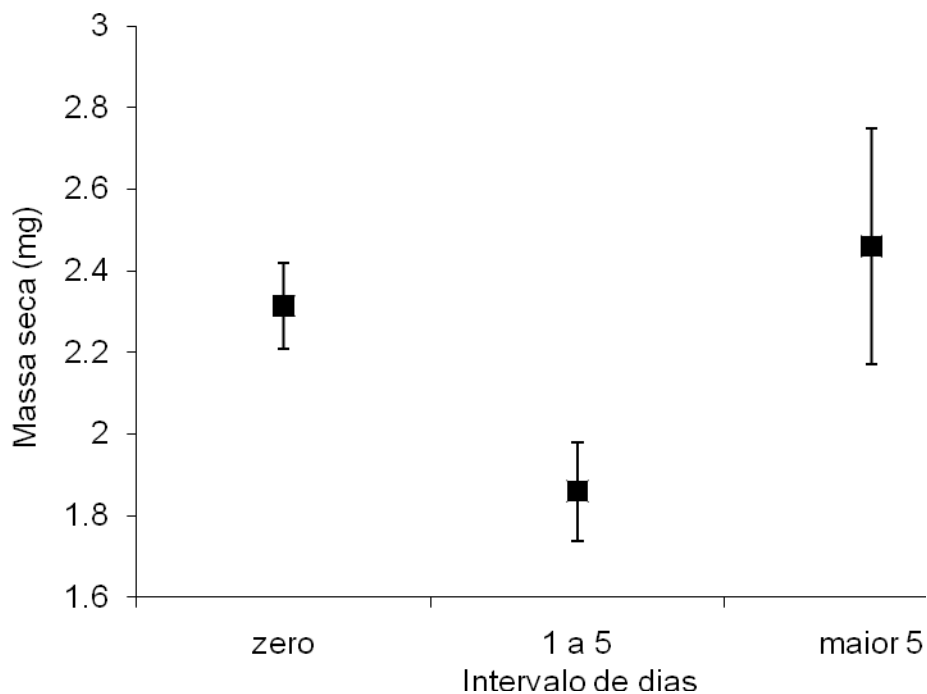


Figura 13 – Massa seca dos espermatozoides em *H. erato* para cada classe considerada.

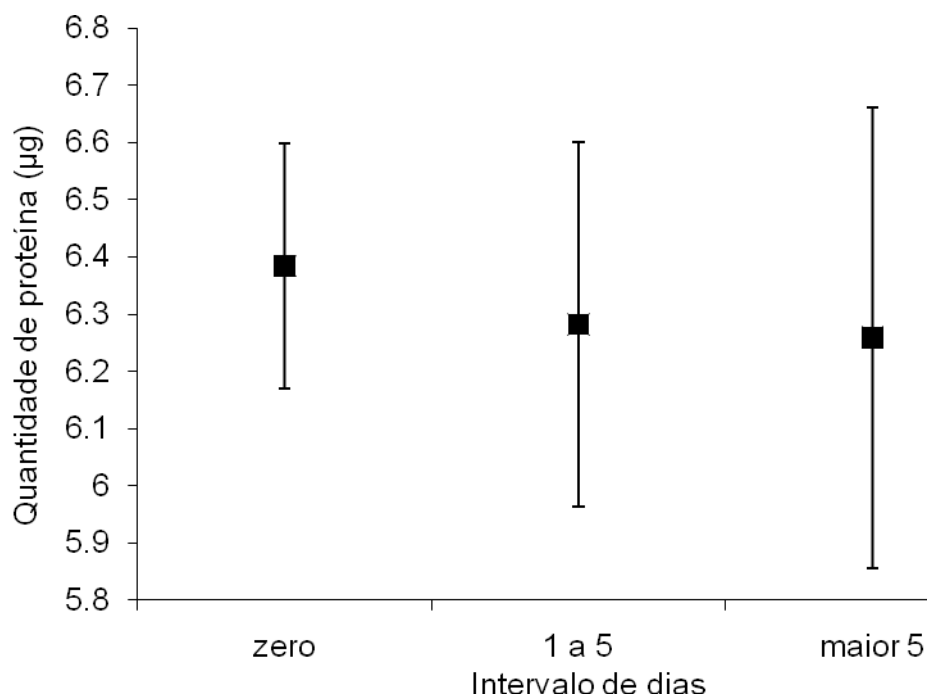


Figura 14 – Quantidade de proteína dos espermatozoides em *H. erato* para cada classe considerada.

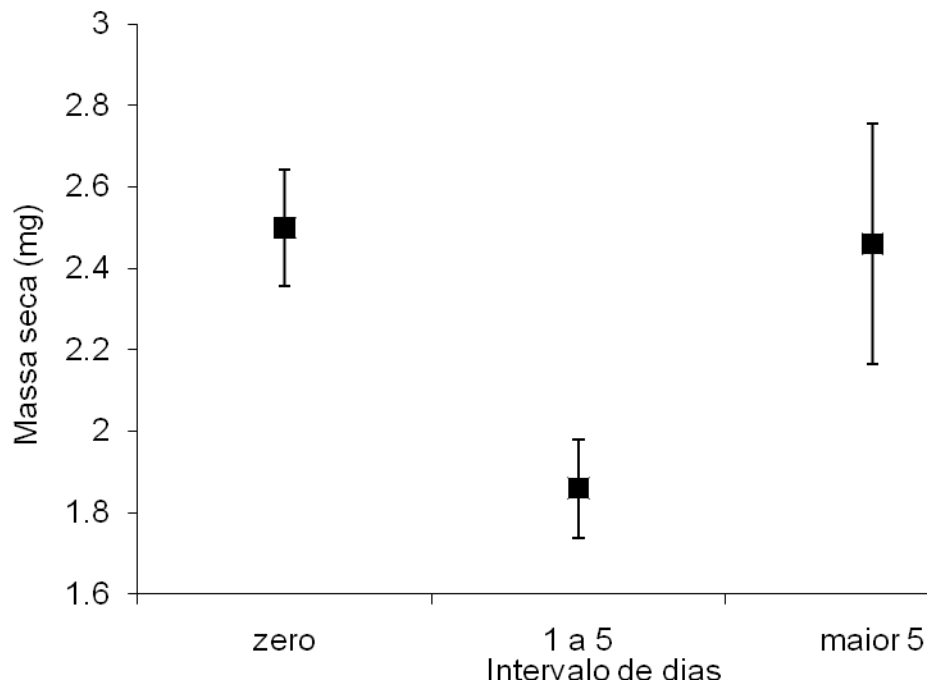


Figura 15 – Massa seca dos espermatozoides em *H. melpomene* para cada classe considerada.

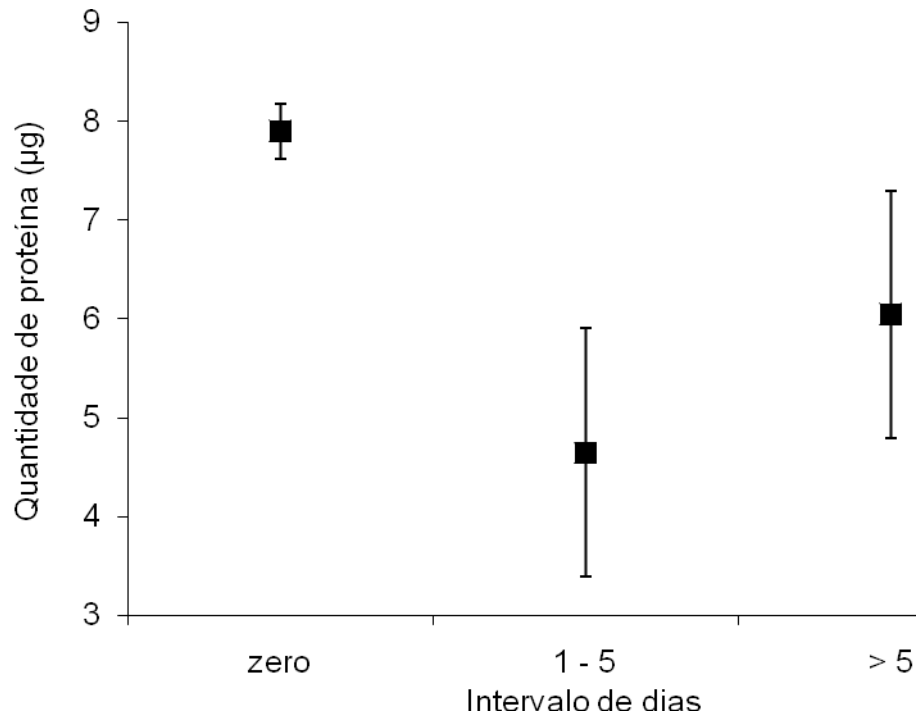


Figura 16 – Quantidade de proteína dos espermatozóides em *H. melpomene* para cada classe considerada.

Discussão

A hipótese que *Heliconius* machos de espécies poliândricas investem mais na qualidade do espermatozóide que machos de espécies monândricas é apoiada neste experimento. O maior investimento de *H. melpomene* foi evidenciado pela diferença significativa em relação à quantidade de proteína encontrada nos espermatozoides provenientes do primeiro acasalamento em relação a *H. erato* e pela ligeira, embora não significativa, diferença na massa do espermatozóide.

Apesar de não apresentar uma diferença significativa, entre as espécies, em relação ao peso seco, a análise dos espermatozoides demonstrou diferenças nas relações entre quantidade de proteína entre sistemas de acasalamento, quantidade de proteína e seqüência de acasalamentos, quantidade de proteína e dias após o último acasalamento.

H. melpomene apresentou uma relação positiva entre a massa seca e a quantidade de proteína, além da capacidade de produção de estruturas de maior qualidade quanto maior o tempo após o último acasalamento, ao contrário de *H. erato*, apresentou estruturas com quantidade proteica independente dos dias após a última cópula.

Como os acasalamentos não foram controlados e a disponibilização de fêmeas foi freqüente, alguns machos acasalaram com poucos dias depois do último acasalamento. Esse período entre os acasalamentos pode refletir na capacidade de reposição nutricional do macho, na produção do espermatozóide e conseqüentemente na duração do evento. Por isso os dados também foram considerados por categorias, classificando os eventos ocorridos inicialmente, eventos entre um e cinco dias após o último acasalamento e finalmente os eventos ocorridos com mais de cinco dias após o último. Essa análise é a que demonstra em que ponto se detecta a maior diferença entre as comparações antes feitas, demonstrando a capacidade de recuperação e a produção de espermatozoides de maior qualidade (maior massa e quantidade de proteína) de *H. melpomene*, espécie poliândrica, em relação à *H. erato*, espécie monândrica.

A importância da qualidade do presente nupcial em *Heliconius* já foi demonstrada em outros trabalhos (Boggs, 1981), assim como uma maior concentração de outros componentes presentes nessa estrutura, em espécies poliândricas em relação à monândricas (Boggs, 1981,1990; Cardoso e Gilbert, 2007). Entretanto, a diferença entre a quantidade de proteína entre as duas estratégias ainda não tinha sido evidenciada.

A diferença no investimento do macho entre as duas estratégias reprodutivas, a monandria e a poliandria, reforça a idéia de que em espécies poliândricas os machos tendem a investir mais em qualidade devido ao comprometimento, na quantidade e na qualidade dos ovos fertilizados, que estruturas pobres podem proporcionar. Como nessas espécies as fêmeas tendem a estar receptivas para copular outras vezes após alguns dias, a qualidade do investimento do macho reflete na duração entre os acasalamentos (Gilbert, 1972).

Como nas espécies monândricas as fêmeas só acasalam uma vez, a baixa quantidade de proteína encontrada nas amostras pode ser resultado do maior investimento dos machos em quantidade. No caso das espécies que apresentam o comportamento de acasalamento na pupa, as cópulas são resultado da disputa entre os machos (as fêmeas não influenciam na escolha do macho com que vai copular), o que leva os machos a concentrar energia na competição pelas fêmeas, em fertilizar o maior número de fêmeas para aumentar a possibilidade de ovos fertilizados e estar preparado para uma próxima cópula no menor intervalo de tempo.

Assim, o tempo parece ser um fator muito importante para espécies poliândricas, já que pode contribuir para a produção de uma estrutura de maior qualidade. Considerando que em um maior intervalo de tempo o macho pode coletar e armazenar uma carga nutricional maior, é compreensível que machos de espécies poliândricas produzam estruturas de maior concentração protéica, ao passo que na monandria os machos procurem investir em um número maior de fêmeas copuladas.

Em muitos insetos os nutrientes transferidos pelo macho, durante o acasalamento, são importantes para a produção de ovos, assim como a alimentação na fase larval e da dieta quando adulto (Boggs, 1990). Esses fatores também podem

influenciar no tempo de produção de ovos das fêmeas, na qualidade da dieta do adulto e na quantidade e qualidade da contribuição do macho (Wiklund e Kaitala, 1995). Em quaisquer das duas estratégias os machos sempre estão envolvidos numa incansável procura por fontes nutricionais, para melhorar o seu desempenho, e por fêmeas para transferir e dispersar seus genes.

A análise comparativa com base na quantidade de proteína dos presentes nupciais em *H. erato* e *H. melpomene* contribui para reforçar ainda mais diferenças entre os dois comportamentos reprodutivos, possibilitando outras avaliações que permitam entender melhor como funcionam esses sistemas de acasalamento e esclarecer outras questões sobre a evolução desse grupo.

Referências

- Arnqvist G. e Nilsson, T. 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Animal Behavior* 60: 145-164.
- Beltrán, Margarita, Brower, Andrew V. Z., e Jiggins, Chris. 2008. *Heliconius*. Disponível em: <<http://www.tolweb.org/Heliconius/72231>>. Acesso em: 07 ago. 2008.
- Bissoondath, C. J. e Wiklund, C. 1995. Protein content of spermatophores in relation to monandry / polyandry in butterflies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 37: 365-371.
- _____. 1997. Effect of male body size on sperm precedence in the polyandrous butterfly *Pieris napi* L. (Lepidoptera: Pieridae). *Behavior Ecology* 8: 518-523.
- Boggs, C. L. 1981. Selection pressures affecting male nutrient investment at mating in *Heliconius* butterflies. *Evolution*, 35: 931-940.
- Boggs, C. L. 1990. A general model of the role of male-donated nutrients in female insects' reproduction. *American Naturalist*, 136: 598-617.
- Boggs, C. L. e Gilbert, L. E. 1979. Male contribution to egg production in butterflies: evidence for transfer of nutrients at mating. *Science*, New York, 206: 83-84.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248-254.
- Brown, K. 1981. The biology of *Heliconius* and related genera. *Ann Rev. Entomology* 26. p.427-456.
- _____. 1992. Borboletas da Serra do Japi: diversidade, hábitos, recursos alimentares e variação temporal. *In*: Morellato, L. P. C. org. *História Natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil*. Campinas, Unicamp/ Fapesp. p.142-187.
- Cardoso, M. Z. e Gilbert, L. E. 2007. A male gift to its partner? Cyanogenic glycosides in the spermatophore of longwing butterflies (*Heliconius*). *Naturwissenschaften*, v. 94, p. 39-42.

- Cardoso, M. Z., Roper, J. J. e Gilbert, L. E. 2009. Prenuptial agreements: mating frequency predicts gift-giving in *Heliconius* species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131, p. 109-114.
- Cook, P. A. e Wedell, N. 1999. Non-fertile sperm delay female remating. *Nature* 397: 486.
- Deinert, E. I. 2003. Mate location and competition for mates in a pupal mating butterfly. *In*: Boggs, C. L.; Watt, W. b. e Ehrlich, P. R. eds. *Butterflies: ecology and evolution taking flight*. The University of Chicago Press, Chicago. p. 91-108.
- Deinert, E. I., Longino, J. T. e Gilbert, L. E. 1994. Mate competition in butterflies. *Nature*, 370: 23 - 24.
- DeVries, P. J. 1987. *The butterflies of Costa Rica and their natural history*. Princeton University Press, Princeton.
- Drummond, B. A. 1984. Multiple matings and sperm competition in the Lepidoptera. *In* Smith RL (editor). *Sperm competition and the evolution of animal mating systems*. London: Academic Press. p. 291-370.
- Gilbert, L. E., 1972. Pollen feeding and reproductive biology of *Heliconius* butterflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. 69 (6): 1403-1407.
- _____. 1991. Biodiversity of a Central American *Heliconius* community: patterns, process, and problems. *In*: Price, P. W.; Lewinshohn, T. M.; Fernandes, G. W. e Benson, W. W. eds. *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. New York, John Wiley & Sons. p. 403-427.
- Karlsson, B. 1995. Resource allocation and mating systems in butterflies. *Evolution* 49: 955-961.
- _____. 1996. Male reproductive reserves in relation to mating systems in butterflies: a comparative study. *Proc R Soc Lond B* 263: 187-192.
- Oberhauser, K. S. 1989. Effect of spermatophores on male and female monarch butterfly reproductive success. *Behavioral Ecology e Sociobiology* 25: 237-246.

- Silberglied, R. E., Sherpherd, J. D. e Dickinson, J. L. 1984. Eunuchs: the role of apyrene sperm in Lepidoptera? *American Naturalist* 123: 255-265.
- Svärd, L. e Wiklund, C. 1989. Mass and production rate of ejaculates in relation to monandry/polyandry in butterflies. *Behav Ecol Sociobiol* 24: 395-402.
- Torres-Vila, L. M. e Jennions, M. D. 2005. Male mating history and female fecundity in the Lepidoptera: do male virgins make better partners? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 57: 318-326.
- Wedell, N. e Cook P. A. 1999a. Strategic sperm allocation in the Small White butterfly *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). *Funct Ecol* 13: 85-93.
- _____. 1999b. Butterflies tailor their ejaculate in response to sperm competition risk and intensity. *Proc R Soc Lond B* 266: 1033-1039.
- Wedell, N. 2001. Female remating in butterflies: interactions between female genotype and nonfertile sperm. *J Evol Biol* 14: 746-754.
- Wedell, N., Wiklund, C. e Cook, P. A. 2002. Monandry and polyandry as alternative lifestyles in a butterfly. *Behavioral Ecology* 13: 450-455.
- Wiklund, C., Kaitala, A., Lindfors, V. e Abenius, J. 1993. Polyandry and its effect on female reproduction in the green-veined white butterfly (*Pieris napi* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 33: 25-33.
- Wiklund, C., Kaitala, A. 1995. Female mate choice and mating costs in the polyandrous butterfly *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *Journal of Insect Behavior*, Vol. 8. N° 3: 355-363.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)