



Universidade de Brasília

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Zoologia

**Padrões de variação morfológica nas asas de Sphingidae
(Lepidoptera: Bombycoidea): efeitos alométricos,
filogenéticos e dimorfismo sexual**

Willian Rogers Ferreira de Camargo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Orientadora: Profa. Ivone Rezende Diniz

Brasília, 2014

Willian Rogers Ferreira de Camargo

**Padrões de variação morfológica nas asas de Sphingidae
(Lepidoptera: Bombycoidea): efeitos alométricos,
filogenéticos e dimorfismo sexual**

Dissertação aprovada pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zoologia na Universidade de Brasília.

Brasília, 08 de setembro de 2014

Banca Examinadora

Profa. Dra. Ivone Rezende Diniz
Presidente/Orientadora
ZOO-UnB



Prof. Dr. Felipe W. Amorim
Membro Titular Externo
Biociências - UNESP - Botucatu

Prof. Dr. Rodrigo Gurgel
Membro Titular Interno
Faculdade de Medicina - UnB

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-graduação em Zoologia e ao Departamento de Zoologia e pela oportunidade para o desenvolvimento deste estudo.

À Professora Ivone Rezende Diniz pela orientação.

Ao Nícolas Ferreira de Camargo por me apresentar a morfometria geométrica e pelas lições em estatística.

Ao Amábilio Camargo pelo apoio e acesso irrestrito ao material da Coleção Entomológica da Embrapa Cerrados.

Ao Danilo Correa pela amizade e pelas oportunidades profissionais.

À minha esposa Daiane Camargo Garcia pela paciência e apoio nestes dois anos de trabalho.

Sumário

Agradecimentos	ii
Sumário.....	iii
Índice de figuras	v
Índice de tabelas	viii
Resumo	ix
Abstract.....	x
Introdução geral.....	1
Referências.....	8
Capítulo 1- Variação morfológica nas asas nos diferentes níveis taxonômicos de Sphingidae (Lepidoptera: Bombycoidea): efeitos alométricos, filogenéticos e implicações na dinâmica de voo.....	10
Resumo	10
Abstract.....	11
1. Introdução	12
2. Materiais e métodos	14
2.1. Coleta de dados	14
2.2. Análises estatísticas.....	16
2.2.1. Alometria.....	16
2.2.2. Sinal Filogenético	16
2.2.3. Formato das asas.....	17
3. Resultados	17
3.1. Variação total do formato das asas.....	17
3.2. Discriminação de grupos	20
3.3. Alometria.....	23
3.4. Sinal filogenético.....	24
3.5 Formato das asas.....	25

4. Discussão	29
5. Referências.....	34
Capítulo 2- Dimorfismo sexual e efeitos alométricos associados ao formato das asas de sete espécies de Sphingidae (Lepidoptera: Bombycoidea).....	37
Resumo	37
Abstract	38
1. Introdução	39
2. Material e métodos.....	41
2.1. Coleta de dados	41
2.2. Análises estatísticas.....	41
2.2.1. Formato das asas.....	41
2.2.2. Alometria.....	41
3. Resultados	42
4. Discussão	48
5. Referências.....	52
6. Apêndice 1.....	54

Índice de Figuras

Introdução

- Figura 1A- Hipótese de relação entre as subfamílias e tribos de Sphingidae, baseada na análise de cinco proteínas nucleares. Figura extraída de Kawahara *et al.* (2009).
Subfamílias Smerinthinae e Sphinginae.....3
- Figura 1B- Hipótese de relação entre as subfamílias e tribos de Sphingidae, baseada na análise de cinco proteínas nucleares. Figura extraída de Kawahara *et al.* (2009).
Subfamília Macroglossinae.....4
- Figura 2- Espécies representativas de cada Tribo nas subfamílias de Sphingidae. Na legenda ao lado esquerdo de cada espécime lê-se primeiro a subfamília, depois a tribo e por último o nome da espécie.....7

Capítulo 1

Variação morfológica nas asas, anterior e posterior, nos diferentes níveis taxonômicos de Sphingidae (Lepidoptera: Bombycoidea): efeitos alométricos, filogenéticos e implicações na dinâmica de voo.

- Figura 1- Face dorsal da asa anterior e ventral da asa posterior de um Sphingidae, com os 16 marcos anatômicos selecionados unidos por linhas que delimitam as regiões amostradas. As veias e regiões das asas seguem a nomenclatura utilizada por Moré *et al.* (2005). Foto Willian Camargo.....15
- Figura 2 - Análise de componentes principais (PCA) das variáveis de forma da asa anterior de Sphingidae. Componentes principais (CPs) legendados por tribo, com porcentagem da variação explicada pelos dois primeiros. A deformação observada ao longo dos eixos pode ser vista nas extremidades de cada um. Em detalhe, o mesmo *scatterplot* mostrando apenas os centroides de cada tribo. Explicação total do modelo de 27,27%.....19
- Figura 3 - Análise de componentes principais (PCA) das variáveis de forma da asa posterior de Sphingidae. Componentes principais (CPs) legendados por tribo, com porcentagem da variação explicada pelos dois primeiros. A deformação observada ao longo dos eixos pode ser vista nas extremidades dos eixos. Explicação total do modelo de 34%. No gráfico principal vê-se a distribuição de todos os indivíduos analisados. Na inserção vê-se o centroide de cada tribo.....20

Figura 4 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa anterior de Sphingidae agrupadas por subfamília, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). A tendência do formato das asas pode ser observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda= 0,068; $F_{56,3522}= 177,5195$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 100%.....21

Figura 5 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa posterior de Sphingidae agrupadas por subfamília, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). A tendência do formato das asas pode ser observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda= 0,056; $F_{56,3438}= 197,3678$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 100%.....22

Figura 6 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa anterior de Sphingidae agrupadas por tribos, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). A tendência do formato das asas pode ser observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda=0,015; $F_{140,8684}= 82,82217$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 81%. No gráfico principal vê-se a distribuição original com todos os indivíduos de cada tribo. Na inserção vê-se o centroide de cada tribo.....23

Figura 7 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa posterior de Sphingidae agrupadas por tribos, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). A tendência de formato das asas pode ser observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda= 0,004; $F_{140,8476}= 129,1532$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 84%. No gráfico principal vê-se a distribuição original com todos os indivíduos de cada tribo. Na inserção vê-se o centroide de cada tribo.....24

Figura 8 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa anterior de Sphingidae agrupadas por gênero, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). Na dispersão principal vê-se o centroide de cada gênero. A tendência de formato das asas pode observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda=0,0000026; $F_{728,33026}= 43,54968$; $p < 0,0001$. Explicação

cumulativa do modelo de 53%. Na inserção vê-se a distribuição completa com todos os indivíduos analisados.....26

Figura 9 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa posterior de Sphingidae agrupadas por gênero, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). Na dispersão principal vê-se o centroide de cada gênero. A tendência do formato das asas pode ser observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda=0,00, $F_{756,33088} = 42,88289$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 62%. Na inserção vê-se a distribuição completa com todos os indivíduos analisados.....27

Figura 10 - Topologia filogenética gerada a partir da sequência de 658 pares de bases da Citocromo Oxidase. Ao lado de cada espécie o código de acesso no GeneBank.....28

Capítulo 2

Dimorfismo sexual e efeitos alométricos associados ao formato das asas de sete espécies de Sphingidae (Lepidoptera).

Figura 1 - Frequências das VCs geradas nas ADs das asas anteriores. Entre parênteses, na ordem, o número de machos e fêmeas analisado em cada espécie de Sphingidae. Barras pretas representam os machos e as cinzas as fêmeas.....44

Figura 2- Frequências das VCs geradas nas ADs das asas posteriores de machos e fêmeas de Sphingidae. Entre parênteses, na ordem, o número de machos e fêmeas analisado em cada espécie. Barras pretas representam os machos e barras cinzas as fêmeas.....46

Figura 3 - Comparação entre o formato de asas anteriores e posteriores dos machos e fêmeas de sete espécies de Sphingidae. A cor preta representa as asas dos machos e a cinza as das fêmeas. As deformações representam a regressão dos resíduos do teste de alometria e as variáveis de forma da matriz de covariância.....47

Índice de Tabelas

Capítulo 1

Variação morfológica nas asas, anterior e posterior, nos diferentes níveis taxonômicos de Sphingidae (Lepidoptera: Bombycoidea): efeitos alométricos, filogenéticos e implicações na dinâmica de voo.

Tabela 1 – Correlação entre o tamanho do centroide e os componentes principais (CPs) e variáveis canônicas (VCs), indicando o efeito alométrico na variação do formato das asas, anterior e posterior, de Sphingidae nos diferentes níveis taxonômicos.....18

Capítulo 2

Dimorfismo sexual e efeitos alométricos associados ao formato das asas de sete espécies de Sphingidae (Lepidoptera).

Tabela 1. Resultados das ADs para as asas anteriores de machos e fêmeas de Sphingidae. O índice de Wilk's λ indica a capacidade da análise de separar os grupos a partir dessas variáveis, quanto mais próximo de zero maior a diferença entre eles.....42

Tabela 2. Resultados das ADs para as asas posteriores de machos e fêmeas de Sphingidae. O índice de Wilk's λ indica a capacidade da análise de separar os grupos a partir dessas variáveis, quanto mais próximo de zero maior será a diferença entre eles.....43

Tabela 3. Regressões simples entre as variáveis de forma e o tamanho do centroide. R^2 indica a porcentagem da variação da forma da asa que pode ser atribuída aos efeitos alométricos. Números em negrito indicam resultados não significativos..... 43

Tabela 4 - Resultados do teste t com resíduos agrupados por sexo em cada uma das sete espécies de Sphingidae para as asas anteriores de machos e fêmeas. \bar{x} = média, σ = desvio padrão, gl = graus de liberdade, t = teste t, p = significância.....45

Tabela 5 - Resultados do teste t com resíduos agrupados por sexo em cada uma das sete espécies de Sphingidae para asas posteriores de machos e fêmeas. \bar{x} = média, σ = desvio padrão, gl = graus de liberdade, t = teste t, p = significância.....45

Resumo

As espécies de Sphingidae (Lepidoptera: Bombycoidea) possuem asas anteriores longas e estreitas, asas posteriores curtas e subtriangulares e abdome robusto e fusiforme, muito grande em relação ao tamanho das asas. Esta forma é adaptada para voos potentes, tanto os longos e rápidos, utilizados na migração por algumas espécies, quanto o pairado, como dos beija-flores, utilizado na alimentação do néctar de flores. São importantes polinizadores de uma variedade de famílias de plantas, possuem vida adulta longa e seu tamanho pode variar de 3 cm a mais de 20 cm de envergadura alar. Apesar dessa amplitude de tamanho a variação no formato das asas não é aparente, embora nunca tenha sido propriamente descrita ou investigada. Este estudo investigou a variação morfológica no formato das asas anteriores e posteriores, em diversos níveis taxonômicos, de 105 espécies da família, além da presença de dimorfismo sexual em sete dessas espécies, utilizando a morfometria geométrica. A variação interespecífica mostrou-se bastante restrita pelas relações filogenéticas, com baixos efeitos alométricos, sugerindo que os formatos das asas foram definidos cedo na evolução dos grupos. A tribo Ambulycini apresentou asas com o formato mais reto e com pontas aguçadas, adaptadas ao voo em ambientes abertos, com baixa capacidade de manobra. Dilophonotini e Macroglossini possuem asas com extremidade abaulada, o que favorece maior manobrabilidade e estão, possivelmente, adaptadas aos voos rápidos. .. Philampelini, Sphingini e Acherontini apresentaram asas intermediárias que indicam maior velocidade e boa manobrabilidade. A investigação do dimorfismo sexual mostrou que a variação no formato das asas entre os sexos apresenta um efeito alométrico maior do que a variação interespecífica. Ainda assim, quando este efeito foi medido e retirado, a variação mostrou-se também adaptativa, com formatos de asa que sugerem maior velocidade de voo nos machos. Pode-se concluir que a variação interespecífica em Sphingidae possui restrições filogenéticas que limitam variações inclusive de natureza alométrica, enquanto a variação intraespecífica é fruto tanto de efeitos alométricos quanto de adaptações resultantes da história de vida de cada sexo.

Palavras-chave: Acherontini, Ambulycini, Dilophonotini, Dinâmica de voo, Macroglossini, Philampelini, Sphingini

Abstract

Hawkmoths (Lepidoptera: Bombycoidea, Sphingidae) have long, narrow forewings, hind wings that are short and subtriangular, robust and fusiform abdomen, very large relative to the size of the wings, that are adapted for powerful flight, both long and fast, used in migration for some species, as well as for hovering flight, like hummingbirds, used in feeding from the nectar of flowers. They are important pollinators of a variety of plant families, adults are long lived and their size can range from 3 cm to over 20 cm of wing span. Despite this size range, the variation in the shape of the wings is not apparent, though never properly investigated or described. In the present study we investigated the morphological variation in the format of the fore and hind wings, in various taxonomic levels, of 105 species of the family, and the presence of sexual dimorphism in seven of these species. The interspecific variation proved to be very constrained by phylogenetic relationships, with low allometric effects, suggesting that the shapes of the wings were set early in the evolution of groups. Ambulycini tribe presented straight edge wings, best suited for open habitats, with low maneuverability. Dilophonotini and Macroglossini tribes presented rounded edge wings, with great maneuverability and good capacity for speed, more adapted to the exploration of closed and complex environments such as gallery forests. Philampelini, Sphingini and Acherontini showed intermediate wings that indicate greater capacity for fast flights, but still good maneuverability. Investigation of the sexual dimorphism found that intersexual shape variation of the wings has a larger allometric effect than interspecific variation. Even when this effect was measured and removed, variation also proved to be adaptive, with wing shapes that suggest higher flight speed in males. We conclude that interspecific variation suffers filogenetic constrictions that limit variation, which is mostly adaptive since allometric effects are shown to be very low. On the other hand, intraspecific variation is present and it is born both from allometric effects and adaptive changes.

Keywords: Acherontini, Ambulycini, Dilophonotini, flight dynamics, Macroglossini, Philampelini, Sphingini

Introdução geral

A Ordem Lepidoptera apresenta alta riqueza de espécies, com grande variabilidade morfológica ainda pouco estudada (Santos 2008). Estimativas sobre a diversidade da ordem encontram-se subdimensionadas e espera-se que, com a intensificação dos inventários de fauna e os estudos de taxonomia, o número de espécies possa chegar a 500 mil em todo o mundo (Gaston 1991). No Brasil são conhecidas aproximadamente 26 mil espécies distribuídas em 71 famílias (Duarte *et al.* 2012). Esse número representa quase metade das espécies Neotropicais.

A família Sphingidae é composta por espécies principalmente noturnas, com algumas exceções de hábitos crepusculares e diurnos. Sua distribuição abrange todo o mundo, exceto Antártida e Groenlândia (Duarte *et al.* 2012). Atualmente são conhecidas cerca de 1.400 espécies, distribuídas em 203 gêneros (Kitching & Cadiou 2000). Estima-se que 302 espécies estejam presentes na América do Sul e destas, 180 ocorram no Brasil (Amorim *et al.* 2009).

As menores espécies possuem cerca de 20 mm, com 25 mm de envergadura de asa (por ex: *Cautethia* Grote, 1865 e *Unzela* Walker, 1856) e as maiores podem ultrapassar os 100 mm de comprimento, com até 250 mm de envergadura alar (por ex: *Neococytius cluentius* (Cramer, 1775). O mesotórax é normalmente muito robusto e as extremidades dorsais das suturas prescutais são muito próximas ou ainda fundidas medialmente (Minet 1994). O abdome também é robusto, fusiforme e sem órgãos timpânicos. As asas anteriores são muito longas e com formato subtriangular, enquanto as posteriores são comparativamente mais curtas.

As pernas são bem desenvolvidas, com presença de esporões tibiais 0-2-4 ou 0-2-2, com os tarsos apresentando espinhos ventrais. As coxas anteriores podem apresentar tufos de escamas muito longos. Tanto o arólio quanto o púlvilo podem estar ausentes. Quando presente, o púlvilo pode ser tanto bilobado quanto inteiriço (Lemaire & Minet 1998).

As antenas são ventralmente lameladas e filiformes, com os últimos antenômeros de tamanho muito reduzido, em comparação àqueles imediatamente anteriores, e recurvados dorsalmente, produzindo um pequeno gancho. As espécies que apresentam hábitos crepusculares apresentam antenas levemente dilatadas na extremidade distal, dando a impressão de uma antena clavada. As antenas dos machos

possuem uma estrutura característica em que o lado ventral de cada antenômero é lateralmente côncavo e as margens, anterior e posterior, apresentam cerdas longas e finas (cílios), estrutura encontrada também nas fêmeas de alguns gêneros (Kitching & Cadiou 2000).

A maioria dos Sphingidae possui uma probóscide longa e bem desenvolvida, podendo atingir 280 mm em *Amphimoea walkeri* (Boisduval, [1875]), por exemplo, excedendo assim o comprimento do corpo em até três vezes. Entretanto, em algumas espécies da subfamília Smerinthinae do velho mundo a probóscide é vestigial. O palpo labial é bem desenvolvido, ascendente, com dois artículos grandes e um terceiro reduzido, normalmente escondido entre escamas apicais (Lemaire & Minet 1998). O pilífero é formado por uma escova de cerdas curtas, situadas na base da probóscide. Em algumas espécies o pilífero é modificado de forma a se dividir em duas partes, com a exterior tocando o segundo artículo do palpo labial, que é dilatado e sem escamas na face interna. Essa estrutura, uma sinapomorfia encontrada em Choerocampina, funciona como órgão auditivo capaz de detectar ultrassom (Kitching & Cadiou 2000).

A classificação atualmente aceita para o grupo segue o trabalho de Kawahara *et al.* (2009) (Figuras 1A e 1B). A família encontra-se dividida em três subfamílias (Smerinthinae, Sphinginae e Macroglossinae) e oito tribos, das quais seis ocorrem no Brasil (Ambulycini, Acherontini, Sphingini, Philampelini, Macroglossini e Dilophonotini) (Figura 2).

Ao contrário de Saturniidae, seu grupo irmão, os esfingídeos são excelentes voadores, capazes de pairar sobre as flores das quais se alimentam e ainda de se deslocarem grandes distâncias em voos migratórios. Sabe-se que algumas espécies de Sphingidae deslocam-se até centenas de quilômetros em uma noite e que algumas chegam a ter distribuição continental. *Xylophanes tersa* (Linnaeus, 1771), por exemplo, ocorre desde a Argentina até o sul do Canadá e *Agrius cingulata* (Fabricius, 1775), que primariamente possui distribuição neotropical, já foi registrada no leste do Canadá e oeste da Europa (Martin *et al.* 2011).

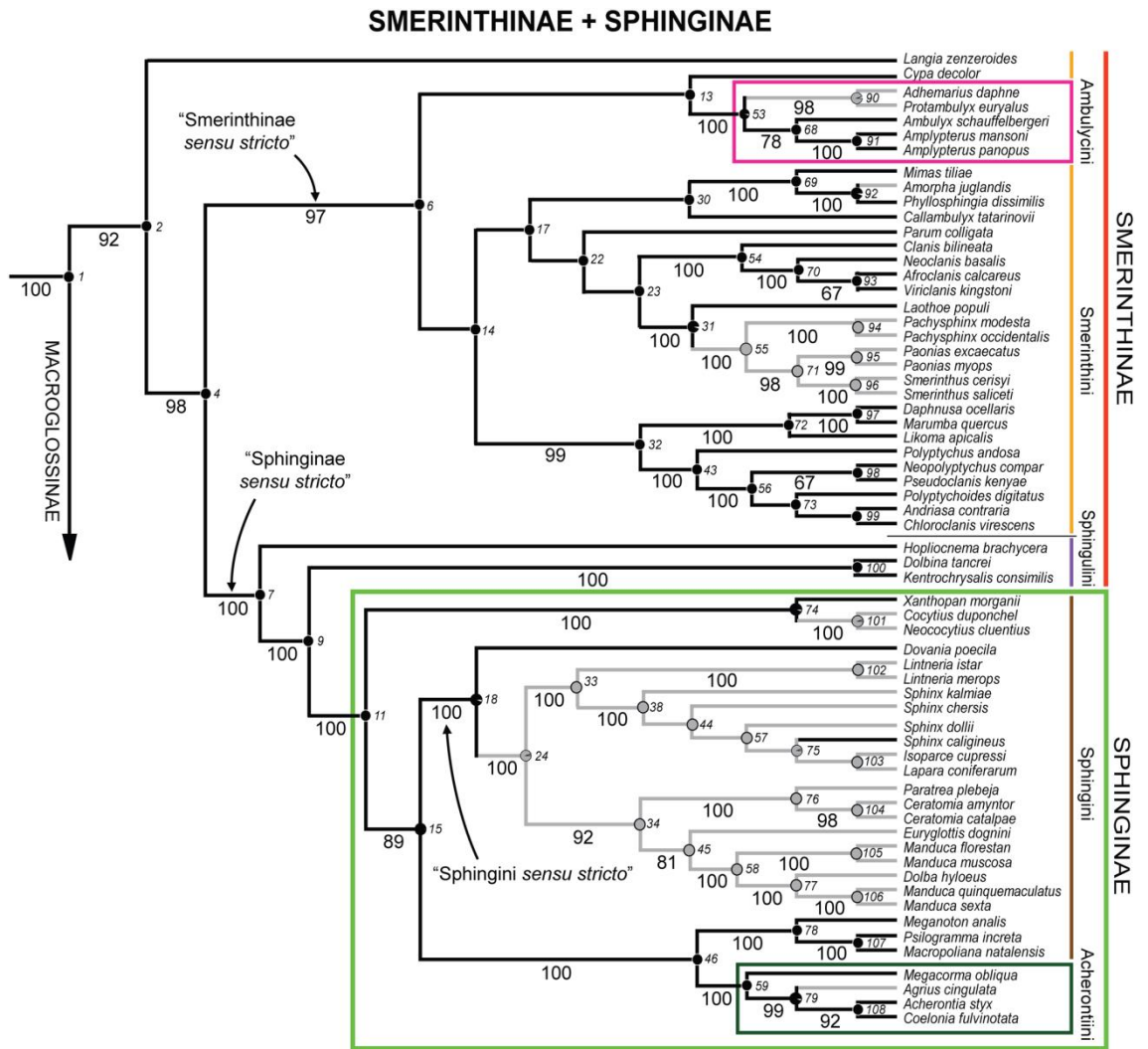


Figura 1A- Árvore de máxima semelhança da análise simultânea de cinco genes combinados, subfamília Smerinthinae e Sphinginae, mostrando hipótese de relação filogenética entre subfamílias e entre tribos de Sphingidae. A classificação utilizada aqui segue Kitching & Cadiou 2000. Números maiores abaixo dos ramos são valores de bootstrap (0,50%), números menores a direita dos nós representam número de nós, ramos pretos representam espécies do velho mundo, ramos cinza representam espécies do novo mundo. Figura extraída de Kawahara *et al.* (2009).

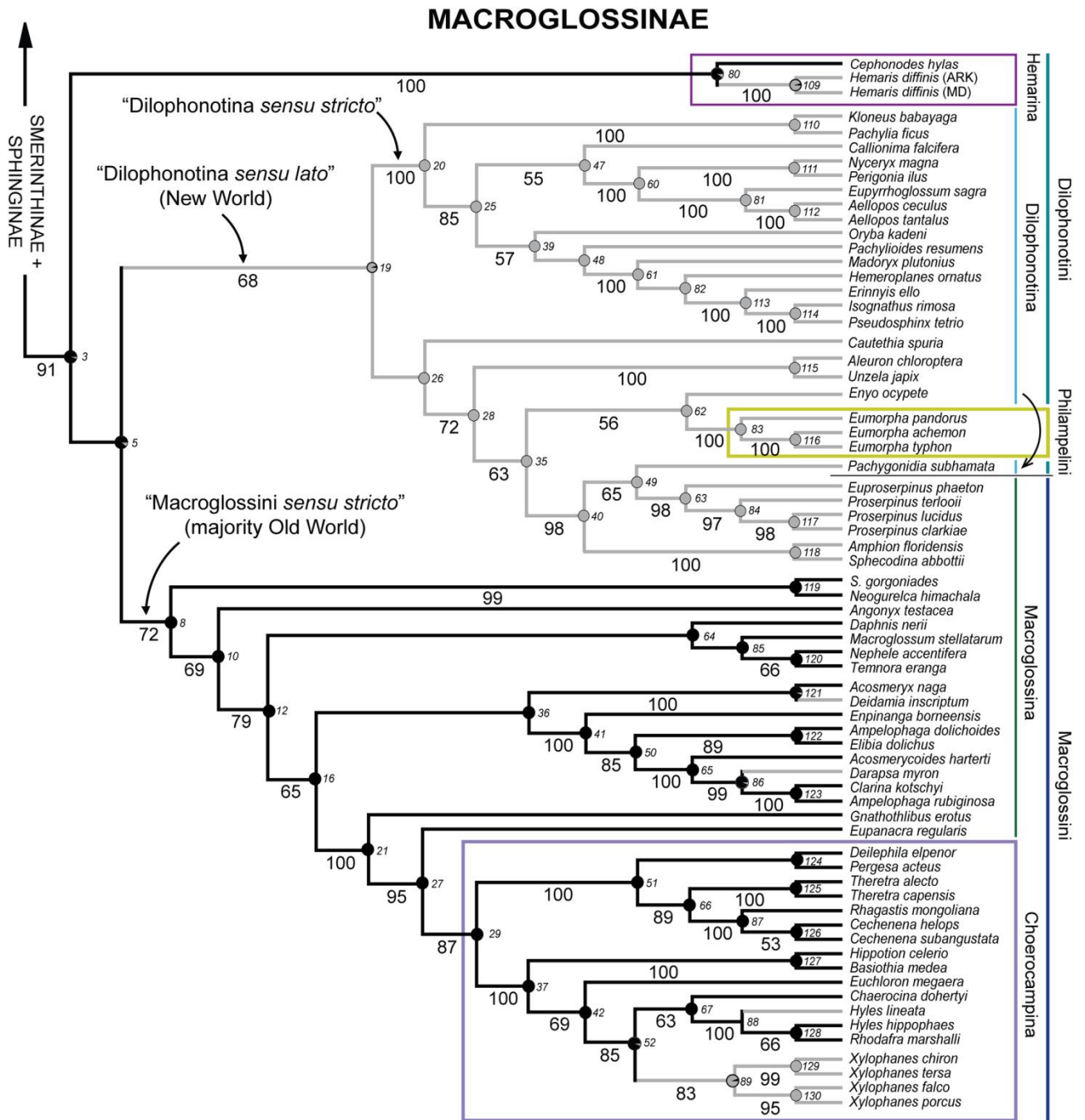


Figura 1B- Árvore de máxima semelhança da análise simultânea de cinco genes combinados, subfamília Macroglossinae, mostrando hipótese de relação filogenética entre subfamílias e tribos de Sphingidae. A classificação utilizada aqui segue Kitching & Cadiou 2000. Números maiores abaixo dos ramos são valores de bootstrap (0,50%), números menores a direita dos nós representam número de nós, ramos pretos representam espécies do velho mundo, ramos cinza representam espécies do novo mundo. . Figura extraída de Kawahara *et al.* (2009).

Os adultos de Sphingidae alimentam-se de néctar e possuem morfologia adequada para a polinização de uma grande variedade de plantas. São economicamente relevantes para um grande número de espécies, tanto selvagens quanto cultivadas, de diversas famílias de plantas como: Amaryllidaceae, Apocynaceae, Bignoniaceae, Cactaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, Gesneriaceae, Malvaceae, Martyniaceae, Onagraceae, Orchidaceae, Rubiaceae e Solanaceae (Duarte *et al.* 2012).

Características morfológicas das asas como tamanho, forma e venação desempenham papel importante em estudos de taxonomia e evolução dos lepidópteros. Condições ou limitações na expressão dessa variabilidade podem ser refletidas em padrões conservativos de covariância entre estados. A diversidade encontrada em Lepidoptera pode ser uma fonte de informação quanto à variação de formas em relação às limitações funcionais e histórico evolutivas.

O desenho da asa em Lepidoptera normalmente é resultado do custo benefício entre várias funções: display sexual e territorial, defesa críptica ou aposemática, regulação térmica e padrões de voo (Betts & Wootton 1988). A evolução de voo conduziu a uma grande variedade morfológica e adaptações nos insetos. Entender a variação encontrada no formato das asas é importante, para a compreensão das forças seletivas que moldaram o tamanho e forma dessas estruturas, e como essas adaptações podem ser limitadas por restrições alométricas ou filogenéticas.

A comparação entre caracteres anatômicos de diferentes organismos tem sido um elemento central na análise estatística da biologia comparativa, que tornou possível a combinação de métodos estatísticos multivariados com novas formas de visualizar uma estrutura (Adams & Funk 1997).

A morfometria geométrica consiste em uma técnica de aquisição, processamento e análise da forma que preserva a geometria do objeto. Utiliza-se de coordenadas cartesianas e da sobreposição de marcos anatômicos para analisar a variação de forma entre espécimes (Monteiro & Reis 1999). Esta análise, conhecida como sobreposição de procrustes, extrai apenas a informação de forma, enquanto componentes da variação de tamanho, posição e orientação podem ser removidos e desconsiderados (Benítez 2013). Essa metodologia permite uma análise qualitativa e quantitativa, uma vez que descreve uma amplitude de variação entre estruturas. Pode ser capaz de detectar sutilezas que passam despercebidas em uma morfologia comparada ou mesmo na morfometria clássica, por analisar uma estrutura diretamente, como um todo, por meio de uma reconstrução completa, ao invés de analisa-la indiretamente, utilizando medidas fragmentadas. O uso dos marcos anatômicos na morfometria geométrica funciona apontando-se pontos homólogos na imagem de uma estrutura estudada e analisando-se o grau de energia necessária para deformar um “grid” retangular sobreposto em uma forma (Shipunov & Bateman 2004).

Os principais objetivos deste estudo foram qualificar, descrever e explicar a variação na forma das asas, anteriores e posteriores, nos diferentes níveis taxonômicos da família Sphingidae,

quantificando os efeitos alométricos e filogenéticos presentes nessa variação (Capítulo 1); avaliar e descrever a existência de dimorfismo sexual no formato da asa em diferentes espécies, quantificando os efeitos alométricos relacionados e descrevendo a variação adaptativa independente desses efeitos (Capítulo 2). A metodologia básica encontra-se descrita no capítulo 1, metodologias específicas estão descritas em cada capítulo.

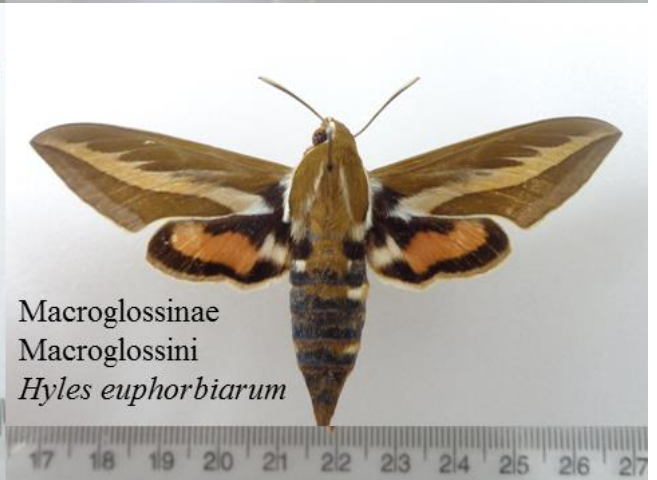
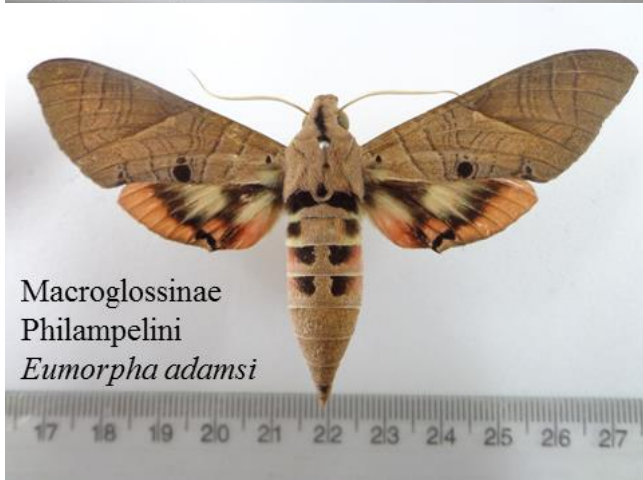
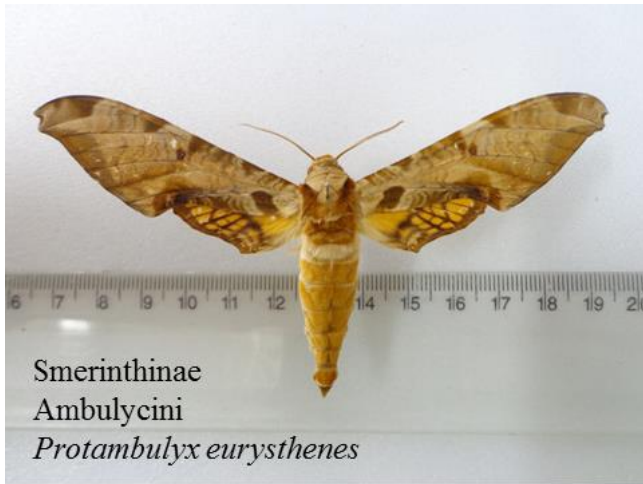


Figura 2. Espécies representativas de cada Tribo nas subfamílias de Sphingidae. Na legenda ao lado esquerdo de cada espécime lê-se primeiro a subfamília, depois a tribo e por último o nome da espécie.

Referências

- Adams, D.C., & Funk, D.J. 1997. Morphometric inferences on sibling species and sexual dimorphism in *Neochlamisus bebbianae* leaf beetles: multivariate applications of the thin-plate spline. *Systematic Biology*, 46(1): 180-194.
- Amorim, F.W., Ávila, R.S., Camargo, A.J.A., Vieira, A.L. & Oliveira, P.E. 2009. A hawkmoth crossroads? Species richness, seasonality and biogeographical affinities of Sphingidae in a Brazilian Cerrado. *Journal of Biogeography*, 36: 662-674.
- Benítez, H.A. 2013. Sexual dimorphism using geometric morphometric approach, in *Sexual Dimorphism*, Prof. Hiroshi Moriyama (Ed.), InTech. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/sexual-dimorphism/sexual-dimorphism-using-geometric-morphometric-approach>.
- Betts, C. R., & Wootton, R. J. 1988. Wing shape and flight behaviour in butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea and Hesperioidea): a preliminary analysis. *Journal of Experimental Biology*, 138(1): 271-288.
- Duarte, M., Marconato, G., Specht, A. & Casagrande, M.M. 2012. Lepidoptera, pp. 625-682. In: RAFAEL, J.A., MELO, G.A.R., CARVALHO C.J.B. de, CASARI, S.A., CONSTANTINO, R. (Eds.). *Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia*. Holos Editora, Ribeirão Preto, SP. 796 p.
- Gaston, K.J. 1991. The magnitude of global insect species richness. *Conservation Biology* 5: 283-296.
- Kawahara, A.Y., Mignault, A.A., Regier, J.C., Kitching, I.J. & Mitter, C. 2009. Phylogeny and biogeography of hawkmoths (Lepidoptera: Sphingidae): evidence from five nuclear genes. *PLoS ONE* 4(5): e5719.
- Kitching, I.J. & Cadiou, J.M. 2000. *Hawkmoths of the world: an annotated and illustrated revisionary checklist (Lepidoptera: Sphingidae)*. Cornell University Press, Ithaca. 254p.
- Lemaire, C. & Minet, J. 1998. The Bombycoidea and their relatives. pp. 321-353. In: KRIESTEN, N. P. (Ed.). *Lepidoptera: moths and butterflies*. Vol. 1: Evolution and Systematics.
- Martin, A., Soares, A. & Bizarro, J. 2011. *A guide to the hawkmoths of the Serra dos Orgãos*. Information Press, Eynsham, Oxford, UK. 143p.
- Minet, J. 1994. The Bombycoidea: phylogeny and higher classification (Lepidoptera: Glossata). *Entomologica Scandinavica*, 25: 63-88.
- Monteiro, L.R. & Reis, S.F. 1999. *Princípios da morfometria geométrica*. Holos, São Paulo, IX + 188 p.

- Santos, E.C. 2008. Morfologia comparada dos adultos de *Pyrrhopyge charybdis charybdi* Weswood, 1852 (Pyrrhopyginae), *Urbanus teleus* (Hübner, 1821) (Pyrginae, Eudamini), *Pyrgus orcus* (Stoll, 1780) (Pyrginae, Pyrgini) e *Synapte silius* (Latreille, [1824]) (Hesperiinae) (Lepidoptera, HesperIIDae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná. 162 p.
- Shipunov, A.B. & Bateman, R.M. 2004. Geometric morphometrics as a tool for understanding *Dactylorhiza* (Orchidaceae) diversity in European Russia. *Biological Journal of the Linnean Society*. 85: 1–12.

Capítulo 1

Variação morfológica das asas nos diferentes níveis taxonômicos de Sphingidae (Lepidoptera: Bombycoidea): efeitos alométricos, filogenéticos e implicações na dinâmica de voo

Resumo

O voo é um aspecto crítico na forma de vida da família Sphingidae e o formato das asas é um traço que deve ser avaliado quando se estuda a variação morfológica na família, constituindo-se também como um importante fator de diferenciação taxonômica. Neste estudo investigou-se a variação interespecífica do formato das asas, anteriores e posteriores, de 105 espécies de esfíngídeos, por meio de técnicas de morfometria geométrica. As variáveis de forma resultantes foram utilizadas em Análise de Componentes Principais (PCA) e Análises Discriminantes (ADs) para avaliar a variação morfológica destes traços em diferentes níveis taxonômicos. Os papéis dos efeitos alométricos e filogenéticos foram verificados por meio de regressões simples entre tamanho de centroide e variáveis canônicas e testes de sinal filogenético, respectivamente. O formato da asa em cada grupamento foi acessado utilizando-se regressões simples entre as variáveis de forma e as variáveis canônicas. Os efeitos alométricos tiveram um papel menor do que esperado na variação morfológica das asas. Por outro lado, as relações filogenéticas representam restrições importantes nessa variação, o que indica que o formato das asas foi definido muito cedo na evolução do grupo. O formato das asas parece ser mais bem definido no nível taxonômico das tribos. Ambulycini apresentou asas mais adaptadas a voos em ambientes abertos, com menor poder de manobrabilidade. Dilophonotini e Macroglossini possuem asas mais adaptadas à exploração de ambientes fechados e complexos, como matas de galeria, adequadas a voos rápidos mas ótima capacidade de manobra. Philampelini, Sphingini e Acherontini apresentaram asas adaptadas para voos mais rápidos e longos do que Dilophonotini, mas apresentam também boa manobrabilidade.

Palavras-chave: Acherontini, Ambulycini, Dilophonotini, Sphingini, Macroglossini, migração, Philampelini, uso de habitat, voo pairado.

Abstract

Flight is a critical aspect in the form of life of the family Sphingidae and the shape of the wings is a trait that should be evaluated when studying morphological variation in this family, it is also an important factor of taxonomic differentiation. In the present study we investigated the interspecific variation of shape on fore and hind wings of 105 species of hawkmoths through geometric morphometrics. The resulting shape variables were used in Principal Component Analysis and Discriminant Analysis to evaluate the morphological variation of these traits at different taxonomic levels. The roles of allometric and phylogenetic effects have been verified by simple regressions centric size and canonical variable and phylogenetic signal test, respectively. The shape of the wing in each grouping was assessed using simple regressions between variables of form and canonical variables. The role of allometric effects was less than expected on the variation of wing morphology. Moreover, the phylogenetic relationships represent important restrictions in this variation, which indicates that the shape of the wings was set very early in the evolution of the group. The shape of the wings seems to be better defined in the taxonomic level of the tribes. Ambulycini presented wings better suited for flights in open spaces, with lower power of maneuverability. Dilophonotini and Macroglossini have wings better adapted to the exploration of closed and complex environments such as gallery forests, appropriate to a fast flight, but with great maneuverability. Philampelini, Acherontini and Sphingini present wings adapted for long distance flights.

Keywords: Acherontini, Ambulycini, Dilophonotini, flight dynamics, hovering flight, Sphingini, Macroglossini, migration, Philampelini.

1. Introdução

A capacidade de voar permite a uma espécie explorar áreas extensas ou de difícil acesso, à procura de recursos indisponíveis a organismos não voadores, migrações de grandes distâncias e maiores possibilidades de irradiação e dispersão (Norberg 1994). Entretanto, é uma forma de locomoção de alto custo energético e, conseqüentemente, exerce uma forte seleção sobre as asas para que esse custo seja minimizado (Norberg 1990), por isso animais voadores desenvolveram uma série de estratégias de voo e de formato de asas.

O tamanho e a forma das asas são importantes fontes de informação para se entender as forças que levaram a essas configurações e de que forma elas estão presas a restrições filogenéticas e ecológicas (Bai *et al.* 2011). Também constitui um caráter importante de diferenciação taxonômica (Camargo & Oliveira 2012).

A variação morfológica no formato de uma estrutura pode revelar muito sobre a história evolutiva de um grupo de organismos e sua maneira de utilizar o ambiente. Quando o principal meio de locomoção do organismo em questão é o voo, o formato da asa pode ser o caráter mais importante a ser avaliado. Efeitos alométricos, ecológicos e filogenéticos são os principais fatores que podem influenciar diretamente os aspectos morfológicos das espécies e explicar eventuais diferenças acentuadas no formato das asas (Bai *et al.* 2011).

Traços conservativos podem representar restrições arquiteturais que preservam funções indispensáveis. Traços variáveis representam o potencial para diversificação dentro de uma linhagem (Straus 1990). Por outro lado, a variação no formato de uma estrutura como a asa pode estar ligado à conservação da função dessa estrutura devido à variação de tamanho de corpo. Efeitos alométricos dessa natureza respondem por grande parte da variação morfológica em muitos organismos, inclusive em famílias de Lepidoptera como Nymphalidae (Straus 1990). Quantificar estes efeitos alométricos é uma forma de avaliar se as variações no formato de uma estrutura são uma forma de covariação ligada ao tamanho ou se representam adaptações evolutivas.

Duas espécies de Sphingidae evolutivamente próximas ocupando habitats distintos podem permanecer morfológicamente mais similares do que espécies próximas

de outras famílias, por causa das restrições funcionais inerentes à sua história de vida, i.e. voo pairado e migração. Por outro lado, a vida adulta longa e a habilidade dos adultos de se alimentarem dão aos esfíngídeos maiores possibilidades de soluções ecológicas, comportamentais e fisiológicas para os problemas apresentados por diferentes tipos de habitat, que não as mudanças nos traços morfológicos das asas (Janzen 1984). Essa forma de vida pode representar uma limitação histórica na variação do formato das asas entre espécies.

Apesar de as exigências ecológicas constituírem forças de seleção importantes, a variação no formato das asas pode estar limitada por restrições alométricas ou filogenéticas. Bai *et al.* (2011), por exemplo, baseando-se em análises filogenéticas e morfométricas, afirma que a morfologia da asa posterior dos coleópteros reflete a evolução da morfologia de todo o corpo do inseto.

A família Sphingidae (Lepidoptera) é bastante conhecida pela sua capacidade de voo. Quase a totalidade das espécies alimenta-se de néctar quando adultos, pairando sobre as flores. O voo pairado tem maior custo energético porque a força de sustentação para resistir à gravidade vem inteiramente da oscilação das asas, não havendo voo planado (Voigt & Winter 1999).

Para encontrar fontes suficientes de alimento que compensem os gastos energéticos relacionados ao voo pairado e para a procura de parceiros sexuais, os esfíngídeos patrulham grandes distâncias e são capazes de voar a altas velocidades, estando entre os insetos mais rápidos (Kitching & Cadiou 2000).

Uma vez que a asa constitui um elemento morfológico de precisão importante na capacidade do animal alimentar-se e reproduzir-se, espera-se que haja uma variação detectável no formato da asa em nível específico. Entretanto, o grau dessa variação encontra-se limitado por outros fatores que não os ecológicos. O principal objetivo deste estudo foi descrever e explicar a variação na forma das asas, anterior e posterior, nos diferentes níveis taxonômicos da família Sphingidae, quantificando o papel dos efeitos alométricos e filogenéticos na restrição a essa variação e avaliar se grupos taxonômicos são distinguíveis em vários níveis, com base na morfologia das asas.

2. Material e métodos

2.1. Coleta de dados

O material entomológico utilizado é proveniente da Coleção Entomológica da Embrapa Cerrados – CPAC. Nesta coleção estão catalogadas 142 espécies da família Sphingidae, coletados principalmente nos biomas Amazônia e Cerrado, o que representa 77% da riqueza estimada para o grupo no Brasil (Amorim *et al.* 2009). Entretanto, apenas espécies com pelo menos dez indivíduos de cada agrupamento analisado (nível taxonômico) foram utilizados para as análises. Dessa forma, se uma espécie estava representada com menos de dez indivíduos na coleção, ela foi utilizada apenas nas análises de gêneros, desde que houvesse pelo menos dez indivíduos de dado gênero.

Foram fotografadas as asas, anterior e posterior, direitas de 1.791 indivíduos, distribuídos em 103 espécies e 27 gêneros (Apêndice 1). Quando a asa direita estava danificada, a asa esquerda foi utilizada e depois invertida. Utilizou-se uma câmera fotográfica Sony cyber-shot DSC-W650 de 16.1 megapixels, fixada em um tripé. Um pedaço de papel branco foi posicionado entre as asas anterior e posterior para que somente uma fosse registrada de cada vez. Cada espécime foi fixado em uma prancha de montagem, de forma que as asas ficassem a oito centímetros da lente da câmera. Nenhum efeito de zoom foi utilizado para evitar qualquer alteração na obtenção da estimativa de tamanho das asas.

Para avaliar o formato das asas, as junções e as extremidades das venações foram adotadas como marcos anatômicos do tipo 1, ou seja, aqueles pontos em que três estruturas se encontram (Bookstaein 1991). Não foram amostrados pontos na região limitada pela margem costal e a veia Radial 3 (Rs3) e parte da região delimitada pela veia Radial 3 (Rs3) até sua inserção na Radial 4 (Rs4), parte da região delimitada pela margem interna e a veia anal (2A+3A) da asa anterior; margem costal e veia subcostal mais a Radial (SC + R) e parte da região delimitada pela margem interna e a veia anal (2A) na asa posterior (detalhes na Figura 1). Os marcos nessas regiões seriam necessariamente do tipo 2. Marcos anatômicos dos tipos 2 e 3 podem enfraquecer as análises, uma vez que é difícil garantir homologias entre esses pontos e explicações complexas derivadas desses tipos de marco são menos confiáveis (Monteiro & Reis 1999).

Os 16 marcos anatômicos foram digitalizados com o auxílio do programa TPSDIG v.1.18 (Rholff 1999a). Esses pontos são porções homólogas que fornecem representações realísticas das diferentes regiões da asa. Para tornar estas estruturas visíveis sem prejudicar o material da coleção, foi aplicado xilol PA ao longo das asas. O xilol faz com que as escamas percam o volume momentaneamente, deixando as venações evidentes e após a sua evaporação elas retornam à condição original sem danificar os espécimes. Os marcos anatômicos foram obtidos da face dorsal da asa anterior e da face ventral da asa posterior (Figura 1), de forma que toda a asa pudesse ser fotografada e a leve sobreposição que ocorre entre as duas não impedisse a visualização completa das estruturas.

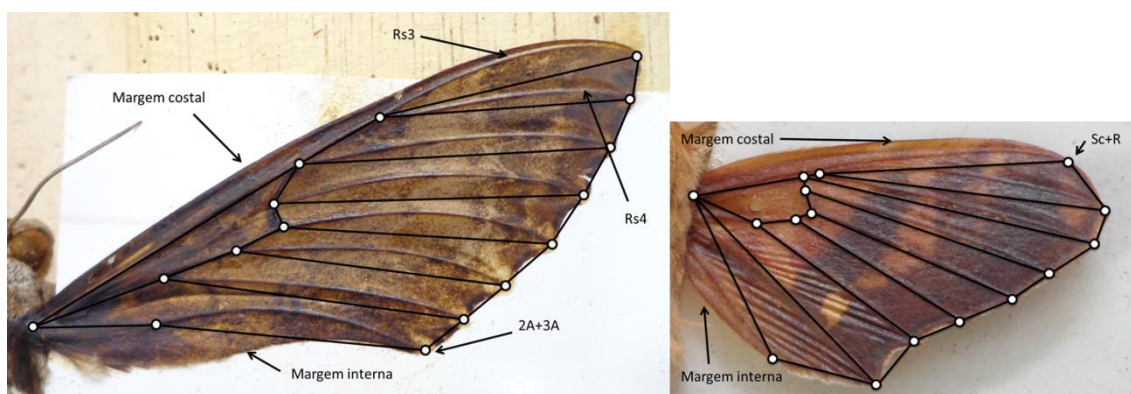


Figura 1-Face dorsal da asa anterior e ventral da asa posterior de um Sphingidae com os 16 marcos anatômicos selecionados, unidos por linhas que delimitam as regiões amostradas. As veias e regiões das asas seguem a nomenclatura utilizada por Moré *et al.* (2005). Foto Willian Camargo.

Para obtenção das variáveis que descrevem o formato das asas (deformações parciais e componentes uniformes) foi utilizado o programa TPSRELW v.1.18 (Rholff 1999b). Este método envolve a sobreposição, centralização e minimização das distâncias euclidianas entre os marcos anatômicos como forma de comparar os formatos das estruturas (Bookstein 1991), dessa forma, toda informação relacionada à posição e orientação dos pontos é eliminada.

O mesmo programa fornece um estimador isométrico multivariado do tamanho das asas denominado “tamanho do centroide” (TC). Esse estimador isométrico é definido como a raiz quadrada da soma dos quadrados das distâncias de cada um dos marcos anatômicos ao centro de massa de cada configuração (Bookstein 1991). O

tamanho é padronizado equalizando-se o TC. A variável resultante é utilizada como uma única medida que responde pela natureza multivariada do tamanho em todas as análises posteriores. Este procedimento remove apenas os efeitos isométricos do tamanho do corpo. Portanto as configurações mantem tanto as variações de forma não relacionadas ao tamanho quanto aquelas alométricas.

2.2 Análises estatísticas

2.2.1. Alometria

Para verificar os efeitos alométricos no formato das asas, foram feitas análises de regressão simples (Estatística 7), entre os componentes principais (variáveis dependentes) e o tamanho do centroide (variáveis independentes) e entre as variáveis canônicas (variáveis dependentes) e o tamanho do centroide (variáveis independentes).

2.2.2. Sinal filogenético

Para testar os efeitos filogenéticos, foi necessário gerar uma topologia filogenética no programa Mega 5 (Tamura *et al.* 2011) com base em sequencias de citocromo oxidase, subunidade 1 de 658 pares de bases das espécies analisadas, acessadas a partir do GeneBank®. Foram utilizados os parâmetros “Kamura 2”, de máxima parcimônia, com Booststrap de 10.000 repetições. A árvore gerada foi enraizada utilizando-se *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae) como grupo externo. Posteriormente, foi feito um teste de sinal filogenético para determinar o valor da estatística K (Blomberg *et al.* 2003) por meio do programa R (R Development Core Team, 2011), carregado com o pacote *picante* (Kembel *et al.* 2010), utilizando-se a função *multiPhylosignal*. Como sinal filogenético foi utilizado a média das VCs para cada espécie. Essa análise compara o sinal observado de traços evolutivos em uma filogenia sob o modelo de movimento Browniano. Obtém-se a significância de K pela comparação entre um modelo nulo em uma topologia filogenética e os padrões de variância de contrastes independentes observados em um caráter. Valores de K maiores que 1 indicam maior similaridade entre espécies próximas do que o esperado sob o movimento evolutivo Browniano (Blomberg *et al.* 2003).

2.2.3. Formato das asas

A variação total no formato das asas foi acessada a partir de uma Análise de Componentes Principais (PCA) das deformações parciais, em que as novas variáveis obtidas, componentes principais (CPs), são obtidas pela combinação e redução do conjunto de variáveis originais.

Apesar da análise de PCA mostrar a variação total no formato das asas e ordenar os dados, ela não é adequada para separação de grupos. Para este objetivo, as variáveis de formato das asas (deformações parciais) foram submetidas às análises discriminantes (AD), dos espécimes agrupados por subfamília, tribo, gênero e espécie, tanto das asas anteriores quanto das posteriores separadamente. A partir da análise discriminante foi feita uma análise canônica, cujas variáveis canônicas (VCs) resultantes resumem o conjunto de variáveis original. Na análise discriminante a estatística Wilks' Lambda indica a capacidade da AD de separar os grupos indicados: quanto mais próximo for o resultado de zero, maior a diferença entre os grupos. Foram feitas regressões simples, utilizando-se as variáveis de forma (variáveis dependentes) e as novas variáveis combinadas e reduzidas (VCs) geradas a partir da AD (variáveis independentes), utilizando o programa TPSREGR v. 1.31, para avaliar a variação morfológica das asas dos espécimes de acordo com os agrupamentos utilizados (Rohlf 2005).

Como as análises com inclusão e retirada das fêmeas não alteraram os valores estatísticos, neste capítulo machos e fêmeas foram analisados em conjunto.

3. Resultados

3.1. Variação total do formato das asas

Os resultados das PCAs para as asas mostraram que somente os dois primeiros componentes responderam por 27,27% (Figura 2, asa anterior) e 34% (Figura 3, asa posterior) da variação total. A correlação dos CPs com o tamanho das asas foi baixo, indicando que a alometria não representa um fator importante na variação total da forma (Tabela 1).

Em ambos os casos, observa-se que a ordenação nos eixos está mais relacionada com a proximidade filogenética. Quando os espécimes foram rotulados por tribo, pôde-se perceber agrupamentos neste nível taxômico. A PCA das variáveis de forma

resultou em centróides bem separados (Inserção nas Figuras 2 e 3). Para a a asa anterior as tribos da subfamília Macroglossinae ficaram agrupadas nos quadrantes formados pelo eixo negativo da PC1, as tribos de Sphinginae agrupadas no quadrante positivo da PC1 e PC2 e Smerinthinae posicionado no PC1 positivo e PC2 negativo (Figura 2). A asa posterior apresentou apenas uma diferença, com Philamplelini (Macroglossinae) ocupando o mesmo quadrante de Ambulycini (Smerinthinae) (Figura 3).

Tabela 1 – Correlação entre o tamanho do centroide e os componentes principais (CPs) e variáveis canônicas (VCs), indicando o efeito alométrico na variação do formato das asas, anterior e posterior, de Sphingidae nos diferentes níveis taxonômicos.

Variável	r	r ²	p
PC1 asa anterior	0,26	0,07	<0,001
PC2 asa anterior	0,19	0,03	<0,001
PC1 asa posterior	0,43	0,18	<0,001
PC2 asa posterior	0,08	0,06	<0,001
VC1 asa anterior subfamília	0,34	0,12	<0,001
VC2 asa anterior subfamília	0,23	0,05	<0,001
VC1 asa posterior subfamília	0,31	0,09	<0,001
VC2 asa posterior subfamília	0,10	0,01	<0,001
VC1 asa anterior tribo	0,37	0,14	<0,001
VC2 asa anterior tribo	0,22	0,05	<0,001
VC1 asa posterior tribo	0,32	0,11	<0,001
VC2 asa posterior tribo	0,20	0,04	<0,001
VC1 asa anterior gênero	0,37	0,13	<0,001
VC2 asa anterior gênero	0,11	0,01	<0,001
VC1 asa posterior gênero	0,34	0,12	<0,001
VC2 asa posterior gênero	0,16	0,02	<0,001

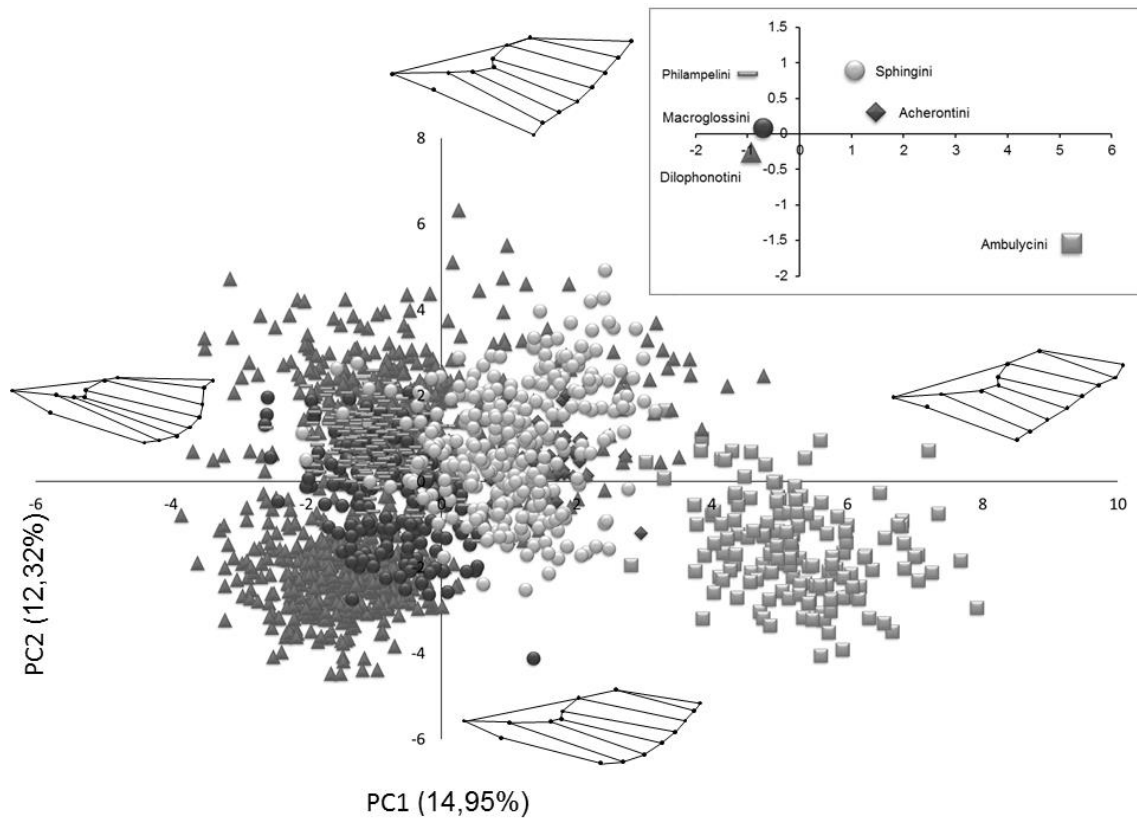


Figura 2 - Análise de componentes principais (PCA) das variáveis de forma da asa anterior de Sphingidae legendadas por tribo, com porcentagem da variação explicada pelos dois primeiros componentes principais (CPs). A deformação observada ao longo dos eixos pode ser vista nas extremidades de cada um. Em detalhe, o mesmo *scatterplot* mostrando apenas os centroides de cada tribo. Explicação total do modelo de 27,27%.

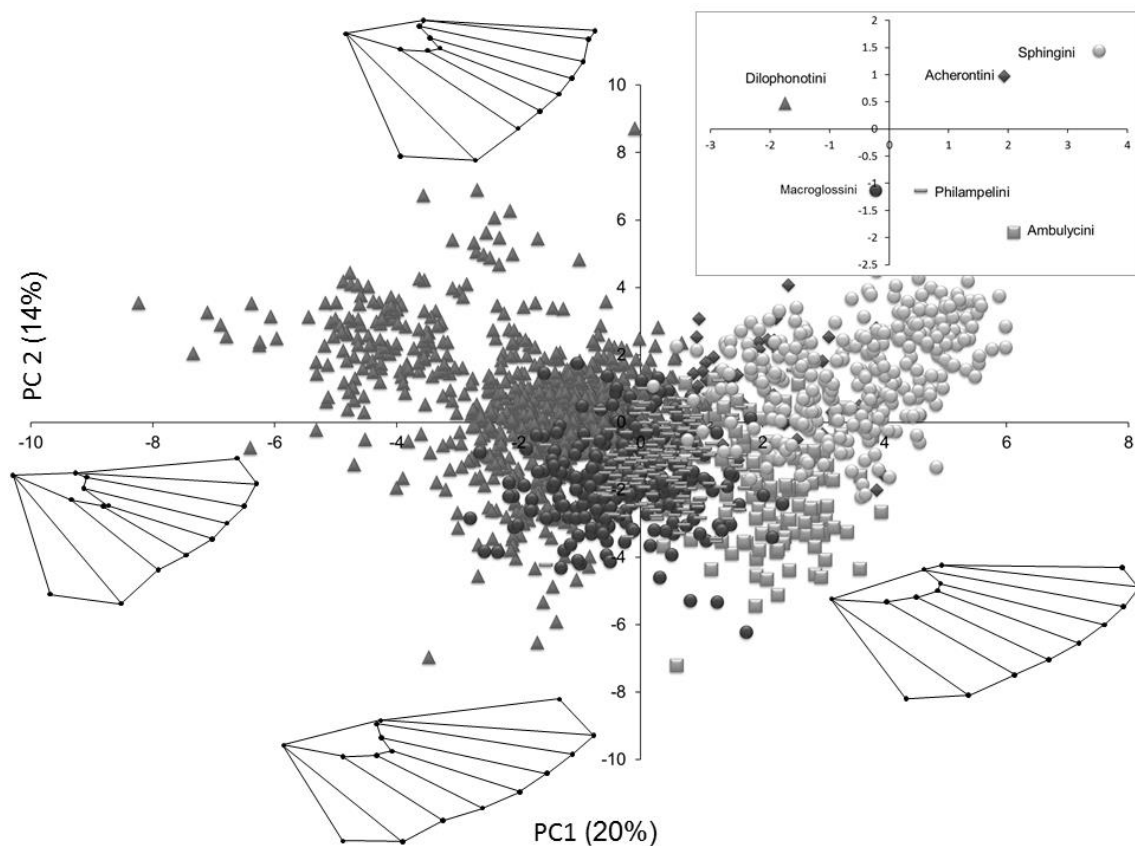


Figura 3 - Análise de componentes principais (PCA) das variáveis de forma da asa posterior de Sphingidae legendadas por tribo, com porcentagem da variação explicada pelos dois primeiros componentes principais (CPs). A deformação observada ao longo dos eixos pode ser observada nas extremidades dos eixos. Explicação total do modelo de 34%. No gráfico principal vê-se a distribuição de todos os indivíduos analisados. Na inserção vê-se o centroide de cada tribo.

3.2. Discriminação dos grupos

A análise discriminante (AD) das variáveis da forma (deformações parciais), ao agrupar os espécimes por subfamília, gerou apenas duas variáveis canônicas (VCs), tanto para asa anterior quanto para a posterior, explicando 100% da variação da forma, nos dois casos, e fornecendo uma excelente discriminação entre as subfamílias (Figuras 4, 5). É possível notar um padrão similar ao encontrado na PCA na distribuição das subfamílias nos quadrantes, com três grupamentos bem distintos, separando as três subfamílias perfeitamente.

Quando os espécimes foram agrupados por tribos na AD, as duas primeiras VCs explicaram 81% da variação da forma para asa anterior e 84% para asa posterior (Figuras 6, 7). Ambas apresentaram uma boa discriminação entre as tribos. Novamente o mesmo padrão da PCA fica visível e, ainda, mais evidente quando analisamos apenas o centroide de cada tribo. Para a asa anterior a ordenação dos espécimes é quase idêntica à da PCA. Para a asa posterior, os *Macroglossini* (*Macroglossinae*) são ordenados deslocados para a direita no eixo PC1, em comparação com sua posição na PCA.

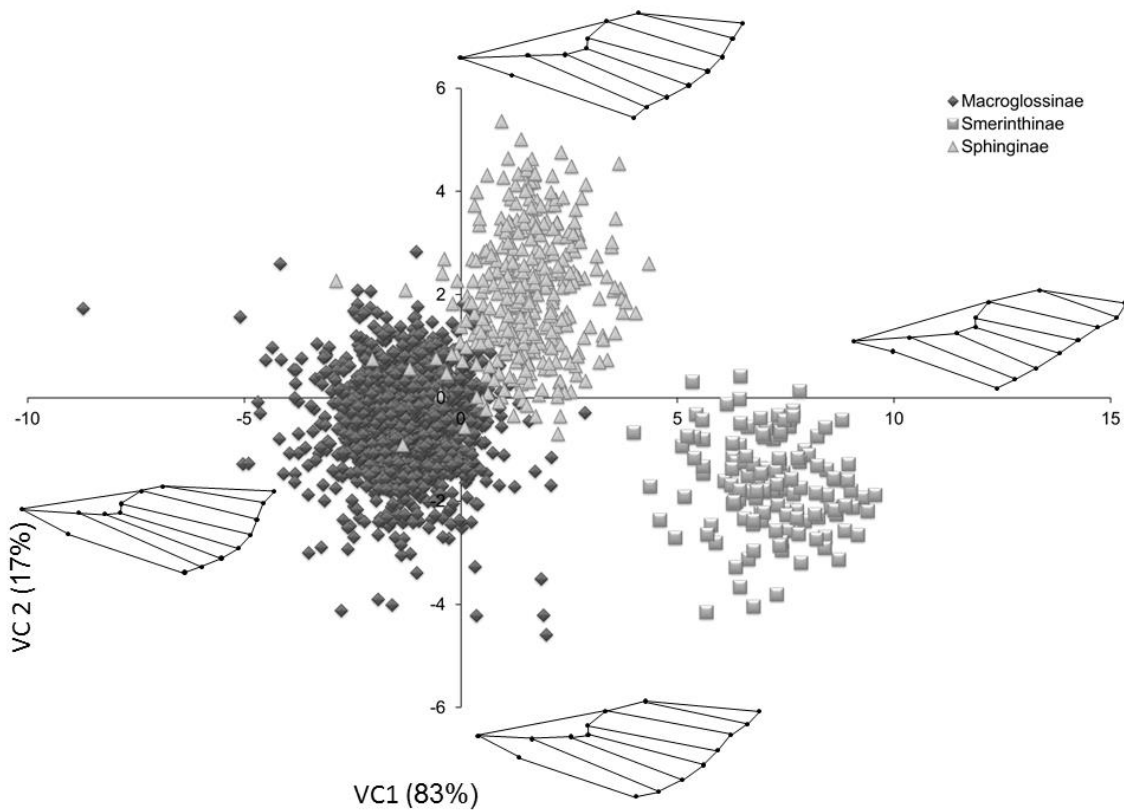


Figura 4 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa anterior de Sphingidae agrupadas por subfamília, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). A tendência de formato das asas pode observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda= 0,068; $F_{56,3522} = 177,5195$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 100%.

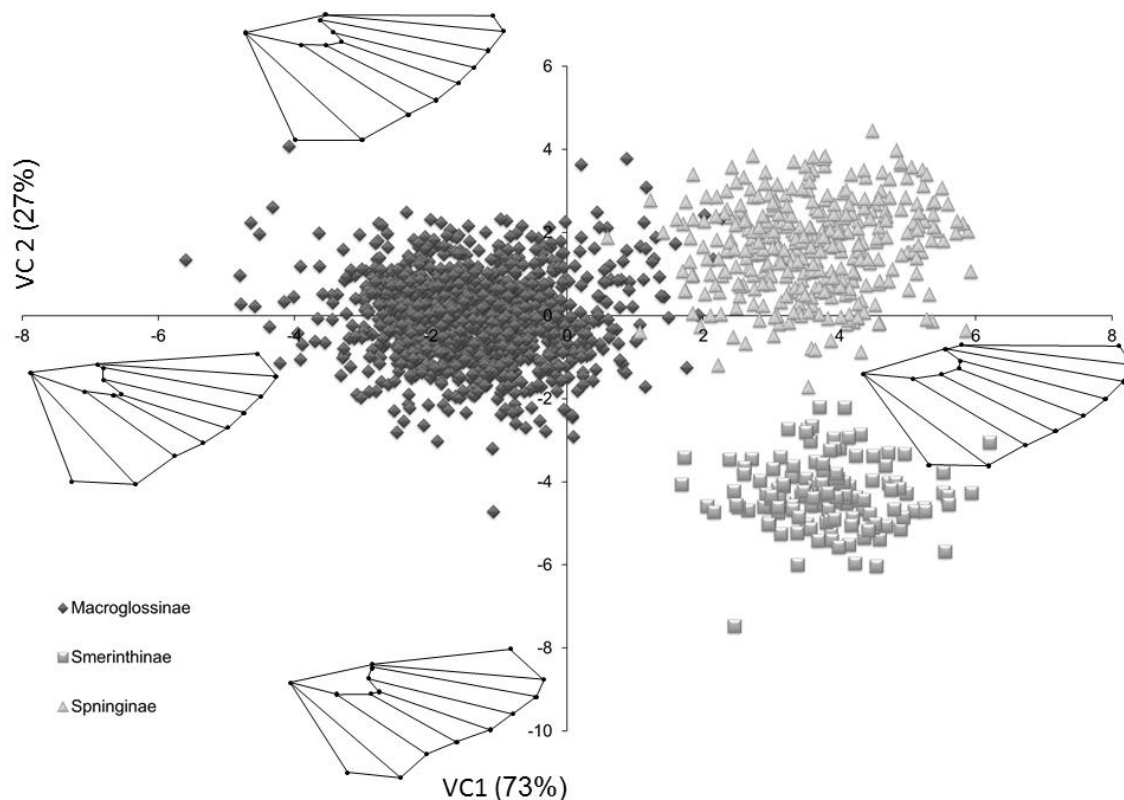


Figura 5 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa posterior de Sphingidae agrupados por subfamília, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). A tendência de formato das asas pode observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda= 0,056; $F_{56,3438} = 197,3678$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 100%.

Na análise discriminante dos espécimes agrupados por gênero, as duas primeiras VCs explicaram 53% da variação no formato da asa anterior e 62% da variação no formato da asa posterior (Figuras 8, 9). A ordenação dos gêneros nos eixos das CPs continuou refletindo bem as proximidades filogenéticas, mesmo nesse nível taxonômico mais exclusivo, principalmente na asa posterior. Podem-se observar gêneros filogeneticamente próximos agrupados na ordenação dos eixos.

A análise discriminante com os espécimes agrupados por espécie apresentou resultados significativos, Wilks' Lambda < 0,001; $F_{153,35525} = 36.40300$; $p < 0,0001$, tanto para asa anterior quanto para a posterior. As duas primeiras VCs explicaram 50% da variação da forma na asa anterior e 52% na posterior. Entretanto, a ordenação das VCs em dois eixos seria pouco informativa devido ao número de pontos e o resultado muito similar ao da ordenação dos gêneros.

3.3. Alometria

O resultado da regressão entre o tamanho do centroide (TC) e as variáveis de forma indica que os efeitos alométricos têm pouco a ver com a variação da forma das asas deste grupo, independente do nível taxonômico analisado (Tabela 1). Todas as VCs apresentaram correlação com o tamanho das asas, mas a explicação desse efeito ao longo dos eixos no formato das asas é sempre baixa chegando, no máximo, a 14% na VC1 na AD das asas anteriores no agrupamento por tribo.

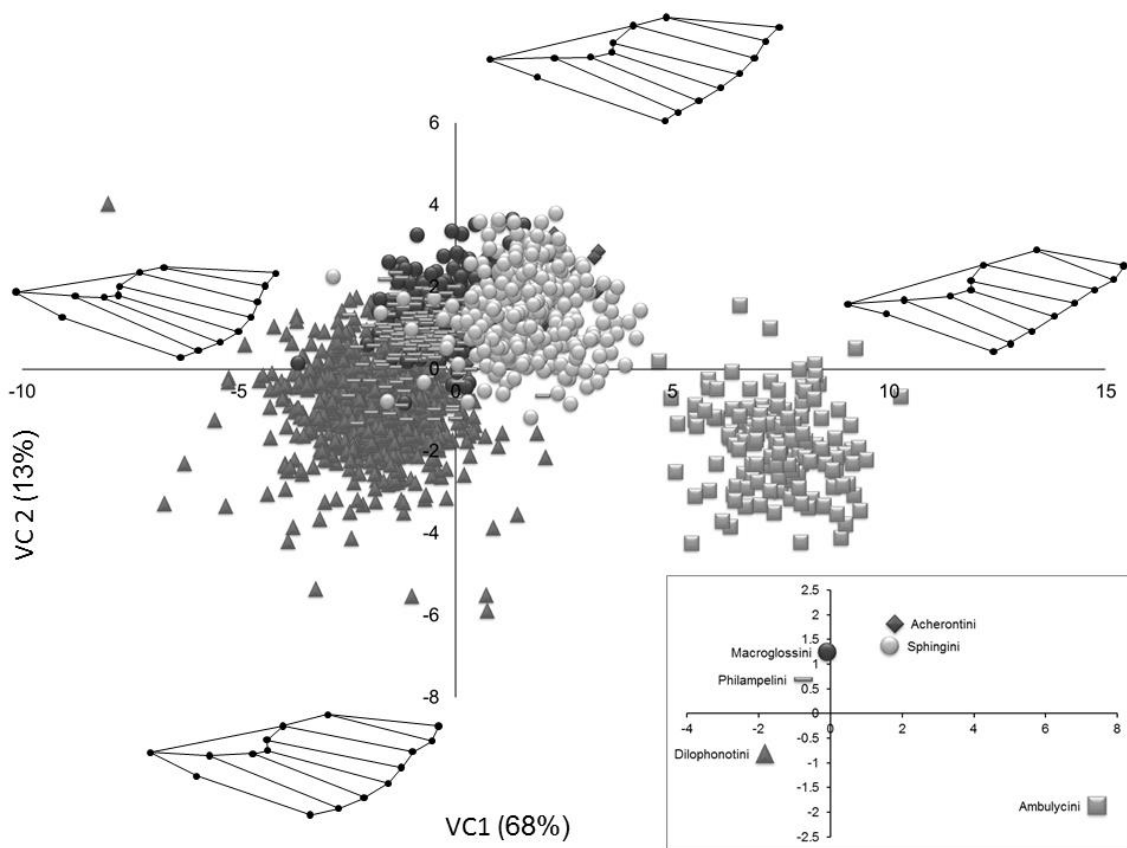


Figura 6 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa anterior de Sphingidae agrupados por tribos, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). A tendência de formato das asas pode ser observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda=0,015; $F_{140,8684}= 82,82217$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 81%. No gráfico principal vê-se a distribuição original com todos os indivíduos de cada tribo. Na inserção vê-se o centroide de cada tribo.

3.4. Sinal filogenético

O teste de sinal filogenético foi feito utilizando-se as VCs da AD com os espécimes agrupados por espécie, e corrobora a observação de que o formato da asa está altamente relacionado com ancestralidade e proximidade filogenética, tanto na asa anterior ($K_{VC1}=1,7$; $P<0,0001$; $K_{VC2}=0,8$; $P<0,0001$) quanto na asa posterior ($K_{VC1}=3,1$; $P<0,0001$; $K_{VC2}=1,3$; $P<0,0001$). Há maior similaridade no formato das asas de espécies filogeneticamente próximas do que o esperado sob o movimento evolutivo Browniano (Blomberg *et al.* 2003). A topologia filogenética gerada a partir dos dados do Genebank com a qual as VCs foram comparadas pode ser vista na Figura 10.

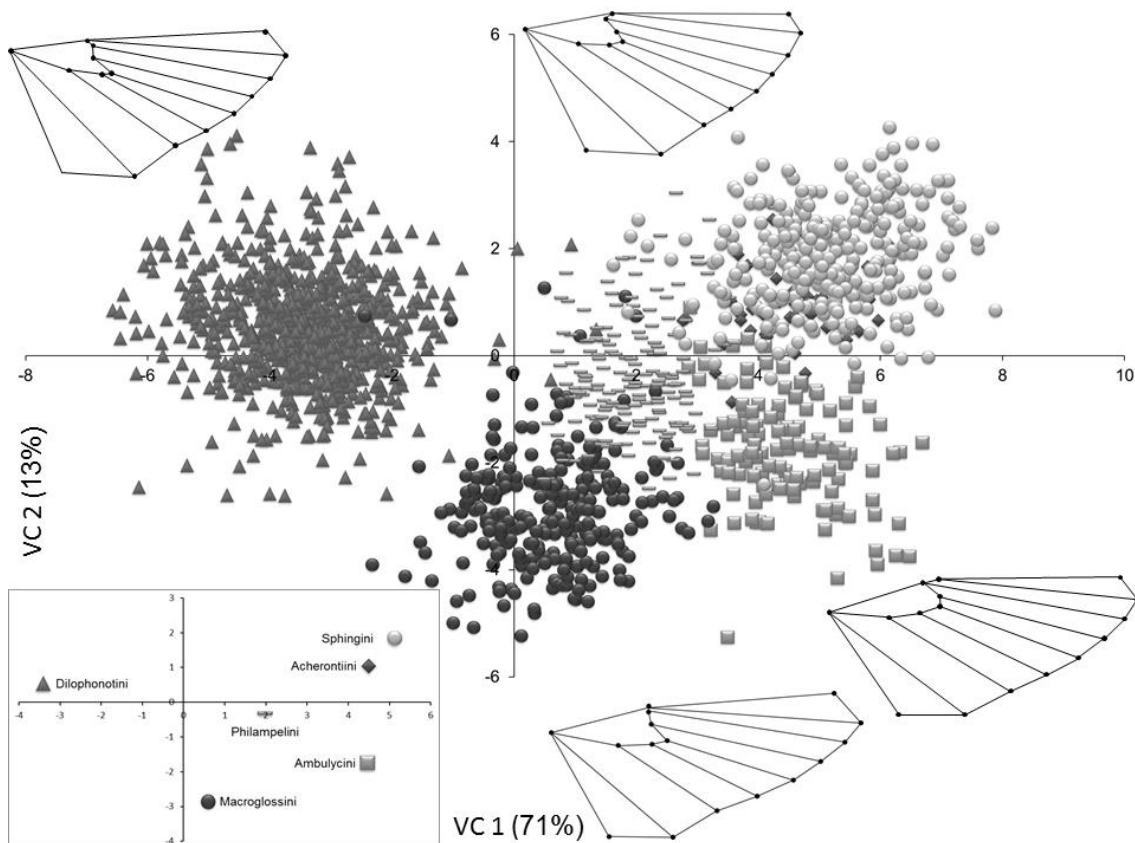


Figura 7 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa posterior de Sphingidae agrupadas por tribos, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). A tendência de formato das asas pode observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda= 0,004; $F_{140,8476}= 129,1532$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 84%. No gráfico principal vê-se a distribuição original com todos os indivíduos de cada tribo. Na inserção vê-se o centroide de cada tribo.

3.5. Formato das asas

A ordenação das espécies aponta para morfologias muito diferentes nas extremidades dos eixos. Na PCA da asa anterior, vê-se no eixo da PC1 que o formato varia entre uma asa triangular e de ângulos retos na porção positiva, para uma asa fina, de extremidade abaulada, apenas com uma ponta triangular, na porção negativa. A variação no eixo da PC2 descreve, na porção positiva, uma asa larga, curta e triangular, com ângulos retos. Na porção negativa do eixo vê-se uma asa fina, comprida e de extremidade abaulada.

Esses resultados são corroborados nas ADs ao longo dos grupamentos taxonômicos, dos mais inclusivos aos mais exclusivos. No eixo positivo da VC1 vê-se consistentemente uma asa de ângulos retos, triangular e larga, com uma ponta proeminente. No eixo negativo da PC1 vê-se uma asa mais comprida e fina, de extremidade abaulada e com ponta triangular. Na PC2, vê-se no eixo positivo uma asa mais comprida, fina e abaulada na extremidade, enquanto o eixo negativo representa uma asa larga e curta, recortada e de ângulos mais retos. A asa recortada no eixo negativo da PC2 fica mais evidente na AD dos grupamentos por gêneros.

No resultado da PCA das variáveis de forma da asa posterior também é possível observar uma ordenação que aponta para uma grande variação no formato nas extremidades dos eixos. No eixo positivo da PC1 a asa posterior é comprida e com um ângulo anal obtuso na margem interna e com a extremidade triangular, enquanto a asa no eixo negativo é mais curta e com um ângulo anal menos obtuso e extremidade arredondada. A asa no eixo positivo da PC2 é curta e larga, com um ângulo anal mais obtuso na margem interna e formato geral mais arredondado. No eixo negativo a asa é mais comprida, mais fina e com um ângulo anal menos obtuso na margem interna, que resulta em uma asa mais pontuda e de extremidade triangular.

Nas ADs fica evidente que o eixo positivo da VC1 representa uma asa comprida e com um ângulo anal mais obtuso na margem interna. No eixo negativo a asa é curta e com um ângulo anal menos obtuso. Um efeito similar pode ser observado na VC2. No eixo positivo o ângulo anal mais obtuso deixa a asa mais comprida e com a ponta mais triangular. No eixo negativo esse ângulo menos obtuso deixa a asa mais estreita e curta e ao mesmo tempo essa asa apresenta uma extremidade mais arredondada.

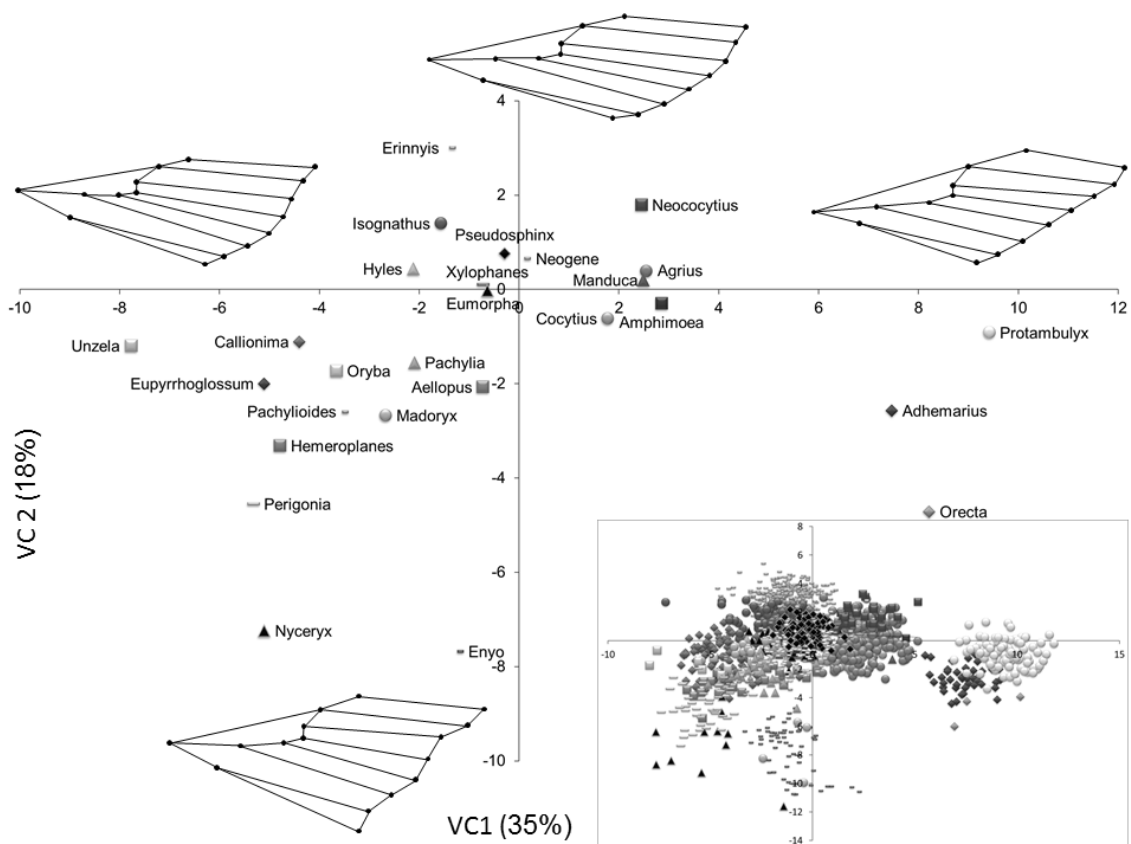


Figura 8 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa anterior de Sphingidae agrupadas por gênero, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). Na dispersão principal vê-se o centroide de cada gênero. A tendência de formato das asas pode observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda=0,0000026; $F_{728,33026}=43,54968$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 53%. Na inserção vê-se a distribuição completa com todos os indivíduos analisados.

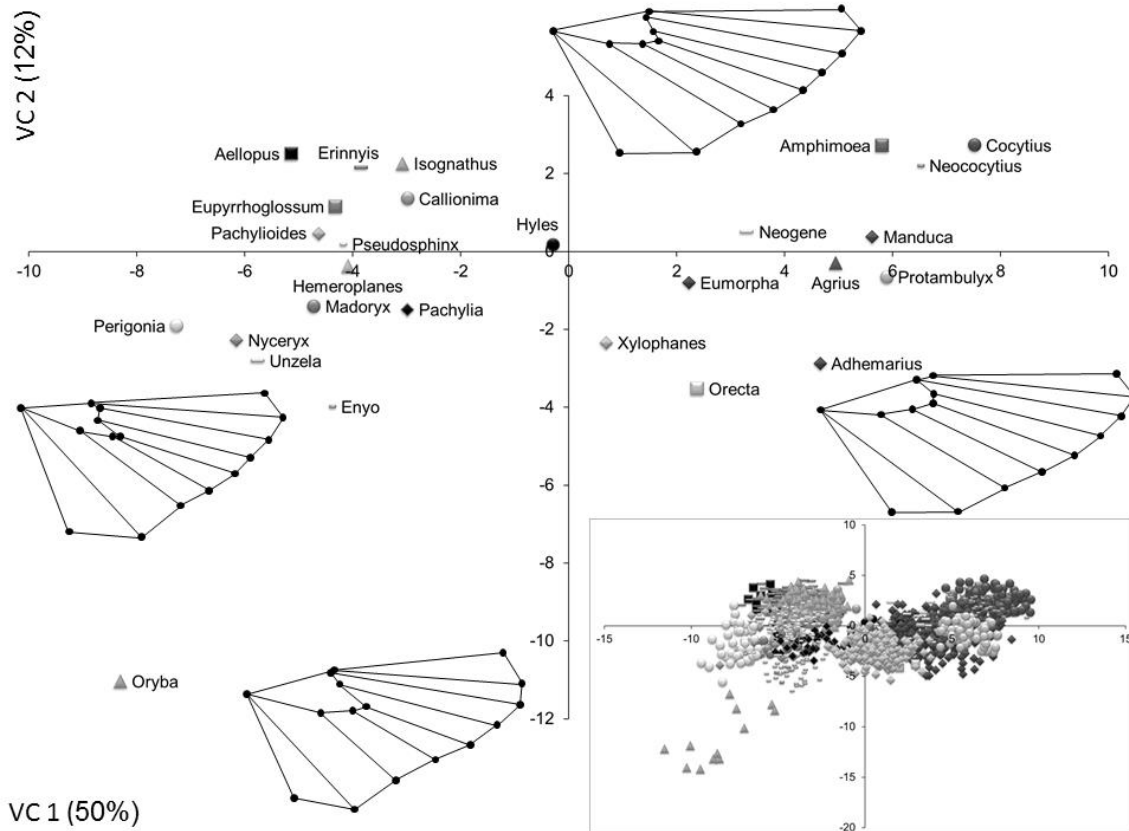


Figura 9 - Análise discriminante (AD) das variáveis de forma da asa posterior de Sphingidae agrupados por gênero, com porcentagem da variação explicada pelas duas primeiras variáveis canônicas (VCs). Na dispersão principal vê-se o centroide de cada gênero. A tendência de formato das asas pode observada nas extremidades de cada eixo. Wilks' Lambda=0,00, $F_{756,33088} = 42,88289$; $p < 0,0001$. Explicação cumulativa do modelo de 62%. Na inserção vê-se a distribuição completa com todos os indivíduos analisados.

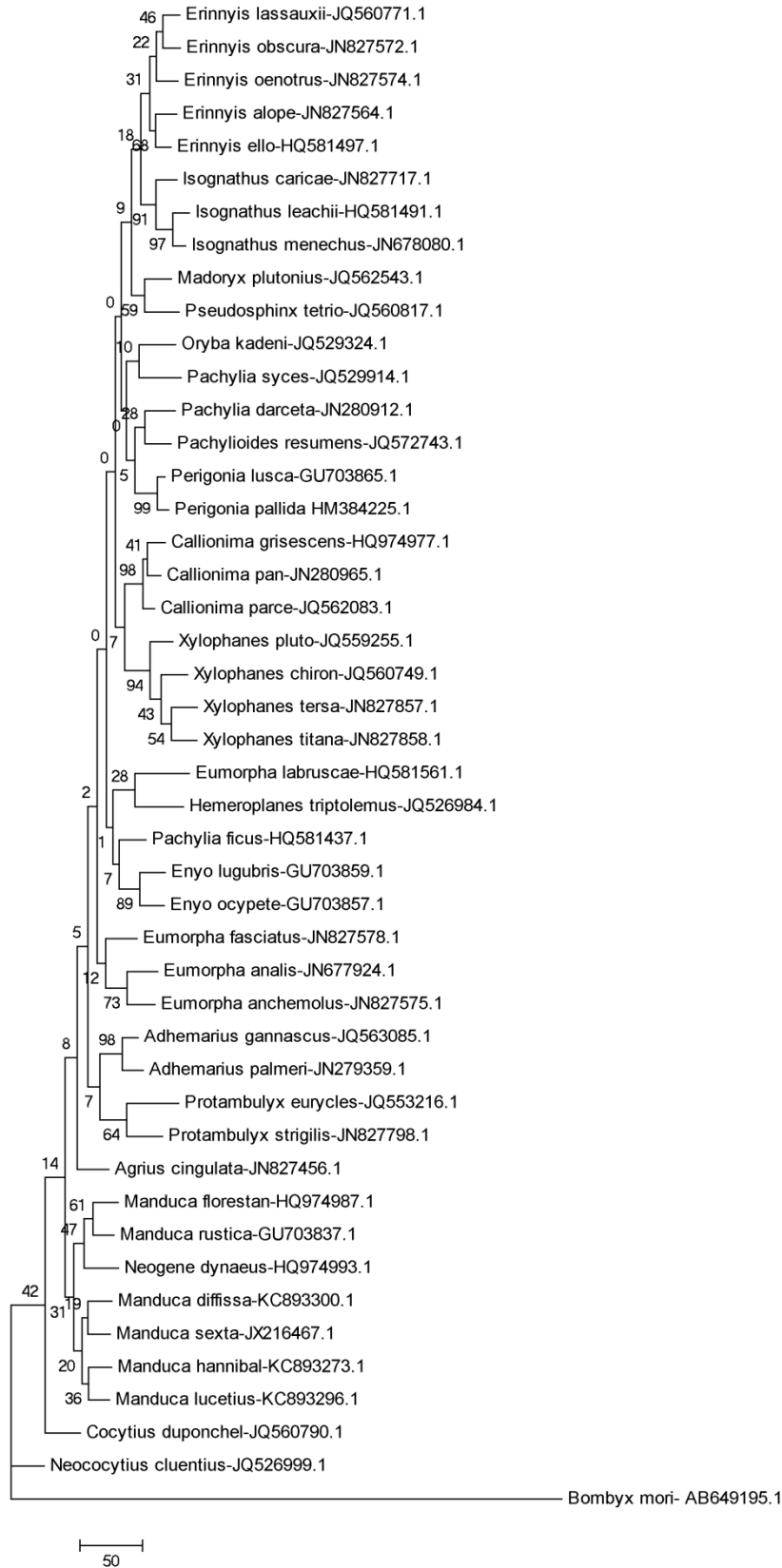


Figura 10 - Topologia filogenética de Sphingidae gerada a partir da sequência de 658 pares de bases da Citocromo oxidase. Ao lado de cada espécie é citado o código de acesso no GeneBank.

4. Discussão

É importante avaliar os efeitos alométricos em estudos de padrões de variação morfológica, porque a alometria é um fenômeno biológico quase que universal, tanto no desenvolvimento ontogenético quanto no dimensionamento evolutivo entre organismos filogeneticamente próximos. Torna-se improdutivo avaliar diferenças discretas adaptativas, até que se tenha considerado os efeitos de tamanho na variação (Gould 1984). O efeito alométrico pode ser utilizado como um critério objetivo para determinar se a variação observada no formato de uma estrutura é uma correlação de traços na variação de tamanhos imposta pelo desenvolvimento, ou se representa um grupo de adaptações evolutivas (Strauss 1985). Portanto, métodos que não levam em consideração os efeitos alométricos podem induzir interpretações erradas quanto às causas e consequências na variação morfológica entre grupos de organismos (Senar *et al.* 1994).

Quantificar estes efeitos pode ser particularmente crítico quando diferenças no formato estão sendo utilizados para diagnosticar grupos taxonômicos. Os resultados deste estudo sugerem que a família Sphingidae é uma exceção nos que diz respeito aos padrões de variação morfológica. Os efeitos alométricos são muito baixos quando comparados com outros grupos de organismos, no máximo 14% na VC1 da AD da asa posterior entre tribos. Em outras famílias de Lepidoptera como Nymphalidae, os efeitos alométricos chegam a responder por até 90% da variação na morfologia das asas entre subfamílias (Strauss 1990).

No caso de Sphingidae os efeitos alométricos muito baixos podem ser explicados pelas restrições funcionais no formato das asas, impostas pela forma de vida da família. O voo pairado nos esfingídeos tem um custo energético de 393 W kg^{-1} , bastante alto e maior do que o determinado para beija-flores, de 261 W kg^{-1} , e morcegos, 159 W kg^{-1} (Voigt & Winter 1999). Pressões ligadas ao alto custo energético do voo pairado levaram ao formato de asa característico muito cedo na evolução da família.

A proximidade filogenética mostrou-se como o fator mais importante no padrão de variação no formato das asas de Sphingidae, como evidenciado pelos valores altos de K, indicando que a variação possui restrições filogenéticas. A formação de grupamentos na ordenação da PCA que se assemelham às classificações das tribos também sugere

que o formato das asas dentro da família é primitivo, não convergente, e que a variação encontrada entre grupos é fruto da plasticidade que foge das restrições mecânicas impostas pela forma de vida dos Sphingidae. Isso sugere um padrão de formato de asa ancestral, mais relacionado com características herdadas em cada grupamento, e uma divergência posterior que precisa ainda ser investigada.

A variação encontrada resulta em dois esfingídeos filogeneticamente próximos sendo morfologicamente mais parecidos entre si, independentemente das diferenças de tamanho entre eles, do que dois esfingídeos de tamanho semelhante, mas filogeneticamente distantes. Isso significa que a asa de uma espécie do gênero *Neogene* (até 33 mm de comprimento de asa anterior) tem um formato muito mais próximo daquele encontrado em uma espécie de *Manduca* (até 82 mm de asa anterior) do que com a de uma espécie de *Nyceryx* (34 mm de asa anterior), por exemplo. Este padrão é oposto ao encontrado em outras famílias de Lepidoptera, em que há uma convergência de formato da asa resultante do efeito alométrico, como por exemplo, Tortricidae (Miller & Pogue 1984) ou Nymphalidae (Strauss 1990). Tal padrão pode ter implicações taxonômicas, especialmente quando diferenças de tamanho e semelhanças morfológicas são utilizadas para identificação de espécies (Strauss 1985).

As relações filogenéticas dos Sphingidae nem sempre foram bem resolvidas. Até a publicação de “Hawkmoths of the world” (Kitching & Cadiou 2000) Smerinthinae não era considerada subfamília por alguns autores, sendo agrupada dentro de Sphinginae (ver D’Abrera 1986). Os resultados deste estudo sugerem que a separação de Smerinthinae como subfamília foi acertada, sendo este o grupo que mais se destaca na ordenação dos eixos nas ADs. Ainda mais, parece não haver problemas na separação das tribos dentro de Sphinginae e Macroglossinae, pelo menos no que diz respeito às espécies analisadas aqui.

Apesar das restrições funcionais, a variação encontrada foi significativa em todos os níveis taxonômicos analisados. A forma como os indivíduos dessa família utilizam o voo torna importante que o formato das asas seja consistentemente triangular, embora variável, e com a carga alar (*wingloading*) menor na extremidade da asa anterior e na região mediana na asa posterior.

A semelhança na ordenação dos grupos taxonômicos e na formação de grupamentos, entre a asa anterior e posterior, em todos os níveis taxonômicos, tanto na PCA quanto nas ADs, sugere uma correlação entre elas. O que pode ser observado, nas ADs em que os grupamentos utilizados são as espécies, é que a maior variação encontrada nas VCs1 indica que o formato de asa mais reto e triangular na asa anterior acompanha uma asa mais estreita e comprida na asa posterior.

Resultados similares foram encontrados em aves (Senar *et al.* 1994; Mönkkönen 1995; Lockwood *et al.* 1998) em que asas mais retas e pontudas foram associadas com maior poder de deslocamento e migração enquanto asas mais curtas mostraram relação com comportamento mais estacionário.

O formato mais reto e triangular da asa anterior, associado a uma asa mais estreita e comprida, foi encontrado em espécies pertencentes a gêneros como *Adhemarius* Oiticica Filho, 1939, *Orecta* Rothschild & Jordan, 1903 e *Protambulyx* Rothschild & Jordan, 1903. O voo de espécies destes gêneros, normalmente, são descritos como pouco habilidosos,, de baixa velocidade e capacidade de manobra, indicando obviamente menor habilidade em alcançar voos rápidos em ambientes espacialmente complexos, cheios de obstáculos, como o interior de matas (Freeman 1981; Marinello & Bernard 2014; Voigt & Holderied 2012). *Protambulyx* normalmente está associado a ambientes mais abertos e *Orecta* é mais frequentemente encontrado em matas, *Adhemarius* normalmente pode ser encontrado associado a ambientes intermediários (Amorim, F. comunicação pessoal). Essa tendência fica aparente também na ordenação dos pontos na AD dos espécimes ordenados por gênero, principalmente no eixo VC2.

Por outro lado, gêneros pertencentes à tribo Dilophonotini como *Unzela* Walker, 1856, *Perigonia* Herrich-Schäffer, [1854] e *Nyceryx* Boisduval, [1875], por exemplo, possuem asas anteriores mais abauladas associadas a asas posteriores curtas e largas, com extremidades abauladas, que predizem maior manobrabilidade, mas são energeticamente menos eficiente em voos de longa distancia. Estes são formatos mais adaptados aos comportamentos de forrageamento em áreas mais complexas de mata, mas são menos eficientes em áreas abertas (Norberg & Fenton, 1988). Entretanto Dilophonotini foi a tribo que apresentou maior variação nas VCs e, portanto, no formato

das asas, o que indica que a tribo apresenta grande variação de uso de habitat entre os gêneros.

Valores intermediários na ordenação dos pontos, principalmente nas VCs1, indicam maior plasticidade no uso do habitat e deslocamento. Espécies dos gêneros, *Pseudosphinx* Burmeister, 1855, *Manduca* Hübner, [1807], *Cocytius* Hübner, [1819] e *Agrius* Hübner, [1819] são conhecidos pela sua capacidade de deslocamentos longos e rápidos, mas também são capazes de boa manobrabilidade na exploração de ambientes complexos. Sphingini e Acherontini são identificados como os melhores voadores na família Sphingidae. Possivelmente gêneros pertencentes a estas tribos ocorrem em matas fechadas e complexas, mas também são capazes de voos migratórios.

A variação no eixo da PC2 das VCs2, apesar de menor, apresenta um padrão semelhante. No eixo positivo observam-se asas anteriores de extremidade abaulada enquanto as asas no eixo negativo são mais retas e pontudas e, nos gêneros como *Nyceryx* e *Enyo* Hübner, [1819], a extremidade é recortada, o que indica um equilíbrio do custo benefício entre manobrabilidade e velocidade. A principal diferença entre as asas posteriores nas VCs2 é observada na ponta da asa, mais larga no eixo negativo e mais aguda no eixo positivo.

Muitos estudos foram capazes de identificar que o uso de habitat das espécies responde razoavelmente bem às predições baseadas no formato de asas em aves e morcegos (Norberg & Fenton 1988; Norberg 2002; Marinello & Bernard 2014). Em morcegos, por exemplo, as espécies que se alimentam de frutos ou néctar em ambientes complexos apresentam asas que se assemelham às asas de Dilophonotini, enquanto espécies capazes de maior deslocamento e que se alimentam de insetos voando em grandes velocidades possuem asas de formatos parecidos com os encontrados em Smerinthinae (Marinello & Bernard 2014).

Entretanto, especificamente para a família Sphingidae, outros fatores podem responder pela ocupação e uso de habitats. Sabe-se que as espécies da tribo Ambulycini são os voadores menos potentes do grupo, com menor capacidade de deslocamento. Portanto, apesar da tribo apresentar baixa capacidade de manobra, essas espécies não são capazes de voos rápidos ou de longas distâncias (Amorim, F. comunicação pessoal). Por outro lado, em Dilophonotini estão espécies conhecidas por sua agilidade e

velocidade e os gêneros *Nyceryx* e *Perigonia* parecem ser capazes de voos muito rápidos, ao mesmo tempo em que podem mudar a direção desse voo com facilidade.

As diferenças encontradas nas asas anteriores (Figura 6) entre Dilophonotini, o grupo formado por Philampelini e Macroglossini e o grupo formado por Acherontini e Sphingini, pode representar um custo-benefício entre capacidade de manobra e capacidade de voar grandes distâncias. Neste caso, os Acherontini apresentam o formato de asa ideal para deslocamentos de longa distância como voo migratório. Essa comparação continua válida nos grupamentos da asa posterior (Figura 7), ainda que haja um deslocamento de Philampelini e Macroglossini devido à asa posterior apresentar-se mais estreita e comprida.

Sabe-se, que muitas espécies de Sphingidae migram em menor ou maior grau, mas nenhum estudo foi capaz de quantificar a capacidade de migração de espécies ou mesmo determinar se algumas dessas espécies sequer realizam tal deslocamento.

A armadilha tradicionalmente utilizada para captura de lepidópteros noturnos consiste basicamente em uma lâmpada, de potência variada, ligada a frente de um pano branco. Os insetos são atraídos pela luz, pousam no pano e são capturados. Este método nem sequer é padronizado, alguns pesquisadores usam lâmpadas mistas de 250W, outros lâmpadas de luz negra menos potentes e menos visíveis. A consequência disso é que não se sabe de onde estes insetos foram atraídos. Eles podem ter vindo de quilômetros de distância ou de uma mata próxima.

O resultado desse trabalho sugere que entre os esfingídeos existem diferenças na maneira que utilizam o ambiente que, provavelmente, estão associadas às restrições filogenéticas. A tribo Dilophonotini, por exemplo, apresenta asas mais adaptadas ao deslocamento em ambientes complexos, o que sugere que a principal forma de dispersão das espécies dessa tribo se dá por matas de galeria ou florestas ombrófilas na Mata Atlântica. A tribo Ambulycini, por outro lado, encontra-se mais adaptada ao forrageamento em ambientes abertos. Entretanto, ainda são necessários estudos específicos para elucidar a capacidade de deslocamento e uso de habitat em Sphingidae. Quais espécies são migratórias e quais permanecem no ambiente mesmo nas estações mais desfavoráveis? Quais espécies são mais adaptadas aos ambientes fechados como as matas e quais ocorrem somente em ambientes mais abertos?

5. Referências

- Amorim, F.W., Ávila, R.S., Camargo, A.J.A., Vieira, A.L. & Oliveira, P.E. 2009. A hawkmoth crossroads? Species richness, seasonality and biogeographical affinities of Sphingidae in a Brazilian Cerrado. *Journal of Biogeography*, 36: 662–74.
- Bai, M., McCullough, E., Song, K.Q., Liu W.G. & Yang X.K. 2011. Evolutionary constraints in hind wing shape in Chinese dung beetles (Coleoptera: Scarabaeinae). *PLoS ONE*, 6(6): e21600.
- Blomberg, S.P., Garland, T. & Ives, A.R. 2003. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution*, 57(4): 717-745.
- Bookstein, F.L. 1991. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology. Cambridge University Press, UK, 435p.
- Camargo, N.F. & de Oliveira, H.F.M. 2012. Sexual dimorphism in *Sturnira lilium* (Chiroptera, Phyllostomidae): can pregnancy and pup carrying be responsible for differences in wing shape? *PLoS ONE*, 7(11): e49734.
- D'Abbrera, B. 1986. Sphingidae Mundi: hawk moths of the world: based on a checklist by Alan Hayes and the collection he curated in the British Museum of Natural History. EW Classey Ltd. 226 p.
- Freeman, P.W. 1981. A multivariate study of the family Molossidae (Mammalia, Chiroptera): morphology, ecology, evolution. *Fieldiana Zoology*, 7: 1–173.
- Gould, S.J. 1984. Covariance sets and ordered geographic variation in *Cerion* from Aruba, Bonaire and Curaçao: a way of studying nonadaptation. *Systematic Zoology*, 33: 217-237.
- Janzen, D.H. 1984. Two ways to be a tropical big moth: Santa Rosa saturniids and sphingids. Dos vías para ser una polilla tropical grande: los satúrnidos y esfíngidos de Santa Rosa. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, 1: 85-140.
- Kembel, S.W., Cowan, P.D., Helmus, M.R., Cornwell, W.K., Morlon, H., Ackerly, D.D. & Webb, C.O. 2010. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. *Bioinformatics*, 26(11): 1463-1464.
- Kitching, I.J. & Cadiou, J.M. 2000. Hawkmoths of the world: an annotated and illustrated revisionary checklist (Lepidoptera: Sphingidae). Cornell University Press, Ithaca. 253 p.

- Lockwood, R., Swaddle, J.P. & Rayner, J.M. 1998. Avian wingtip shape reconsidered: wingtip shape indices and morphological adaptations to migration. *Journal of Avian Biology*, x: 273-292.
- Marinello, M.M. & Bernard, E. 2014. Wing morphology of Neotropical bats: a quantitative and qualitative analysis with implications for habitat use. *Canadian Journal of Zoology*, 92(2): 141-147.
- Miller, W.E. & Pogue, M.G. 1984. Ragweed borer (Lepidoptera: Tortricidae: Eucosmini): taxonomic implications of an allometric analysis of adult characters. *Annual Entomology Society of America*, 77: 227-231.
- Mönkkönen, M. 1995. Do migrant birds have more pointed wings? a comparative study. *Evolutionary Ecology*, 9(5): 520-528.
- Monteiro, L.R. & Reis, S.F. 1999. *Princípios da morfometria geométrica*. Holos, São Paulo, IX + 188 p.
- Moré, M., Kitching, I.J. & Cocucci, A.A. 2005. *Sphingidae: esfingídeos de Argentina*. Hawkmoths of Argentina, Buenos Aires: Literature of Latin America, 166 p.
- Norberg, U.M., & Fenton, M.B. 1988. Carnivorous bats? *Biology Journal of Linnaean Society*, 33(4): 383–394.
- Norberg, U.M. 1990. *Vertebrate flight: mechanics, physiology, morphology, ecology and evolution*. New York: Springer-Verlag. 291 p.
- Norberg, U.M. 1994. Wing design, flight performance and habitat use in bats. In: Wainwright P.C., Reilly S.M., editors. *Ecological morphology: integrative organismal biology*. Chicago: University of Chicago Press. 205-239.
- Norberg, U.M. 2002. Structure, form, and function of flight in engineering and the living world. *Journal of Morphology*, 252: 52-81.
- R Development Core Team. 2011. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rohlf, F.J. 1999a. TPSDIG, v.1.18. <http://life.bio.sunysb.edu/morph>. Accessed 21 February 2012.
- Rohlf, F.J. 1999b. TPSREWL, v.1.18. <http://life.bio.sunysb.edu/morph>. Accessed 21 February 2012.
- Rohlf, F.J. 2005. TPSREGR, v. 1.31. <http://life.bio.sunysb.edu/morph>. Accessed 21 February 2012.

- Senar, J.C., Lleonart, J. & Metcalfe, N.B. 1994. Wing-shape variation between resident and transient wintering Siskins *Carduelis spinus*. *Journal of Avian Biology*, x: 50-54.
- Strauss, R.E. 1985. Evolutionary allometry and variation in body form in the South American catfish genus *Corydoras* (Callichthyidae). *Systematic Zoology*, 34: 381-396.
- Strauss, R.E. 1990. Patterns of quantitative variation in lepidopteran wing morphology: the convergent groups Heliconiinae and Ithomiinae (Papilionoidea: Nymphalidae). *Evolution*, x: 86-103.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. 2011. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biological Evolution*, 28(10): 2731-2739.
- Voigt, C. C. & Winter, Y. 1999. Energetic cost of hovering flight in nectar-feeding bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) and its scaling in moths, birds and bats. *Journal of Comparative Physiology B*, 169: 38-48.
- Voigt, C. C. & Holderied, M. W. 2012. High maneuvering costs force narrow-winged molossid bats to forage in open space. *Journal of Comparative Physiology B*, 182(3): 415-424.

Capítulo 2

Dimorfismo sexual e efeitos alométricos associados ao formato das asas de sete espécies de Sphingidae (Lepidoptera)

Resumo

O dimorfismo sexual no formato e coloração das asas é um padrão de variação intraespecífico bastante acentuado em Lepidoptera. Entretanto, a família Sphingidae pode ser considerada uma exceção a esta regra. Nesse trabalho foram utilizadas técnicas de morfometria geométrica para detectar dimorfismo sexual no formato das asas, anterior e posterior, de sete espécies de esfingídeos. As variáveis de forma geradas foram submetidas a uma análise discriminante. Os efeitos alométricos foram medidos por meio de uma regressão simples entre as variáveis canônicas e o tamanho do centroide. Os resíduos normalizados foram utilizados para acessar o componente não alométrico na variação da forma, por meio de um teste *t*. As deformações no formato das asas entre os sexos por espécie foi acessada por uma regressão entre as variáveis de forma não reduzidas e os resíduos. Encontrou-se dimorfismo sexual em todas as espécies analisadas em ambas as asas. Os efeitos alométricos foram responsáveis por grande parte da variação do formato das asas entre os sexos. Contudo, quando os efeitos alométricos foram retirados observou-se a existência de dimorfismo sexual independente das diferenças de tamanho entre os sexos. Em Lepidoptera é comum que as fêmeas sejam maiores, por isso espera-se que o formato de estruturas como as asas sofram deformações de maneira a preservar sua função. O resultado deste trabalho sugere que as diferenças das asas entre machos e fêmeas em Sphingidae são adaptativas e refletem as diversas formas de uso de habitat e dos papéis reprodutivos.

Palavras-chave: Dilophonotini, morfometria geométrica Macroglossini, Philampelini, seleção sexual.

Abstract

Sexual dimorphism in wings shape and color is a pronounced pattern of intraspecific variation in Lepidoptera. However, Sphingidae family can be considered an exception to this rule. We used geometric morphometric techniques to detect sexual dimorphism in the shape of fore and hind wings of seven hawkmoths species. The shape variables produced were then subjected to a discriminant analysis. The allometric effects were measured by means of a simple regression between the canonical variables the centroid size. We used the normalized residuals for accessing the non-allometric component of shape variation, by means of a t-test. The deformations in wing shape between sexes per species were accessed by a regression between the non-reduced shape variables and the residuals. We found sexual dimorphism, in all analyzed species, in both wings, and perceived that the allometric effects were responsible for much of the wings shape variation between the sexes. However, when the allometric effects were removed, we observed sexual dimorphism independent of size differences between the sexes. It is very common for females to be larger than males in Lepidoptera, so it is expected that the shape of structures such as wings suffer deformations in order to preserve their function. The result of this work suggests that the differences between wings of males and females in Sphingidae is adaptive and reflects different forms of habitat use and different reproductive roles.

Keywords: Dilophonotini, geometric morphometrics, Macroglossini, Philampelini, sexual selection.

1. Introdução

O estudo do dimorfismo sexual, que é uma fonte de variação fenotípica em insetos, continua a ser uma importante área de pesquisa em biologia evolutiva (Benítez 2013). Diferenças comportamentais, fisiológicas e morfológicas entre machos e fêmeas, principalmente no formato e coloração das asas, são formas de variações intraespecíficas bastante acentuadas em Lepidoptera (Allen *et al.* 2010). Os dois sexos diferem em tamanho na maioria dos animais, com machos maiores do que as fêmeas, padrão comum em aves e mamíferos, e com um viés para fêmeas maiores do que os machos em invertebrados e outros animais ectotérmicos (Shreeves & Field 2008). Em Lepidoptera é comum que as fêmeas sejam maiores do que os machos (Martin *et al.* 2011) e isso lhes dá vantagens adaptativas, tais como uma maior fecundidade e melhor cuidado parental (Moller & Zamora-Muñoz 1997). Essas diferenças de tamanho são reguladas no estágio larval pelo número de instares e por mecanismos hormonais (Stillwell *et al.* 2010). Quando emergem, as fêmeas podem pesar até duas vezes mais do que os machos. Essa diferença sexual de peso em Sphingidae é normalmente atribuída ao amadurecimento contínuo dos ovos, que a fêmea carrega ao longo da sua vida adulta (Janzen 1984).

Tradicionalmente considera-se que Sphingidae é uma das exceções à grande diversidade encontrada entre os sexos em Lepidoptera, uma vez que as asas de ambos apresentam os mesmos padrões de cor e forma (Janzen 1984). Entre os lepidópteros, somente os Sphingidae evoluíram com um conjunto de características que são: comportamento noturno, vida adulta que pode durar meses e intimamente ligada à necessidade de se alimentar nesta fase, habilidade de voo tanto pairado quanto migratório de longas distâncias e em alta velocidade (Kitching & Cadiou 2000). Esta última característica representa uma parte importante de biologia e capacidade de dispersão, uma vez que a muitas das espécies de Sphingidae possuem distribuição muito ampla, e quando não ocupam continentes inteiros são substituídos nestes por outras espécies congêneres (Kitching & Cadiou 2000). Por exemplo, gêneros como *Erinnyis* Hübner, [1819], *Eumorpha* Hübner, [1807], *Aellopos* Hübner, [1819], *Perigonia*, *Pseudosphinx*, *Cocytius*, *Xylophanes* Hübner, [1819], *Neococytius* Hodges, 1971, *Manduca*, que ocorrem na Costa Rica, migram entre a costa leste e oeste para evitar a estação seca, e são os mesmos que ocorrem ao longo de todo o Brasil (Janzen 1987).

O dimorfismo sexual no tamanho do corpo pode resultar em formatos de asas diferentes, segundo o princípio da similaridade funcional ou alometria imposta pelo tamanho. Este princípio postula que mudanças no tamanho devem ser acompanhadas de mudanças na forma de uma estrutura para preservar sua função original (Peters 1983). Portanto, a alometria, definida como covariação da forma em resposta à variação do tamanho (Begon *et al.* 2007), é um fator importante que deve ser avaliado no contexto do dimorfismo sexual (Benítez *et al.* 2013).

Em muitos estudos, os efeitos de tamanho são considerados como uma restrição funcional e são removidos antes que hipóteses quanto à divergência adaptativa sejam testadas. Esta abordagem assume que o tamanho do corpo explica um subconjunto da variação no dimorfismo sexual não explicado por mecanismos de seleção sexual ou natural (Fairbair 1997).

Traços sexualmente dimórficos podem ter função reprodutiva ou não (Kunte 2009). A seleção natural, em consequência de pressões sofridas exclusivamente por cada sexo devido às diferentes histórias de vida, pode ser tão importante quanto a seleção sexual na evolução do dimorfismo (Allen *et al.* 2010). Compreender o dimorfismo sexual no formato das asas pode esclarecer muitas questões relacionadas a estas diferenças.

Outros trabalhos fizeram uso da variação geométrica da forma da asa em insetos como caráter na avaliação de dimorfismo sexual, em que variação geométrica integrada das veias é diferenciada entre machos e fêmeas (Benítez *et al.* 2011). Até o momento, entretanto, nenhum estudo com objetivo específico de avaliar o dimorfismo sexual em Sphingidae foi realizado. Apesar de machos e fêmeas apresentarem asas muito semelhantes, a morfometria geométrica pode ser uma ferramenta útil para detectar diferenças sutis. Essa técnica permite descrever as variações de formato avaliando a covariação de medidas em pontos específicos de uma estrutura. Estudos realizados em outros grupos utilizando a morfometria geométrica foram capazes de identificar dimorfismo sexual, por exemplo, em asas de morcegos (Camargo & Oliveira 2012) e abelhas (Benítez *et al.* 2013).

Nesse estudo foram utilizadas técnicas de morfometria geométrica em sete espécies de Sphingidae: *Enyo ocytete* (Linnaeus, 1758), *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758), *Erinnyis oenotrus* (Cramer, 1780), *Isognathus menechus* (Boisduval, [1875]),

Pseudosphinx tetrio (Linnaeus, 1771) (Macroglossinae: Dilophonotini), *Eumorpha anchemolus* (Cramer, 1779) (Macroglossinae: Philampelini) e *Xylophanes chiron nechus* (Cramer 1777) (Macroglossinae: Macroglossini), com os seguintes objetivos: 1) descrever, quantificar e analisar o dimorfismo sexual nas asas anteriores e posteriores; 2) verificar a contribuição da alometria para a variação no formato das asas de machos e fêmeas. Espera-se que o dimorfismo sexual de tamanho apresente um efeito alométrico associado, de maneira a preservar a função de voo; 3) avaliar adaptações específicas no formato das asas de machos e fêmeas independentemente de possíveis efeitos alométricos.

2. Materiais e métodos

2.1. Coleta de dados

Foram fotografadas as asas direitas, anteriores e posteriores, de todos os indivíduos das sete espécies (Figura 1). Quando a asa direita estava danificada, a asa esquerda foi utilizada e depois invertida. O sexo dos indivíduos de cada espécie foi determinado pela visualização do último segmento abdominal (presença da valva nos machos e papilas anais nas fêmeas) ou pela forma e tamanho do frenulum.

2.2. Análises estatísticas

2.2.1. Formato das asas

A variação no formato das asas foi acessada a partir da Análise Discriminante (AD), com agrupamentos dos espécimes por sexo em cada espécie. A partir da AD foi feita uma análise canônica, cujas variáveis canônicas (VCs) resultantes resumem o conjunto de variáveis original de cada grupo (i.e. machos e fêmeas).

2.2.2. Alometria

Para verificar os efeitos alométricos no formato das asas, foram feitas análises de regressão simples entre as VCs (variáveis dependentes) geradas a partir da AD e o tamanho do centroide gerado no TPSRELW (variáveis independentes). Os resíduos

normalizados (diferença normalizada entre o valor de Y previsto pela equação da reta e o real valor de Y) (Zar 2010) foram utilizados para acessar o componente não alométrico na variação da forma, por meio de um teste *t* para avaliar se, depois de retirado o efeito do tamanho, havia diferença significativa no formato das asas de machos e fêmeas.

Para visualizar as deformações no formato das asas entre os sexos por espécie, foi feita uma regressão no TPSREGR v. 1.31 (Rohlf 2005) entre as variáveis de forma não reduzidas geradas no TPSRELW e os resíduos gerados na regressão entre as VCs e o tamanho do centroide.

3. Resultados

A AD mostrou diferença significativa no formato das asas de machos e fêmeas das sete espécies, tanto para asa anterior quanto para posterior (Tabelas 1 e 2). Os marcos anatômicos geraram 28 variáveis que a AD reduziu a uma única VC para cada indivíduo. As frequências das VCs de machos e fêmeas para cada espécie pode ser observada na figura 1 (asa anterior) e na figura 2 (asa posterior). A regressão entre as VCs e os tamanhos dos centroides indicou efeito alométrico significativo em todas as asas, exceto na asa posterior de *E. ocypete* (Tabela 3).

Tabela 1. Resultados das ADs para as asas anteriores de machos e fêmeas de Sphingidae. O índice de Wilk's λ indica a capacidade da análise de separar os grupos a partir das variáveis. Quanto mais próximo de zero (0) maior é a diferença entre eles.

Espécie	Wilk's λ	F	P
<i>Enyo ocypete</i>	0.026	(28,60)=8.09	<0,05
<i>Erynnis ello</i>	0.108	(28,76)=22.41	<0,0001
<i>Erinnyis oenotrus</i>	0.230	(28,43)=5.13	<0,0001
<i>Eumorpha anchemolus</i>	0.263	(28,33)=3.30	<0,05
<i>Isognathus menechus</i>	0.187	(28,28)=4.34	<0,0001
<i>Pseudosphinx tetrio</i>	0.283	(28,49)=4.43	<0,0001
<i>Xylophanes chiron</i>	0.158	(28,50)=9.50	<0,0001

Tabela 2. Resultados das ADs para as asas posteriores de machos e fêmeas de Sphingidae. O índice de Wilk's λ indica a capacidade da análise de separar os grupos a partir das variáveis. Quanto mais próximo de zero (0) maior é a diferença entre eles.

Espécie	Wilk's λ	F	P
<i>Enyo ocypete</i>	0.012	(28,60)=17.15	<0,05
<i>Erynnis ello</i>	0.127	(28,73)=17.93	<0,0001
<i>Erinnyis oenotrus</i>	0.234	(28,41)=4.79	<0,0001
<i>Eumorpha anchemolus</i>	0.186	(28,33)=5.16	<0,0001
<i>Isognathus menechus</i>	0.334	(28,27)=1.92	<0,05
<i>Pseudosphinx tetrio</i>	0.291	(28,49)=4.27	<0,0001
<i>Xylophanes chiron</i>	0.158	(28,51)=9.71	<0,0001

Tabela 3. Regressões simples entre as variáveis de forma e o tamanho do centroide. R² indica a porcentagem da variação da forma da asa que pode ser atribuída aos efeitos alométricos. Números em negrito indicam resultados não significativos.

Espécie	asa anterior		asa posterior	
	R ²	P	R ²	P
<i>Enyo ocypete</i>	0,16	<0,05	0,08	0,08
<i>Erynnis ello</i>	0,49	<0,0001	0,38	<0,0001
<i>Erinnyis oenotrus</i>	0,25	<0,0001	0,20	<0,0001
<i>Eumorpha anchemolus</i>	0,40	<0,0001	0,45	<0,0001
<i>Isognathus menechus</i>	0,51	<0,0001	0,60	<0,0001
<i>Pseudosphinx tetrio</i>	0,52	<0,0001	0,60	<0,0001
<i>Xylophanes chiron</i>	0,31	<0,0001	0,31	<0,0001

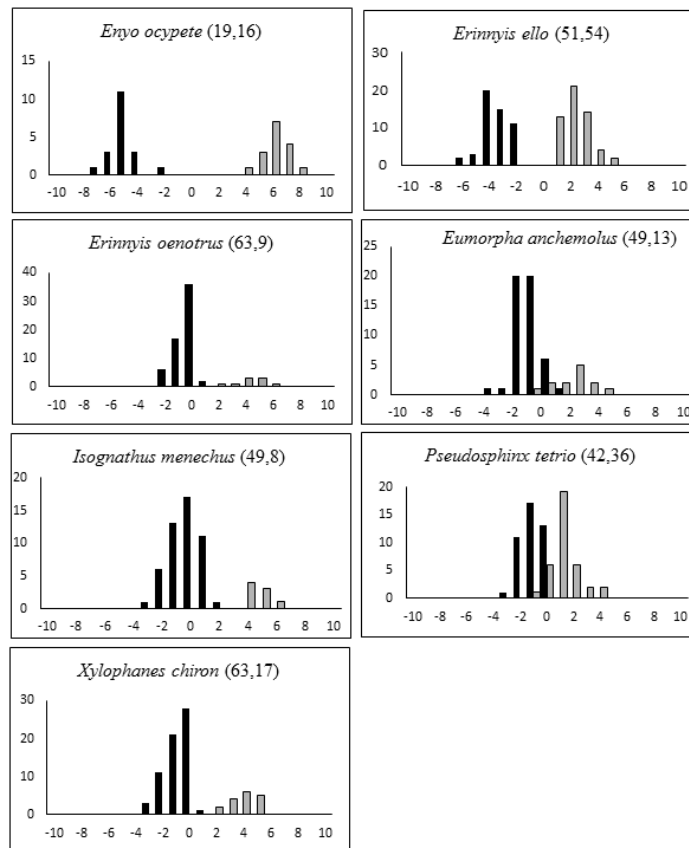


Figura 1 - Frequências das VCs geradas nas ADs das asas anteriores. Entre parênteses, na ordem, o número de machos e fêmeas analisadas em cada espécie de Sphingidae. Barras pretas representam machos e as cinzas as fêmeas.

As VCs apresentam duas distribuições distintas para os sexos nas sete espécies de Sphingidae, com uma sobreposição mínima na asa anterior de *E. anchemolus* e *P. tetrio* (Figuras 1 e 2). A maior separação foi observada em *E. ocyptete*, que também foi a espécie que apresentou o menor efeito alométrico na variação do formato das asas. Todas as outras espécies incluídas no estudo apresentaram efeitos alométricos bastante altos, associados ao dimorfismo sexual. Entretanto, o tipo de deformação entre os sexos parece ser constante nas espécies (Figura 3).

O teste *t* com os resíduos agrupados por sexo mostrou diferença significativa entre o formato das asas de machos e fêmeas de Sphingidae, independente dos efeitos de tamanho (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 - Resultados do teste t com resíduos agrupados por sexo em cada uma das sete espécies de Sphingidae para as asas anteriores de machos e fêmeas. \bar{x} = média, σ = desvio padrão, gl = graus de liberdade, t = teste t, p = significância.

Anterior	$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$	t	gl	p
	Machos	Fêmeas			
<i>Enyo ocyete</i>	-0,80±0,48	0,95±0,40	-11,62	33	<0,0001
<i>Erynnis ello</i>	-0,68±0,72	0,64±0,78	8,97	103	<0,0001
<i>Erinnyis oenotrus</i>	-0,27±0,70	1,91±0,52	-9,04	70	<0,0001
<i>Eumorpha anchemolus</i>	0,32±0,60	-1,20±1,12	6,30	60	<0,0001
<i>Isognathus menechus</i>	0,25±0,04	0,48±0,10	-9,93	55	<0,0001
<i>Pseudosphinx tetrio</i>	-0,43±0,70	0,50±1,03	-4,66	76	<0,0001
<i>Xylophanes chiron</i>	-0,37±0,70	1,36±0,67	-9,05	78	<0,0001

Tabela 5 - Resultados do teste t com resíduos agrupados por sexo em cada uma das sete espécies de Sphingidae para as asas posteriores de machos e fêmeas. \bar{x} = média, σ = desvio padrão, gl = graus de liberdade, t = teste t, p = significância.

Posterior	$\bar{x} \pm \sigma$	$\bar{x} \pm \sigma$	t	gl	p
	Machos	Fêmeas			
<i>Enyo ocyete</i>	-0,85±0,32	1,00±0,28	-17,98	33	<0,0001
<i>Erynnis ello</i>	0,69±0,71	-0,67±0,73	-9,60	100	<0,0001
<i>Erinnyis oenotrus</i>	0,29±0,62	-2,0±0,62	10,29	68	<0,0001
<i>Eumorpha anchemolus</i>	0,33±0,69	-1,24±0,99	6,60	60	<0,0001
<i>Isognathus menechus</i>	0,11±0,087	-0,67±0,95	2,14	55	<0,05
<i>Pseudosphinx tetrio</i>	0,41±0,90	-0,48±0,87	4,45	76	<0,0001
<i>Xylophanes chiron</i>	0,39±0,67	-1,44±0,56	10,34	78	<0,0001

Na figura 3 é possível observar as deformações, depois de retirados os efeitos alométricos, medidas a partir dos resíduos das regressões entre VCs e o tamanho do centroide, encontradas entre as asas de machos e fêmeas das espécies de Sphingidae analisadas. Machos possuem asas anteriores mais retas e com as extremidades mais triangulares, ao mesmo tempo em que suas asas posteriores são mais largas e curtas. As fêmeas possuem asas anteriores mais finas e de extremidade mais abauladas, enquanto suas asas posteriores são também mais finas que as dos machos, embora mais compridas.

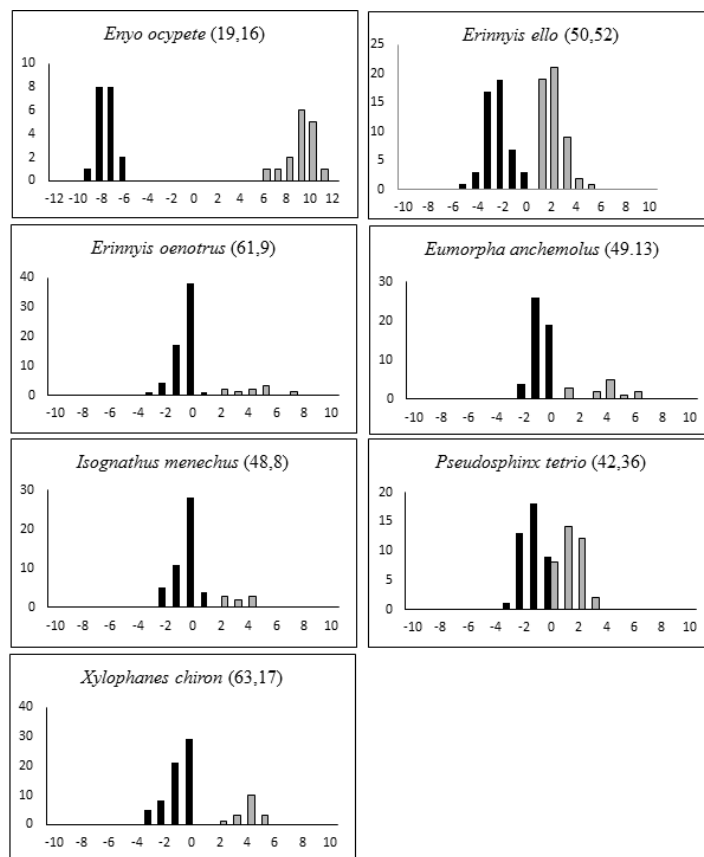


Figura 2- Frequências das VCs geradas nas ADs das asas posteriores de machos e fêmeas de Sphingidae. Entre parênteses, na ordem, o número de machos e fêmeas analisado em cada espécie. Barras pretas representam os machos e as cinzas as fêmeas.

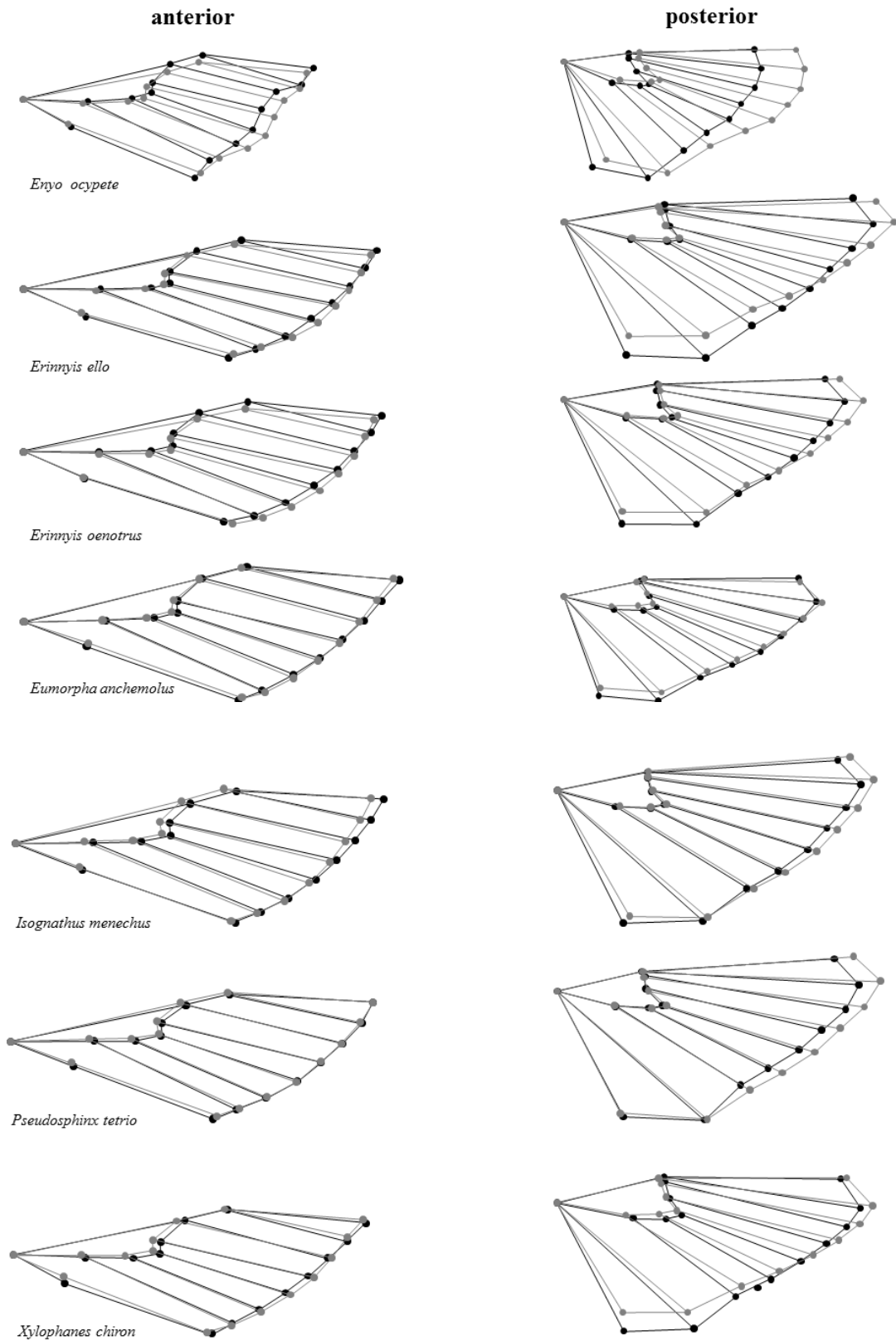


Figura 3 - Comparação entre o formato de asas anteriores e posteriores dos machos e fêmeas de sete espécies de Sphingidae. A cor preta representa as asas dos machos e em cinza as das fêmeas. As deformações representam a regressão dos resíduos do teste de alometria e as variáveis de forma da matriz de covariância.

4. Discussão

O alto efeito alométrico encontrado sugere que este é um fator muito importante na variação intraespecífica do formato das asas de Sphingidae, representando até 60% da explicação em algumas espécies. O dimorfismo sexual de tamanho do corpo reflete a adaptação de cada sexo aos seus diferentes papéis reprodutivos (Fairbairn 1997).

Apesar de não haver consenso sobre como se dá a evolução do dimorfismo sexual de tamanho e da alometria associada, Dale *et al.* (2007) resumiu as hipóteses existentes em três grupos: o dimorfismo sexual de tamanho poderia evoluir devido às restrições evolutivas, como subproduto de cada sexo respondendo de forma diferente às pressões de seleção similares sobre o tamanho do corpo; a competição intersexual por recursos ou seleção de fertilidade, poderia, por meio da seleção natural, dar origem ao dimorfismo de tamanho entre os sexos; a seleção sexual agindo mais intensamente em um dos sexos pode produzir uma resposta evolutiva correlata, embora mais fraca no outro sexo.

O tamanho do corpo está diretamente ligado ao sucesso reprodutivo (fitness), porque fêmeas maiores produzem mais ovos (Berger *et al.* 2008) e, conseqüentemente, são naturalmente selecionadas (Reeve & Fairbairn 1999). As fêmeas sofrem pressão em direção ao aumento de tamanho, que representa maior fecundidade, mas sofrem pressão na direção oposta (tamanho pequeno) pela necessidade de deslocamento, imposta pela migração e pelo patrulhamento a procura de fontes de néctar e plantas hospedeiras, e pelo voo pairado para alimentação e oviposição. Por isso, a diferença de tamanho entre machos e fêmeas é mais discreta do que se poderia esperar. Pressões de seleção sexuais e naturais contrapostas podem limitar ou facilitar o surgimento de diferentes variações intraespecíficas de natureza sexual. A evolução do dimorfismo envolve interações complexas entre estas duas forças de seleção (Allen *et al.* 2010).

O custo-benefício (*trade-off*) entre o sucesso reprodutivo devido ao aumento da fecundidade e os custos devido aos altos riscos de predação aos quais as larvas maiores estão sujeitas, limitam o tamanho adulto de ambos os sexos. Larvas grandes também trazem custos para os machos, entretanto, estes têm menos a ganhar com o aumento de tamanho e a seleção favorece um dimorfismo sexual de tamanho enviesado para as fêmeas (Allen *et al.* 2010). Além disso, a necessidade do voo pairado também representa uma barreira para o crescimento exagerado das fêmeas.

Os padrões de divergência evolutiva que geram efeitos alométricos consistem em mudanças correlatas no tamanho dos sexos e a alometria surge porque um dos sexos mostra maior amplitude de mudança do que o outro (Fairbairn 1997)

A existência de um ótimo reprodutivo específico para cada sexo resulta em consequências para evolução de dimorfismo sexual. Comportamentos diferentes como seleção de plantas hospedeiras para oviposição ou atribuição de diferentes valores para recursos em comum como fontes de néctar, pode resultar em riscos diferentes de predação para cada sexo (Mendoza-Cuenca & Macías-Ordóñez 2005), o que pode levar à segregação de habitat e, conseqüentemente, às diferenças no formato de asa, ainda que sutís.

As seleções natural e sexual são frequentemente tratadas como explicações independentes para a evolução do dimorfismo sexual, mas elas podem ser vistas como componentes de um contínuo determinado pela especialização dos papéis reprodutivos (Fairbairn 1997).

É possível que haja adaptações não relacionadas à alometria que sejam explicadas pelas atividades de forrageamento e reprodução. Independente do efeito alométrico associado ao dimorfismo sexual de tamanho, houve variação morfológica no formato das asas (teste t dos resíduos). Entre 30 e 70% desta variação deve ser abordada do ponto de vista da história de vida de cada sexo. Considerar a alometria como sendo diferente dos padrões adaptativos divergentes encontra respaldo no princípio da similaridade funcional (Peters 1983). Mudanças no formato de estruturas e, conseqüentemente, na sua função, são desvios da alometria. Portanto, podem ser consideradas divergências adaptativas e é possível acessá-las pelas análises dos resíduos alométricos (Fairbairn 1997). No caso das asas dos esfingídeos a função a ser preservada é claramente o voo e isso se traduz na mudança no formato.

Quando os efeitos de tamanho do dimorfismo são eliminados, pode-se perceber que o formato das asas de machos e fêmeas difere de forma significativa em todas as sete espécies, independente de efeitos de tamanho, o que indica que a diferenciação morfológica mostra-se também adaptativa, principalmente, na asa posterior. Este resultado sugere que a asa anterior sofre maior restrição quanto à variação, devido às características inerentes à alimentação e migração dos Sphingidae e que a asa posterior é mais plástica ao atender necessidades específicas de cada sexo.

As asas anteriores dos machos são claramente mais triangulares nas extremidades e possuem as bordas mais retas, o que reduz a fricção com o ar o que resulta em um voo mais rápido e eficiente, com menor manobrabilidade do que o das fêmeas. Por outro lado, as asas anteriores das fêmeas possuem bordas mais abauladas e com maior superfície, características que predizem um voo mais lento e com maior manobrabilidade (Marinello & Bernard 2014). Asas com extremidades triangulares representam uma adaptação que aumenta a eficiência energética para voos migratórios (Norberg 1990). Por outro lado parece haver uma compensação no formato das asas posteriores, indicando um ganho de velocidade para as fêmeas, provavelmente ligada à necessidade de migração.

Durante a vida adulta, ambos os sexos dos esfingídeos, apresentam como atividades comuns o patrulhamento e o voo pairado para alimentação. Se a espécie for migratória, eles ainda acrescentam essa atividade em comum e, nesse caso, os dois sexos sofrem a mesma pressão sobre as habilidades para esse tipo de voo (i.e. longas distâncias e velocidade). Essas três atividades, provavelmente, apresentam uma barreira evolutiva para o surgimento de fenótipos morfológicamente muito diferentes (Janzen 1984).

Portanto, a variação adaptativa encontrada pode ser explicada pelos comportamentos diferentes associados a cada sexo, mais especificamente no custo-benefício entre o voo pairado e o deslocamento de grandes distâncias e alta velocidade. Cada um dos sexos apresenta atividades exclusivas. Enquanto as fêmeas procuram por plantas hospedeiras e usam o voo pairado para oviposição, os machos patrulham a procura de parceiras para acasalamento. Estas atividades diferenciadas acarretam seleção sobre características específicas associadas à velocidade do voo, como forma e tamanho das asas, para a redução dos custos envolvidos nesse tipo de patrulhamento (Wiklund 2003).

Apesar de haver certo paralelismo entre o patrulhamento feito pelos machos à procura de fêmeas e das fêmeas à procura de plantas hospedeiras, uma vez que cada planta vai receber um ou poucos ovos, dependendo da sua capacidade de fornecer alimento (Janzen, 1984), os machos tem mais a ganhar em sucesso reprodutivo com o aumento de velocidade, o que explica seu maior poder de deslocamento (Kitching & Cadiou 2000). Se levarmos em conta um casal de mesmo tamanho, com as mesmas

necessidades energéticas, a fêmea passaria mais tempo em voo pairado (seleção de plantas hospedeiras e postura dos ovos), enquanto o macho passaria mais tempo em voo de patrulha de alta velocidade a procura de fêmeas. Depois de aprender a localização de fontes de alimento, as fêmeas simplesmente se deslocam entre estas, reduzindo o patrulhamento à atividade de oviposição (Janzen 1984). A presença de um padrão na variação entre espécies diferentes sugere uma forte ação de seleção natural agindo de forma semelhante sobre os sexos em diferentes clados.

É possível concluir a partir deste trabalho que as diferenças intersexuais no formato das asas das espécies de Sphingidae resultam tanto da alometria, consequente do dimorfismo sexual de tamanho, quanto de diferenças adaptativas, resultante dos diferentes papéis de cada sexo. A maior velocidade de voo, encontrada nos machos, garante o sucesso reprodutivo porque facilita o encontro de fêmeas. Para as fêmeas, o voo mais lento favorece o patrulhamento e seleção de plantas hospedeiras para a oviposição. Entretanto, nas espécies migratórias pode ter havido uma forma de compensação na velocidade do voo para as fêmeas, especialmente no formato das asas posteriores.

5. Referências

- Allen, C.E., Zwaan, B.J. & Brakefield, P.M. 2010. Evolution of sexual dimorphism in the Lepidoptera. *The Annual Review of Entomology*, 56: 445-64.
- Begon, M., Townsend, C.R. & Harper, J.L. 2007. *Ecologia: de indivíduos a ecossistemas*. 4 ed. Artmed. 740p.
- Benítez, H.A., Parra, L.E., Sepúlveda-Zúñiga & Sanzana, M-J. 2011. Geometric perspectives of sexual dimorphism in the wing shape of Lepidoptera: the case of *Synneuria* sp. (Lepidoptera:Geometridae). *Journal of the Entomological Research Society*, 13(1) 53-60.
- Benítez, H.A. 2013. Sexual dimorphism using geometric morphometric approach, em *Sexual Dimorphism*, Prof. Hiroshi Moriyama (Ed.), InTech. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/sexual-dimorphism/sexual-dimorphism-using-geometric-morphometric-approach>.
- Benítez, H.A., Bravi, R., Parra, L.E., Sanzana, M-J. & Sepúlveda-Zúñiga, E. 2013. Allometric and non-allometric patterns in sexual dimorphism discrimination of wing shape in *Ophion intricatus*: might two male morphotypes coexist? *Journal of Insect Science*, 13:143 .
- Berger, D., Walters, R. & Gotthard, K. 2008. What limits insect fecundity? Body size and temperature dependent egg maturation and oviposition in a butterfly. *Functional Ecology*, 22: 523-529.
- Camargo, N.F. & Oliveira, H.F. 2012. Sexual dimorphism in *Sturnira lilium* (Chiroptera, Phyllostomidae): can pregnancy and pup carrying be responsible for differences in wing shape? *PLoS ONE*, 7: e49734.
- Janzen, D.H. 1984. Two ways to be a tropical big moth: Santa Rosa saturniids and sphingids. Dos vías para ser una polilla tropical grande: los satúrnidos y esfíngidos de Santa Rosa. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, 1: 85-140.
- Janzen, D.H. 1987. When, and when not to leave. *Oikos*, 49: 241-243.
- Fairbairn, D.J. 1997. Allometry for sexual size dimorphism: pattern and process in the coevolution of body size in males and females. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28: 659-687.
- Kitching, I.J. & Cadiou, J.M. 2000. *Hawkmoths of the world: an annotated and illustrated revisionary checklist (Lepidoptera: Sphingidae)*. Cornell University Press, Ithaca. Cornell University Press. 226p.

- Kunte, K. 2009. The diversity and evolution of Batesian mimicry in *Papilio* swallowtail butterflies. *Evolution*, 63(10): 2707-2716.
- Marinello, M.M. & Bernard, E. 2014. Wing morphology of Neotropical bats: a quantitative and qualitative analysis with implications for habitat use. *Canadian Journal of Zoology*, 92(2): 141-147.
- Martin, A., Soares, A. & Bizarro, J. 2011. A guide to the hawkmoths of the Serra dos Orgãos. Information Press, Eynsham, Oxford, UK. 143p.
- Mendoza-Cuenca L. & Macías-Ordóñez R. 2005. Foraging polymorphism in *Heliconius charitonia* (Lepidoptera: Nymphalidae): morphological constraints and behavioural compensation. *Journal of Tropical Ecology*, 21: 407-415.
- Moller, A.P., Zamora-Muñoz, C. 1997. Antennal asymmetry and sexual selection in a Cerambycid beetle. *Animal Behaviors* 1997, 54 1509-1515.
- Norberg U.M. 1990. Vertebrate flight: mechanics, physiology, morphology, ecology and evolution. New York: Springer-Verlag. 291 p.
- Peters, R.H. 1983. The ecological implications of body size. New York: Cambridge University Press. 325p.
- Reeve, J.P. & Fairbairn D.J. 1999. Change in sexual size dimorphism as a correlated response to selection on fecundity. *Heredity*, 83: 697-706.
- Shreeves, G. & Field, J. 2008. Parental care and sexual size dimorphism in wasps and bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62: 843–852.
- Stillwell, R.C., Blanckenhorn, W.U., Teder, T., Davidowitz, G. & Fox, C.W. 2010. Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution. *Annual Review of Entomology*, 55: 227-45.
- Wiklund, C. 2003. Sexual selection and evolution of butterfly mating systems. In *Butterflies: Ecology and Evolution Taking Flight*, ed. CL Boggs, WB Watt, PR Ehrlich, Chicago: University Chicago Press. pp. 67-90.
- Zar, J.H. 2010. *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice-Hall. 994 p.

Apêndice 1. Espécies e número de indivíduos fotografados, com indicação da subfamília e tribo a que pertencem.

espécie	subfamília	tribo	indivíduos
<i>Adhemarius eurysthenes</i>	Smerinthinae	Ambulycini	7
<i>Adhemarius gannascus</i>	Smerinthinae	Ambulycini	10
<i>Adhemarius palmeri</i>	Smerinthinae	Ambulycini	27
<i>Aellopus ceculus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	1
<i>Aellopus fadus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	6
<i>Aellopus tantalus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	2
<i>Aellopus titan</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	7
<i>Agrius cingulata</i>	Sphinginae	Acherontini	52
<i>Aleuron iphis</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	1
<i>Aleuron neglectum</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	1
<i>Amphimoea walkeri</i>	Sphinginae	Sphingini	6
<i>Callionima falsifera</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	9
<i>Callionima grisescens</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	19
<i>Callionima inuus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	5
<i>Callionima nomius</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	9
<i>Callionima pan</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	23
<i>Callionima parce</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	29
<i>Cocytius antaeus</i>	Sphinginae	Sphingini	8
<i>Cocytius beelzebuth</i>	Sphinginae	Sphingini	2
<i>Cocytius duponchel</i>	Sphinginae	Sphingini	64
<i>Cocytius lucifer</i>	Sphinginae	Sphingini	7
<i>Cocytius mortuorum</i>	Sphinginae	Sphingini	2
<i>Enyo lugubris</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	24
<i>Enyo ocypte</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	35
<i>Erinnis oenotrus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	72
<i>Erinnis alope</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	90
<i>Erinnis crameri</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	9
<i>Erinnis domingonis</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	2
<i>Erinnis ello</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	105
<i>Erinnis lassauxi</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	15
<i>Erinnis obscura</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	29
<i>Eumorpha adamsi</i>	Macroglossinae	Philampelini	2
<i>Eumorpha analis</i>	Macroglossinae	Philampelini	25
<i>Eumorpha anchemolus</i>	Macroglossinae	Philampelini	91
<i>Eumorpha capronieri</i>	Macroglossinae	Philampelini	6
<i>Eumorpha fasciatus</i>	Macroglossinae	Philampelini	12
<i>Eumorpha labruscae</i>	Macroglossinae	Philampelini	14
<i>Eumorpha obliquus</i>	Macroglossinae	Philampelini	5
<i>Eumorpha phorbis</i>	Macroglossinae	Philampelini	1
<i>Eumorpha vitis</i>	Macroglossinae	Philampelini	8
<i>Eupyrhoglossum sagra</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	2
<i>Hemeroplanes ornatus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	3

<i>Hemeroplanes triptolemus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	10
<i>Hyles euphorbiarum</i>	Macroglossinae	Macroglossini	7
<i>Isognathus allamandae</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	9
<i>Isognathus caricae</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	41
<i>Isognathus leachii</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	19
<i>Isognathus menechus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	57
<i>Isognathus mossi</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	1
<i>Isognathus scyron</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	1
<i>Madoryx oiclus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	4
<i>Madoryx plutonius</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	10
<i>Manduca albiplaga</i>	Sphinginae	Sphingini	2
<i>Manduca dalica</i>	Sphinginae	Sphingini	4
<i>Manduca diffissa</i>	Sphinginae	Sphingini	44
<i>Manduca florestan</i>	Sphinginae	Sphingini	13
<i>Manduca hannibal</i>	Sphinginae	Sphingini	19
<i>Manduca incisa lefeburii</i>	Sphinginae	Sphingini	6
<i>Manduca janira</i>	Sphinginae	Sphingini	4
<i>Manduca lefeburii</i>	Sphinginae	Sphingini	9
<i>Manduca lucetius</i>	Sphinginae	Sphingini	21
<i>Manduca manducoides</i>	Sphinginae	Sphingini	1
<i>Manduca rustica</i>	Sphinginae	Sphingini	33
<i>Manduca sexta</i>	Sphinginae	Sphingini	12
<i>Manduca violaalba</i>	Sphinginae	Sphingini	5
<i>Neococytius cluentius</i>	Sphinginae	Sphingini	29
<i>Neogene curitiba</i>	Sphinginae	Sphingini	1
<i>Neogene dynaeus</i>	Sphinginae	Sphingini	14
<i>Nyceryx alophus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	2
<i>Nyceryx nephus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	5
<i>Nyceryx riscus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	2
<i>Nyceryx stuarti</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	2
<i>Orecta lycidas</i>	Smerinthinae	Ambulycini	3
<i>Oryba kadeni</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	12
<i>Pachylia darceta</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	16
<i>Pachylia ficus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	20
<i>Pachylia syces</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	4
<i>Pachylioides resumens</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	14
<i>Perigonia leucopos</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	3
<i>Perigonia lusca</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	11
<i>Perigonia pallida</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	24
<i>Perigonia passerina</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	7
<i>Phrixus caicus</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	1
<i>Protambulyx eurycles</i>	Smerinthinae	Ambulycini	17
<i>Protambulyx goeldi</i>	Smerinthinae	Ambulycini	1
<i>Protambulyx strigilis</i>	Smerinthinae	Ambulycini	79
<i>Protambulyx sulfurea</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	1
<i>Pseudosphinx tetrico</i>	Smerinthinae	Ambulycini	78

<i>Unzela japix</i>	Macroglossinae	Dilophonotini	2
<i>Xylophanes amadis</i>	Macroglossinae	Macroglossini	2
<i>Xylophanes ceratomioides</i>	Macroglossinae	Macroglossini	3
<i>Xylophanes chiron</i>	Macroglossinae	Macroglossini	107
<i>Xylophanes guianensis</i>	Macroglossinae	Macroglossini	3
<i>Xylophanes indistincta</i>	Macroglossinae	Macroglossini	2
<i>Xylophanes loelia</i>	Macroglossinae	Macroglossini	6
<i>Xylophanes pistacina</i>	Macroglossinae	Macroglossini	6
<i>Xylophanes pluto</i>	Macroglossinae	Macroglossini	52
<i>Xylophanes porcus</i>	Macroglossinae	Macroglossini	1
<i>Xylophanes rufescens</i>	Macroglossinae	Macroglossini	2
<i>Xylophanes tersa</i>	Macroglossinae	Macroglossini	60
<i>Xylophanes thyelia</i>	Macroglossinae	Macroglossini	1
<i>Xylophanes titana</i>	Macroglossinae	Macroglossini	12
<i>Xylophanes tyndarus</i>	Macroglossinae	Macroglossini	7