

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES
NATURAIS DE *PARIDES AGAVUS* (LEPIDOPTERA;
PAPILIONIDAE) DA REGIÃO CENTRAL DO RIO
GRANDE DO SUL, BRASIL.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Rafaelle Ribeiro Gonçalves

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE
PARIDES AGAVUS (LEPIDOPTERA; PAPILIONIDAE) DA
REGIÃO CENTRAL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

por

Rafaelle Ribeiro Gonçalves

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Biodiversidade Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Biológicas.**

Orientador: Prof. Dr. Rocco Alfredo Di Mare

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *Parides
agavus* (LEPIDOPTERA; PAPILIONIDAE) DA REGIÃO CENTRAL DO
RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

elaborada por
Rafaelle Ribeiro Gonçalves

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Biológicas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Rocco Alfredo Di Mare, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Aldo Mellender de Araújo, Dr. (UFRGS)

Neiva Maria Frizon Auler, Dra. (CEFET)

Santa Maria, 21 de março de 2007.

Dedico

Ao meu filho que está por nascer
(Augusto). Você é a promessa de um
grande futuro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que colaboraram para o êxito deste trabalho, em particular:

Aos meus pais, Rógeles e Maria do Carmo, pois foram vocês que me deram a vida.

Ao meu orientador prof. Dr. Rocco Alfredo Di Mare, pela orientação, compreensão, segurança, paciência e acima de tudo por ter acreditado que seria capaz. Muito obrigado.

Ao Biólogo Mestre Alcemar, meu amor e meu esposo. Você foi a peça fundamental para que eu conseguisse alcançar meu objetivo. Obrigada pelos incentivos, pelas críticas, pelo carinho, pela compreensão, pelo afago e sem dúvida pelo AMOR.

À Odara, minha filha, que soube compreender minhas ausências mesmo sendo tão pequenina. A mamãe te ama!

À Bibiana que também participou desta trajetória mesmo que de longe.

À prof^a Dra. Carla Bender Kotzian, pelo incentivo que deu início a esta trajetória.

À Cíntia, pela companhia nas intermináveis horas de laboratório, pelas coletas, pelos erros e acertos que descobrimos juntas. Valeu!

À Tanier, amiga, comadre, quase irmã pelas muitas horas de descontração nada biológicas regadas a muita cerveja. Se estes momentos não tivessem ocorrido creio que não teria conseguido.

À Dra. Neiva Maria Frizon Auler por ter me auxiliado na técnica e me orientar nas dúvidas que surgiram ao longo do trabalho.

Aos amigos Carlos, Érika Simone, Pedro, Luís e Alice pelas festas, discussões, enfim pela companhia nesta trajetória. Vocês foram muito importantes.

Aos colegas de mestrado Gisa, Manu, Fernanda, Aline, Ricardo, João Vitor, Paula Angélica, Lizélia, parceiros das aulas, trabalhos, angústias e anseios.

Aos “novos integrantes” João Pedro (JP), Fernando, Leandro (professor), André (Bucheça) e Paloma pelas festas com muitas risadas e cervejas.

Aos colegas do Laboratório de Biologia Evolutiva, Mariana e Daiara pelos momentos de descontração nas horas de folga.

À Prof^a Dra. Solange Bosio Tedesco por ter cedido o laboratório e o material para o desenvolvimento de parte da técnica de eletroforese.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *Parides agavus* (LEPIDOPTERA; PAPILIONIDAE) DA REGIÃO CENTRAL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

AUTOR: RAFAELLE RIBEIRO GONÇALVES
ORIENTADOR: ROCCO ALFREDO DI MARE

A estrutura populacional do ponto de vista genético e evolutivo procura quantificar a variabilidade morfológica e quantitativa existente entre os indivíduos, seu comportamento reprodutivo, os padrões de fluxo gênico, e as estratégias adaptativas aos ambientes locais. O presente estudo teve como objetivo descrever a estrutura genética populacional e a variabilidade genética encontrada em populações naturais de *Parides agavus* da região de Santa Maria. Para o estudo utilizou-se eletroforese em gel de poliacrilamida para alozimas. Foram coletados 88 indivíduos adultos de *P. agavus* em três localidades de Santa Maria. Foram obtidos 11 locos gênicos totalizando 26 alelos. Os níveis de diversidade genética apresentados pelas populações de *P. agavus*, podem ser considerados altos se comparados com outras espécies de lepidópteros. O índice de fixação para o conjunto das populações apresentou valor positivo sugerindo desvio da panmixia no conjunto das populações. O F_{ST} médio foi baixo indicando pouca diferenciação genética entre as populações amostradas sugerindo um alto fluxo gênico entre as populações, outra suposição sugere que estas se originaram por radiação de uma mesma população no passado. A divergência genética entre os pares de populações concorda com os valores encontrados para a distância genética, estes dados podem ser efeitos da alta dispersão da espécie, ou de uma conectividade das áreas estudadas, no passado. O fluxo gênico aparente médio estimado é suficiente para manter a baixa diferenciação genética entre as populações desta espécie.

Palavras-chave: estrutura populacional; alozimas; heterozigosidade, variabilidade genética.

ABSTRACT

Mastership Dissertation
Post-Graduation Program in Biological Science
Universidade Federal de Santa Maria

GENETIC STRUCTURE OF NATURAL POPULATIONS OF *Parides Agavus* (DRURY) (LEPIDOPTERA: PAPILIONIDAE) OF CENTRAL REGION OF RIO GRANDE SUL, BRAZIL

AUTHOR: RAFAELLE RIBEIRO GONÇALVES
ADVISER: ROCCO ALFREDO DI MARE

The population structure from the genetic and evolutive view-point tries to quantify the morphologic and quantitative variability existing among the individuals, their reproductive behavior, and gene flow patterns, and the adaptative strategies to the local environment. The present study had as objective to describe the genetic population structure and the genetic variability found in natural populations of *Parides agavus* Santa Maria region. For the study it was utilized polyacrylamide gel electrophoresis, for isozymes. Eighty-eight *P. agavus* adult individuals were collected in three localities in Santa Maria. Eleven genic loci were obtained totalizing 26 alleles. The genetic diversity levels presented by the populations of *P. agavus*, can be considered high if they are compared with other lepidoptera species. The index of fixation for the population set presented positive value suggesting the bias panmixia in the population set. The mean F_{ST} was low, indicating little genetic differentiation among the sampling populations suggesting high gene flow or that these ones originated themselves for irradiation of same population in the past. The genetic divergence between the pairs of populations agree with the values found to the genetic distance, these data can be effect of high dispersal specie or from a connexity of the studied areas, in the past. The gene flow estimated is sufficient to maintain the low genetic differentiation among the populations of this species.

Keywords: population structure; isozymes; heterozygotes; genetic variability.

LISTA DE TABELAS

TABELA I - Número de indivíduos coletados de <i>Parides agavus</i> em cada localidade no Sul do Brasil	23
TABELA II - Sistemas enzimáticos utilizados em indivíduos adultos (machos e fêmeas) de populações naturais de <i>Parides agavus</i> , número de locos observados	26
TABELA III - Frequências alélicas para as três populações de <i>Parides agavus</i> no Sul do Brasil, onde (n) é o tamanho da amostra	27
TABELA IV - Número amostrado (N), média da heterozigosidade obtida (H_o), média da heterozigosidade esperada (H_e) e índice de fixação de Wright (F) para as três populações de <i>Parides agavus</i> no Sul do Brasil	28
TABELA V - Estimativa das estatísticas F de Wright (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}) por loco para as três populações de <i>Parides agavus</i> no Sul do Brasil	29
TABELA VI - Valores de F_{ST} entre pares de populações (matriz triangular superior) e distância genética de Nei, 1978 entre populações de <i>Parides agavus</i> (matriz triangular inferior)	32

LISTA DE ANEXOS

ANEXO I - Normas para publicação do artigo na Revista Brasileira de Zoologia..... 49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. ARTIGO	18
Abstract	19
Resumo	20
Introdução	21
Material e Métodos	22
Organismos estudados	22
Trabalho de campo	23
Análise eletroforética	24
Análise estatística	24
Resultados e discussão	25
Frequências alélicas	25
Índices de diversidade genética	27
Estrutura genética das populações estudadas	29
Distância genética	31
Fluxo gênico	32
Conclusões	32
Agradecimentos	33
Referências bibliográficas	33
3. CONCLUSÕES	39
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
5. ANEXO	48

1. INTRODUÇÃO

As borboletas da família Papilionidae, possivelmente formam um grupo monofilético com as borboletas das famílias Pieridae e Nymphalidae (ACKERY & VANE – WRIGHT, 1984). Possuem distribuição cosmopolita e a família é composta por aproximadamente 580 espécies divididas em três subfamílias: Baroniinae, Parnassiinae e Papilioninae (SCRIBER, 1995).

TESTON & CORSEUIL (1998), listaram para o Rio Grande do Sul, 37 representantes da família Papilionidae, incluindo espécies e subespécies. No município de Santa Maria, ocorrem 15 espécies distribuídas de modo particular, desde a floresta decidual e semidecidual, até locais completamente urbanizados (SCHWARTZ & DI MARE, 2001). A subfamília Papilioninae é a maior, subdividida em três tribos: Troidini, Graphiini e Papilionini. No Brasil existem 73 espécies registradas para esta subfamília, subdividida em oito gêneros: *Battus*, *Euryades*, *Heraclides*, *Mimoides*, *Parides*, *Protesilaus*, *Protographium* e *Pterourus*.

A tribo Troidini é predominantemente tropical, com muitas espécies concentradas nas florestas das Américas Central e do Sul, e na região IndoAustraliana (WEINTRAUB, 1995). Os Troidini incluem 130 espécies divididas em 12 gêneros, três deles com ocorrência neotropical: *Battus* (11 espécies), *Euryades* (duas espécies) e *Parides* (34 espécies) (TYLER *et al.*, 1994), estes três gêneros são os únicos desta tribo encontrados no Brasil.

A biologia das espécies da tribo Troidini tem sido estudada nos trópicos (D'ALMEIDA, 1966; BROWN *et al.*, 1981; MORAIS & BROWN, 1992), no entanto, no sul do Brasil, onde o clima é subtropical caracterizado por uma estação rigorosa (inverno), pouco se conhece (PAIM & DI MARE, 2002).

A morfologia das larvas e das pupas desta tribo é bastante homogênea e devido a isso é reconhecida como um grupo natural (MILLER, 1987). Os adultos apresentam coloração aposemática com convergência mülleriana e seqüestram substâncias secundárias tóxicas, as

quais retêm no estágio adulto, de suas plantas hospedeiras *Aristolochia* spp. L. (Aristolochiaceae) (BROWN *et al.*, 1981; SCRIBER, 1984; MORAIS & BROWN, 1992).

O gênero *Parides* Hübner, 1819 é formado por 34 espécies (MORAIS, 1986) altamente impalatáveis (BROWER & BROWER, 1964), das quais, a maioria, apresenta-se restrita a determinados habitats (TYLER *et al.*, 1994).

Parides agavus (Drury, 1782), apresenta uma coloração aposemática. As asas anteriores e posteriores apresentam fundo negro; as asas anteriores são atravessadas por uma barra branca longitudinal ao eixo do corpo. Nas asas posteriores (dorsal e ventral) ocorrem uma série de pontos vermelhos submarginais e uma mancha branca central, formada por um número variável de células. Esta espécie também apresenta formas aberrantes e participa de anéis miméticos (MORAIS & BROWN, 1992; LUTZ, 1993; TYLER *et al.*, 1994). Segundo MORAIS & BROWN (1992), esta espécie possui preferência por habitats ribeirinhos e de florestas úmidas, com grande suprimento de plantas nectaríferas e não muito ensolarados, é encontrada no Paraguai, norte da Argentina, norte do Uruguai e no Brasil, neste distribui-se desde a região Nordeste até a região Sul.

Segundo SCHWARTZ & DI MARE (2001) os indivíduos de *Parides agavus* apresentam movimentos intensos dentro das suas áreas de vida. PAIM & DI MARE (2002) estudando a biologia e a demografia de populações de *P. agavus* sugeriram que esta espécie apresenta um alto grau de residencialidade e baixa dispersão, neste trabalho os autores dificilmente recapturaram os indivíduos de *P. agavus* além dos limites da área onde eram capturados, sugerindo que apresentavam uma dispersão mais ou menos restrita. Ainda neste trabalho os autores ressaltam a importância da realização de estudos sobre a variabilidade genética desta espécie para se determinar a contribuição do padrão espacial sobre a estrutura genética das populações.

Conhecer a variabilidade genética das populações naturais é importante para planejar programas de conservação efetivos capazes de assegurar sua evolução e manutenção ao longo do tempo (PERES & RENESTO, 2005), isto é possível estudando marcadores genéticos como DNA e alozimas.

A eletroforese de proteínas, migração de proteínas sob a influência de um campo elétrico, está entre os mais eficientes métodos de investigação dos fenômenos genéticos a nível molecular (MURPHY *et al.*, 1990). Quando o interesse concentra-se nos efeitos adaptativos da variação detectada, ou seja, na correspondência entre a base genética e a expressão fenotípica em valor adaptativo, como ocorre, na maioria das vezes, nos estudos de conservação genética, os polimorfismos enzimáticos, por já serem um produto intermediário

da expressão do gene, estão mais próximos da expressão fenotípica final do que os polimorfismos de DNA (TORGGLER *et al.*, 1995).

Segundo MURPHY *et al.* (1990), a utilização de proteínas serve para numerosas investigações que tenham como foco a eficiência enzimática, estimar e conhecer a variabilidade genética em populações naturais, fluxo gênico, estrutura populacional, especificamente sobre a estrutura de acasalamento, relações filogenéticas entre outros. Ainda segundo estes autores a eletroforese em gel é uma técnica aplicável a todos os organismos.

Para ALFENAS *et al.* (1991), a eletroforese é uma técnica relativamente simples, rápida e de alto valor informativo. A eletroforese de proteínas foi muito utilizada para estudos de taxonomia, fisiologia e genética de plantas, animais e microorganismos. Porém, em estudos realizados com animais, principalmente no Brasil, esta técnica tem sido abandonada nos últimos anos.

As alozimas têm várias propriedades desejáveis como marcador genético para estimação do fluxo gênico. Elas podem ser analisadas quantitativamente e qualitativamente sem análises genéticas formais e por isso podem ser examinadas em quase todas as espécies. A natureza da variação alozimática e os métodos eletroforéticos usados para sua detecção fornecem marcadores que se ajustam ao simples modelo Mendeliano (NEIGEL, 1997).

A análise do sistema aloenzimático de esterases (EST) é de particular interesse. As esterases são proteínas capazes de hidrolisar ésteres presentes no material biológico de todos os organismos (RESENDE *et al.* 2004), são utilizadas em estudo genéticos por serem altamente polimórficas e de fácil detecção (DAVIS, 1964). Também apresentam alta frequência de variantes genéticas usualmente detectados em populações de insetos (SELANDER, 1976).

As fosfatases ácidas (ACP) atuam sobre um grande espectro de substratos hidrolisando ortofosforil-monoésteres a álcoois e ortofosfato. Juntamente com as esterases são enzimas muito utilizadas como marcadores, porque costumam apresentar polimorfismo (ALFENAS *et al.*, 1991).

As malato desidrogenases (MDH) estão presentes em todos os organismos aeróbicos, já que são fundamentais à interconversão de malato a oxaloacetato no Ciclo do Ácido Cítrico. Enquanto os procariontes possuem apenas uma forma de MDH, em células eucariontes há duas enzimas: uma localizada na matriz mitocondrial e outra no citoplasma (McALISTER-HENN, 1992).

Em lepidópteros o polimorfismo enzimático tem sido estudado por vários autores nos últimos 20 anos. BURNS & JOHNSON (1971), estudaram o polimorfismo de esterases em

populações naturais de licenídeos e detectaram grande variabilidade para uma esterase dimérica que foi atribuída a uma vantagem dos heterozigotos associada a uma heterogeneidade ambiental não detectada.

TURNER *et al.* (1979) detectaram o que chamaram de “modos contrastantes de evolução no mesmo genoma”. Utilizando dados ecológicos e eletroforéticos, analisaram 17 locos em *Heliconius* e *Dryas*, compararam a variabilidade enzimática encontrada com a variabilidade morfológica relacionada com o mimetismo. Os resultados mostraram que as alozimas respondem à evolução mantendo um grau de heterozigosidade, enquanto que os genes respondem pelo mimetismo, apesar de divergirem entre as subespécies, geralmente, estão em homozigose dentro das populações.

Os estudos de α -glicerofosfato desidrogenase em *Colias* spp., enzima importante no vôo dos insetos, pois é necessária para a produção de ATP utilizado na contração muscular, realizados por JOHNSON (1976), demonstraram a existência de um “cline” nas frequências desta enzima, aumentando a frequência de heterozigotos à medida que a altitude se eleva.

LIMA & ARAUJO (1982) estudando populações de *Heliconius erato*, no Rio Grande do Sul, utilizando o sistema das esterases, verificaram um pequeno aumento de homozigotos, sugerindo ser devido ao efeito Wahlund e ao endocruzamento.

WATT *et al.* (1985), ao estudar o sucesso do acasalamento de *Colias*, relataram uma vantagem dos heterozigotos para alelos da fosfoglicomutase. Segundo os autores, os machos doam recursos para as fêmeas durante a cópula, logo, é possível que os heterozigotos eclodam com mais vigor, resultante do metabolismo pré-adulto, e assim cortejem as fêmeas mais intensamente do que os homozigotos.

LORKOVIC (1986) discute a utilização de diferenças enzimáticas na taxonomia. Estudando *Pieris* spp. verificou que, entre *P. napi* e *P. bryoniae*, são biologicamente diferentes, mas semelhantes enzimaticamente; enquanto, *Euchloe crameri* e *E. simplonia*, que são mais compatíveis geneticamente, mostram uma diversidade enzimática alta e desproporcional, 21 vezes maior do que em *napi-bryoniae* e quase duas vezes tão alta quanto o par *P. rapae-P. manni*, reprodutivamente incompatível.

HAAG *et al.* (1993) ao estudarem a estrutura genética de populações naturais de *Dryas iulia* em seis localidades do RS, encontraram um baixo valor de F_{ST} não significativo indicando que as populações estudadas são subpopulações de uma mesma população.

BRITTEN *et al.* (1993) investigaram a taxonomia de borboletas do gênero *Euphydryas* utilizando dados da frequência de 19 locos de alozimas. Os autores incluíram no estudo seis espécies de *Euphydryas* e três espécies da tribo Melitaeini. O conjunto das espécies inclui

pelo menos um representante dos quatro gêneros propostos por HIGGINS (1978) para *Euphydryas*. Através da análise dos dados obtidos concluíram que o gênero *Euphydryas* não deve ser separado em quatro gêneros como sugerido por HIGGINS (1978).

COLLINS *et al.* (1993) utilizando dados alozimáticos confirmaram a presença de uma estreita zona híbrida entre as populações estudadas de *Hyalophora euryalus* e *H. columbia gloveri* na Sierra Nevada na Califórnia. Os autores sugerem que os padrões geográficos das frequências alélicas confirmam o esperado baseados em modelos genéticos populacionais.

SILVA & ARAÚJO (1994) realizaram estudos com cinco populações de *Heliconius erato*. Estas populações mostraram uma alta similaridade genotípica. Os autores sugerem que as populações estudadas, através dos valores encontrados para F_{ST} e F_{IS} , apresentam um modelo de ilha.

DONGEN *et al.* (1998) estudaram a estrutura genética de populações de *Operophtera brumata* em paisagens fragmentadas. Constataram que a diversidade genética é reduzida em mais de 30% nas áreas e a diferenciação genética entre as áreas é muito menor. Por isso, a diferenciação genética entre as áreas parece não ser capaz de compensar a baixa diversidade genética dentro das subpopulações. Porém, em regiões contínuas a diversidade genética total foi ligeiramente maior.

HOOLE *et al.* (1999) estudando populações naturais de *Papilio machaon* em Broadland, UK, utilizando oito sistemas enzimáticos perceberam um considerável fluxo gênico entre as três populações estudadas. Os dados obtidos sugerem que a população como um todo está em equilíbrio de Hardy-Weinberg e que o endocruzamento tem pequeno efeito na população.

VANDEWOESTIJNE *et al.* (1999) utilizaram eletroforese de alozimas para estudar a diversidade genética, a estrutura genética da população e a estrutura genética da população temporal de *Aglais urticae*. Neste estudo os autores encontraram maior diversidade genética dentro das populações estudadas do que entre as mesmas e nenhuma variação genética temporal significativa nas populações amostradas em diferentes anos. Para estes autores uma combinação de alta taxa de movimentação entre os fragmentos vizinhos e raros processos de extinção e colonização pode resultar em uma estrutura genética populacional não relacionada com a distância geográfica entre as populações. Com isso sugerem que as populações de *A. urticae* não apresentam Modelo de Ilha de migração dos indivíduos porque a estrutura da população está uniforme independente da distância e do tempo.

NÉVE *et al.* (2000) estudaram a estrutura genética de populações de *Procllossiana eunomia* em escala regional e sugeriram através dos dados obtidos pela análise da Estatística

F que cada uma das cinco subregiões estudadas contém mais diversidade genética que o nível regional, ou seja, a Estatística F revelou que a maior diferenciação ocorre entre populações de uma mesma subregião.

KRONFORST & FLEMING (2001) examinaram sete subpopulações separadas geograficamente de *Heliconius charithonia* e constataram que estas populações exibiam pequena diferenciação genética e não apresentaram diferenciação genética detectável entre elas. Os autores sugerem que esta fraca diferenciação genética possa ser explicada pelo fluxo gênico ocorrente conforme o modelo de “stepping-stone”.

SHEPHARD *et al.* (2002) utilizaram a análise de alozimas para responder questões sobre a origem das populações Australianas da borboleta monarca *Danaus plexippus*. Os autores encontraram valores de heterozigosidade significativamente maior nas populações Australiana e Havaianas do que nas populações Norte Americanas. As diferenças genéticas entre as populações norte americanas do leste e do oeste amostradas não são suficientes para propormos a provável origem das populações havaianas e australianas. Os resultados obtidos pelos autores mostram que as três regiões Australianas estudadas são mais similares entre si do que as regiões do Hawai e da América do Norte e compartilham alelos idênticos, sugerindo que elas resultam de um único evento de colonização, mas não indicam a origem específica dos colonizadores.

RUVOLO-TAKASUSUKI *et al.* (2002) analisaram o padrão isoenzimático de esterases em pupas de *Diatraea saccharalis* indicando um total de oito locos, Para o estudo utilizaram apenas um loco polimórfico. Mantiveram a população sob condições controladas de laboratório onde observaram um excesso de heterozigotos que pode ser atribuído ao método utilizado para estabelecer a população em laboratório. O alto nível de heterozigose obtido no loco estudado indica que o sistema de esterase pode servir como um bom marcador para estudos de populações naturais de *Diatraea saccharalis*.

WYNNE *et al.* (2003) estudaram a estrutura genética populacional de duas espécies do gênero *Epirrita* (*Epirrita dilutata* e *Epirrita christyi*) em quatro bosques de Rothamsted. Com os dados obtidos através da eletroforese de alozimas detectaram que a distância genética entre as espécies é pequena, o que concorda com a similaridade morfológica existente entre as mesmas, demonstrando uma relação muito estreita. Entretanto ocorre grande diferenciação na frequência de alguns alelos entre *Epirrita dilutata* e *Epirrita christyi*, bem como a ausência de vários alelos em *E. christyi* que são encontrados em *E. dilutata* sugerindo que o fluxo gênico entre estas espécies não ocorre. Ainda neste estudo os autores encontraram baixo nível de diferenciação entre as populações amostradas de *Epirrita dilutata*. Porém a heterogeneidade

encontrada entre os quatro bosques é significativa, indicando que a população total em Rothamsted está subdividida. Desta forma os baixos valores encontrados de F_{ST} entre as populações de *Epirrita dilutata* podem refletir uma conectividade histórica de arvoredos decíduos no passado, em vez de fluxo gênico.

KRAUSS *et al.* (2004) realizaram estudos utilizando eletroforese de alozimas de 19 locos para investigar o padrão da estrutura genética de 17 populações da borboleta *Polyommatus coridon* e os efeitos da fragmentação de habitats na diversidade genética. Os autores detectaram uma redução da heterozigosidade em populações isoladas de *P. coridon* o que pode levar a uma redução da diversidade genética.

VANDEWOESTIJNE *et al.* (2004) estudaram a dispersão, ocupação de paisagens e estrutura populacional da borboleta *Melanargia galathea* em diferentes sítios da Bélgica. Os autores encontraram alto nível de polimorfismo genético dentro das populações amostradas e baixa quantidade de diferenciação entre as populações característica esta de espécies com alta capacidade de dispersão e/ou alta densidade.

A Biologia de Populações tenta explicar, de maneira integrada, os papéis relativos dos mecanismos microevolutivos como seleção, fluxo gênico, deriva genética, na diferenciação de populações em ambientes heterogêneos relacionando-os à distribuição dos indivíduos tanto no tempo como no espaço. Esta abordagem é de particular interesse para a análise e interpretação de aspectos biológicos fundamentais relacionados à conservação *in situ* de recursos genéticos (MARTINS, 1987).

A estrutura genética das populações refere-se a distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações. A formação da estrutura é resultante de fatores como sistema de acasalamento, níveis de endogamia, seleção natural ou artificial, fluxo gênico e deriva genética entre e dentro das populações (FERREIRA, 2003).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a variabilidade genética encontrada em populações naturais de *Parides agavus* da região de Santa Maria, analisando a distância genética entre as populações estudadas, bem como descrever a estrutura genética populacional desta espécie.

2. ARTIGO

ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *PARIDES AGAVUS* (Drury) (LEPIDOPTERA; PAPILIONIDAE) DA REGIÃO CENTRAL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Rafaelle Ribeiro Gonçalves¹ & Rocco Alfredo Di Mare²

1. Laboratório de Biologia Evolutiva, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Animal do Centro de Ciências Naturais e Exatas (CCNE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Campus Universitário, Faixa de Camobi - km 9. Santa Maria, RS, Brasil. CEP: 97.119-900. E-mail: rafaellerg@brturbo.com.br (Endereço para correspondência)

2. Laboratório de Biologia Evolutiva, Departamento de Biologia do Centro de Ciências Naturais e Exatas (CCNE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Campus Universitário, Faixa de Camobi - km 9. Santa Maria, RS, Brasil. CEP: 97.119-900. ram13@terra.com.br.

ABSTRACT. GENETIC STRUCTURE OF NATURAL POPULATIONS OF *Parides Agavus* (DRURY) (LEPIDOPTERA: PAPILIONIDAE) OF CENTRAL REGION OF RIO GRANDE SUL, BRAZIL. The population structure from the genetic and evolutive view-point tries to quantify the morphologic and quantitative variability existing among the individuals, their reproductive behavior, and gene flow patterns, and the adaptative strategies to the local environment. The present study had as objective to describe the genetic population structure and the genetic variability found in natural populations of *Parides agavus* of Santa Maria region. For the study it was utilized polyacrylamide gel electrophoresis, for isozymes. Eighty-eight *P. agavus* adult individuals were collected in three localities in Santa Maria. Eleven genic loci were obtained totalizing 26 alleles. The genetic diversity levels presented by the populations of *P. agavus*, can be considered high if they are compared with other lepidoptera species. The index of fixation for the population set presented positive value suggesting the bias panmixia in the population set. The mean F_{ST} was low, indicating little genetic differentiation among the sampling populations suggesting high gene flow or that these ones originated themselves for irradiation of same population in the past. The genetic divergence between the pairs of populations agree with the values found to the genetic distance, these data can be effect of high dispersal specie or from a connexity of the studied areas, in the past.

The gene flow estimated is sufficient to maintain the low genetic differentiation among the populations of this species.

Keywords: population structure; isozymes; heterozygotes; genetic variability.

RESUMO A estrutura populacional do ponto de vista genético e evolutivo procura quantificar a variabilidade morfológica e quantitativa existente entre os indivíduos, seu comportamento reprodutivo, os padrões de fluxo gênico, e as estratégias adaptativas aos ambientes locais. O presente estudo teve como objetivo descrever a estrutura genética populacional e a variabilidade genética encontrada em populações naturais de *Parides agavus* da região de Santa Maria. Para o estudo utilizou-se eletroforese em gel de poliacrilamida para alozimas. Foram coletados 88 indivíduos adultos de *P. agavus* em três localidades de Santa Maria. Foram obtidos 11 locos gênicos totalizando 26 alelos. Os níveis de diversidade genética apresentados pelas populações de *P. agavus*, podem ser considerados altos se comparados com outras espécies de lepidópteros. O índice de fixação para o conjunto das populações apresentou valor positivo sugerindo desvio da panmixia no conjunto das populações. O F_{ST} médio foi baixo indicando pouca diferenciação genética entre as populações amostradas sugerindo um alto fluxo gênico entre as populações, outra suposição sugere que estas se originaram por radiação de uma mesma população no passado. A divergência genética entre os pares de populações concorda com os valores encontrados para a distância genética, estes dados podem ser efeitos da alta dispersão da espécie, ou de uma conectividade das áreas estudadas, no passado. O fluxo gênico aparente médio estimado é suficiente para manter a baixa diferenciação genética entre as populações desta espécie.

Palavras-chave: estrutura populacional; alozimas; heterozigosidade, variabilidade genética

INTRODUÇÃO

A estrutura populacional é universal entre organismos. Muitos organismos formam naturalmente subpopulações na forma de manadas, bandos, cardumes, colônias ou outros tipos de agregações (HARTL & CLARK, 1997). A espécie é normalmente constituída por um conjunto de populações locais, que variam em número e no padrão de distribuição espacial. A estrutura populacional do ponto de vista genético e evolutivo procura quantificar a variabilidade morfológica e quantitativa existente entre os indivíduos, seu comportamento reprodutivo, os padrões de fluxo gênico, e as estratégias adaptativas aos ambientes locais (MARTINS, 1987).

O estudo de marcadores moleculares (alozimas e DNA) tem colaborado de forma significativa como ferramenta auxiliar na definição do status taxonômico e populacional de várias espécies vegetais e animais (FERGUSON, 1980; TORGLER *et al.*, 1995; ALFENAS, 1998). Dos vários marcadores moleculares disponíveis na atualidade, as alozimas pela relativa simplicidade, rapidez e baixo custo das análises em relação aos outros marcadores, têm gerado uma gama de informações práticas (TEIXEIRA *et al.*, 2004). As alozimas podem ser de grande importância por fornecer informações genéticas e ecológicas reforçando inferências sobre aspectos específicos da estrutura populacional, especialmente sobre a estrutura de acasalamento e fluxo gênico efetivo (MURPHY *et al.*, 1990).

A espécie *Parides agavus* (Drury, 1782) já foi registrada na América do Sul no Paraguai, norte da Argentina e norte do Uruguai e no Brasil distribui-se no sul da região Nordeste, na região Centro-Oeste e na Região Sul (MORAIS & BROWN, 1992). Apresentam como planta hospedeira *Aristolochia triangularis* (Cham., 1832) (Aristolochiaceae), preferencialmente, de onde retiram substâncias secundárias tóxicas as quais retém na fase adulta (BROWN *et al.*, 1981; SCRIBER, 1984; MORAIS & BROWN, 1992). Estudos do ponto de vista ecológico e evolutivo foram realizados com populações naturais de *P. agavus* (BROWN

et al., 1981; SCRIBER, 1984; MORAIS & BROWN, 1992, SCHWARTZ *et al* 1995 a,b). PAIM & DI MARE (2002) ressaltam a importância de se realizar estudos sobre a variabilidade genética (heterozigosidade e polimorfismo enzimático) para se determinar a contribuição do padrão espacial das populações naturais de *P. agavus* sobre a organização da variabilidade (estrutura genética).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a variabilidade genética encontrada em populações naturais de *Parides agavus* em três localidades de Santa Maria, analisando a distância genética entre as populações estudadas, bem como descrever a estrutura genética populacional desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Organismos estudados

A espécie *Parides agavus* (Drury, 1782) pertence a família Papilionidae que apresenta as borboletas mais familiares para a maior parte das pessoas. Também são conhecidas como “borboletas rabo de andorinha”, são grandes, conspícuas e frequentemente observadas visitando flores (BROWN & FREITAS, 1999). Esta espécie também apresenta formas aberrantes e participa de anéis miméticos (MORAIS & BROWN, 1992; TYLER *et al.*, 1994).

MORAIS & BROWN (1992), sugerem que *P. agavus* é limitada a habitats úmidos e sombreados. Utiliza preferencialmente *Aristolochia triangularis* (Cham., 1832) (Aristolochiaceae) como planta hospedeira, onde as fêmeas colocam seus ovos. Apresentam ovos aposemáticos que possuem faixas ou manchas irregulares com cobertura vermelha, as larvas apresentam tubérculos amarelos, (TYLER *et al.*, 1994) e uma glândula epidérmica eversível localizada próximo à cabeça chamada osmetério, que é evertida quando a larva é perturbada, liberando substâncias voláteis (STAMP, 1986). As pupas apresentam coloração amarelada com um cinturão grená lembrando uma folha murcha (TYLER *et al.*, 1994).

PAIM & DI MARE (2002) sugerem que *P. agavus* apresenta um alto grau de residencialidade e baixa dispersão. Estes autores verificaram que os indivíduos de *P. agavus* demonstram uma dispersão mais ou menos restrita. Embora seus movimentos dentro das áreas de vida sejam intensos (SCHWARTZ & DI MARE, 2001).

Os indivíduos de *P. agavus* em estudos realizados no Sul do Brasil apresentaram expectativa média de vida de 4,8 dias e longevidade média de 7,98 dias (PAIM & DI MARE, 2002). D'ALMEIDA (1966) ao estudar populações desta espécie no Rio de Janeiro registrou cinco gerações anuais.

Trabalho de campo

No período de janeiro a março de 2006 foram coletados 88 indivíduos adultos (Tab. I) de *Parides agavus* em três localidades de Santa Maria – RS, situadas entre os paralelos 53°10' e 54°40'W e 29°00' e 29°20'S. As localidades Rincão do Canto (RC), Rincão do Soturno (RS) e Cechela (CH), estão localizadas em áreas remanescentes da Floresta Decidual e Semidecidual da Serra Geral.

Tabela I. Número de indivíduos coletados de *Parides agavus* em cada localidade no Sul do Brasil.

Localidade	N° machos	N° fêmeas	Total
Rincão do Canto (RC)	47	5	52
Rincão do Soturno (RS)	17	13	30
Cechela (CH)	3	3	6
Total	67	21	88

Para a coleta dos indivíduos nas três localidades foram utilizadas redes entomológicas convencionais. Cada espécime foi acondicionado individualmente em envelopes de papel glicerinado, com numeração contínua, local de coleta e sexo. Os envelopes foram mantidos

em um recipiente de isopor para impedir o estresse causado pela temperatura e deslocamento durante o transporte. No laboratório de Biologia Evolutiva da UFSM, os indivíduos foram congelados a -10°C até a sua utilização para a eletroforese.

Análise eletroforética

Para a análise eletroforética foi utilizado apenas o abdômen dos indivíduos adultos, que foram macerados com nitrogênio líquido e 500 μl de solução extratora preparada com tampão do gel e mercaptoetanol 2%. As amostras foram absorvidas em papel Whatman nº 3 (4 mm x 4 mm) e aplicadas em gel de poliacrilamida com concentração 7%. O tampão utilizado no eletrodo foi Lítio - Borato pH 8,3 e no tampão do gel Tris - Ácido Cítrico pH 8,3. A corrida eletroforética foi realizada a temperatura de 4°C durante aproximadamente quatro horas sobre uma corrente de 160V.

Foram examinados três sistemas enzimáticos: Esterase (EST – EC 3.1.1.1), Fosfatase Ácida (ACP – EC 3.1.3.2) e Malato Desidrogenase (MDH – EC 1.1.1.37). Para o sistema de esterase foram utilizados dois substratos α - naftil acetato e β - naftil acetato, separadamente. Depois de realizadas as corridas os géis foram mergulhados na solução reveladora correspondente para cada sistema durante aproximadamente uma hora. Posteriormente foram retirados da solução reveladora e colocados na solução fixadora.

Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o programa GENITIX v.4.03 desenvolvido pela Delphi TM versão 5.0. A diversidade genética foi caracterizada a partir das estimativas das frequências alélicas, heterozigosidade média observada (H_o), heterozigosidade média esperada (H_e) sobre o equilíbrio de Hardy – Weinberg (NEI, 1978) das populações e índice de

fixação de Wright (F). Estes coeficientes foram calculados para todas as populações amostradas. Também foi calculada a distância genética entre as populações (NEI, 1978).

Para verificar a diferenciação genética intra e interpopulacional foi utilizada a estatística F (WEIR & COCKERHAM, 1984). Esta estatística assume três parâmetros: (1) F_{IS} , estima a correlação dos genes dos indivíduos dentro de uma população; (2) F_{ST} , estima a correlação dos genes entre indivíduos de uma população em relação ao conjunto das populações; e (3) F_{IT} , estima a correlação dos genes dos indivíduos no total da população.

Para a interpretação do F_{ST} , utilizamos a sugerida por WRIGHT (1978): variação de 0 a 0,05 considera-se indicadora de pequena diferenciação genética; variação de 0,05 a 0,15 indica diferenciação genética moderada; variação de 0,15 a 0,25 indica grande diferenciação genética; valores de F_{ST} acima de 0,25 indicam enorme diferenciação genética.

O fluxo gênico aparente foi estimado pela fórmula (WRIGHT, 1969):

$$Nm = (1 - F_{ST}) / 4 * F_{ST}$$

Onde: Nm é a quantidade de migrantes, e F_{ST} é a divergência entre populações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Freqüências alélicas

Através dos três sistemas enzimáticos estudados foram obtidos 11 locos (Tab. II), todos polimórficos em todas as populações estudadas, caracterizados por 26 alelos. Na Tabela III são apresentadas às freqüências alélicas obtidas com as três populações de *Parides agavus* utilizadas para estimar a variabilidade genética.

Nos locos α EST1, β EST1 e MDH2 as freqüências alélicas foram semelhantes para as três populações. Já os locos ACP2, α EST2, α EST3, α EST4, MDH1 e MDH3 apresentam algumas diferenças, pois os alelos mais freqüentes para estes locos não são os mesmos em todas as populações, isso também acontece em relação aos alelos menos freqüentes destes

locos (Tab. III). Estes resultados indicam um nível de diferenciação entre estas populações. CASSEL & TAMMARU (2002) sugeriram que as diferenças nas frequências alélicas encontradas em um dos locos estudados nas populações de *Coenonympha hero* (Linneaus, 1761) é indício de diferenciação entre estas populações.

Tabela II. Sistemas enzimáticos utilizados em indivíduos adultos (machos e fêmeas) de populações naturais de *Parides agavus*, número de locos observados.

Sistemas enzimáticos	Número de locos	Estrutura da enzima
ACP	2	Monomérica
MDH	3	Monomérica
α - EST	4	Monomérica
β - EST	2	Monomérica
Total	11	

Nas populações analisadas foram observadas baixas frequências alélicas em três locos (ACP1, MDH1 e MDH2). Em RC as menores frequências foram do alelo 2 do loco ACP1 (0,039) e do alelo 1 do loco MDH1 (0,039). Na população RS a menor frequência foi do alelo 2 do loco ACP1 (0,086). Na população CH as menores frequências foram do alelo 1 do loco MDH1 (0,083) e do alelo 2 do loco MDH2 (0,083).

O alelo 2 do loco ACP1 está ausente na população CH. Entretanto, quando observamos os dados deste loco para as populações RC e RS constatamos que sua frequência é baixa (0,039 e 0,086, respectivamente). No loco β EST2 ocorre a ausência do alelo 2 nas populações RS e CH, que também aparece com baixa frequência na população RC (0,106). É importante ressaltar que estes alelos podem não estar presentes na população CH devido ao baixo número da amostra (n=6), porém em RS o número da amostra (n=30) não justificaria esta ausência. Ao analisar estes resultados, observou-se que alguns alelos ausentes em uma população são detectados com baixa frequência noutra. Isso pode ser indicativo da deriva genética e permite supor que a redução no tamanho dessas populações poderá acarretar diminuição na variabilidade genética desta espécie. BOTREL *et al.* (2006) estudando

populações de *Calophyllum brasiliense* (Camb.) espécies arbóreas de mata ciliar obtiveram dados semelhantes para alguns locos estudados. Entretanto, a ausência ou baixa frequência de alguns alelos nas populações amostradas de *P. agavus* pode ter ocorrido devido a efeitos decorrentes da amostragem realizada.

Tabela III. Frequências alélicas para as três populações de *Parides agavus* no Sul do Brasil, onde (n) é o tamanho da amostra.

População	Alelo	Locus:										
		ACP1	ACP2	α EST1	α EST2	α EST3	α EST4	β EST1	β EST2	MDH1	MDH2	MDH3
RC	1	0,686 ₍₅₁₎	0,186 ₍₅₁₎	0,442 ₍₅₂₎	0,490 ₍₅₂₎	0,567 ₍₅₂₎	0,622 ₍₄₉₎	0,163 ₍₅₂₎	0,740 ₍₅₂₎	0,039 ₍₅₁₎	0,769 ₍₃₉₎	0,615 ₍₃₉₎
	2	0,039 ₍₅₁₎	0,500 ₍₅₁₎	0,558 ₍₅₂₎	0,510 ₍₅₂₎	0,433 ₍₅₂₎	0,378 ₍₄₉₎	0,836 ₍₅₂₎	0,106 ₍₅₂₎	0,686 ₍₅₁₎	0,231 ₍₃₉₎	0,385 ₍₃₉₎
	3	0,274 ₍₅₁₎	0,314 ₍₅₁₎	—	—	—	—	—	0,154 ₍₅₂₎	0,274 ₍₅₁₎	—	—
RS	1	0,500 ₍₂₉₎	0,500 ₍₂₉₎	0,233 ₍₃₀₎	0,567 ₍₃₀₎	0,690 ₍₂₉₎	0,465 ₍₂₉₎	0,150 ₍₃₀₎	0,617 ₍₃₀₎	0,133 ₍₃₀₎	0,800 ₍₃₀₎	0,417 ₍₃₀₎
	2	0,086 ₍₂₉₎	0,276 ₍₂₉₎	0,767 ₍₃₀₎	0,433 ₍₃₀₎	0,310 ₍₂₉₎	0,534 ₍₂₉₎	0,850 ₍₃₀₎	0,000 ₍₃₀₎	0,750 ₍₃₀₎	0,200 ₍₃₀₎	0,583 ₍₃₀₎
	3	0,414 ₍₂₉₎	0,224 ₍₂₉₎	—	—	—	—	—	0,383 ₍₃₀₎	0,117 ₍₃₀₎	—	—
CH	1	0,667 ₍₆₎	0,167 ₍₆₎	0,125 ₍₄₎	0,583 ₍₆₎	0,400 ₍₅₎	0,333 ₍₆₎	0,250 ₍₆₎	0,500 ₍₆₎	0,083 ₍₆₎	0,917 ₍₆₎	0,583 ₍₆₎
	2	0,000 ₍₆₎	0,500 ₍₆₎	0,875 ₍₄₎	0,417 ₍₆₎	0,600 ₍₅₎	0,667 ₍₆₎	0,750 ₍₆₎	0,000 ₍₆₎	0,500 ₍₆₎	0,083 ₍₆₎	0,417 ₍₆₎
	3	0,333 ₍₆₎	0,333 ₍₆₎	—	—	—	—	—	0,500 ₍₆₎	0,417 ₍₆₎	—	—
Total/ alelos	26											

Índices de diversidade genética

Na Tabela IV estão apresentados os parâmetros estimados a partir das frequências alélicas dos 11 locos utilizados para avaliar a diversidade genética: heterozigidade observada (H_o), heterozigidade esperada (H_e) e índices de fixação de Wright (F).

A heterozigidade observada variou de 0,394 a 0,595 enquanto a esperada variou de 0,433 a 0,454 (Tab. IV). Estes níveis apresentados pelas populações de *P. agavus*, podem ser considerados altos se comparados com outras espécies de lepidópteros. Em *Coenonympha hero* variou de 0,003 a 0,068 (CASSEL & TAMMARU, 2002); *Aglais urticae* (Linnaeus, 1758) apresentou heterozigidade média de 0,248 (VANDEWOESTIJNE *et al.*, 1999); WYNNE *et al.* (2003) encontraram para *Epirrita dilutata* (Dennis & Schiffermüller, 1775) heterozigidade média de 0,134 e para *E. christyi* (Allen, 1906) heterozigidade média de 0,063; para

Polyommatus coridon (Poda, 1761) a heterozigosidade variou de 0,146 a 0,195 (KRAUSS *et al.*, 2004).

Tabela IV. Número amostrado (N), média da heterozigosidade obtida (Ho), média da heterozigosidade esperada (He) e índice de fixação de Wright (F) para as três populações de *Parides agavus* no Sul do Brasil.

População	RC	RS	CH	Média
n	52	30	6	29,333
Ho	0,394	0,408	0,595	0,466
He	0,454	0,446	0,433	0,444
F	0,132	0,085	-0,374	-0,157

Valores com uma variação semelhante ou maior que os encontrados para *P. agavus* foram verificados por HOOLE *et al.* (1999) estudando populações naturais de *Papilio machaon* (Linnaeus, 1758) onde a heterozigosidade variou de 0,364 a 0,476. Estes autores consideram estes valores de heterozigosidade altos para espécies que foram reduzidas a algumas colônias com uma pequena área geográfica por muitas gerações. Esta alta variabilidade genética pode possibilitar a ocorrência de um grande número de novas combinações genotípicas, aumentando o potencial evolutivo da espécie, pela maior capacidade de adaptação às possíveis mudanças ambientais. Em *Diatraea saccharalis* a heterozigosidade variou de 0,548 a 0,655 (RUVOLO-TAKASUSUKI *et al.*, 2002), para *Danaus plexippus* (Linnaeus, 1758) a heterozigosidade variou de 0,353 a 0,427 (SHEPHARD *et al.*, 2002), sendo maior ou similar à heterozigosidade encontrada para *P. agavus*, sugerindo uma alta diversidade genética.

As heterozigosidades observadas foram inferiores às esperadas para as populações RS e RC, revelando um excesso de homocigotos com relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Esse excesso de homocigotos é evidenciado pelos valores positivos dos índices de fixação (F) nas duas populações. Na população CH a heterozigosidade obtida foi maior que a esperada, sugerindo um excesso de heterocigotos corroborando com o índice de fixação negativo (F), porém este resultado pode estar relacionado ao baixo número de indivíduos amostrados (n=6).

Entretanto, as diferenças entre a heterozigosidade observada e esperada, não são estatisticamente significativas em nenhuma das três populações.

Os índices de fixação de Wright (F) variaram de -0,374 a 0,132. O valor de F negativo encontrado na população CH sugere um excesso de heterozigotos, porém este valor pode estar associado ao baixo número de indivíduos amostrados.

Estrutura genética das populações estudadas

Os valores da estatística F (WEIR & COCKERHAM, 1984) por loco para as populações de *Parides agavus* são apresentados na Tabela V. O índice médio de fixação dentro das populações (F_{IS}) apresentou valor positivo (0,099) não concordando com o F médio de Wright (-0,157) que se apresentou negativo. Esta discordância pode ser atribuída ao baixo número de indivíduos amostrados na população CH.

Tabela V. Estimativa das estatísticas F de Wright (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}) por loco para as três populações de *Parides agavus* no Sul do Brasil.

Loco	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
ACP1	0,354	0,364	0,017
ACP2	0,580	0,607	0,066
α EST1	-0,245	-0,140	0,084
α EST2	-0,129	-0,137	-0,007
α EST3	0,297	0,309	0,016
α EST4	-0,028	0,017	0,044
β EST1	-0,186	-0,197	-0,010
β EST2	0,091	0,157	0,072
MDH1	0,420	0,434	0,025
MDH2	-0,088	-0,094	-0,005
MDH3	-0,316	-0,253	0,048
Média	0,099	0,132	0,035

O índice de fixação para o conjunto das populações (F_{IT}) apresentou valor positivo (0,132) sugerindo um desvio da panmixia no conjunto das populações. HOOLE *et al.*, (1999) encontraram em populações de *Papilio machaon* um F_{IT} igual a 0,156.

O F_{ST} médio foi baixo (0,035) o que indica pouca diferenciação genética entre as populações amostradas. Uma explicação para este resultado pode ser que estas populações apresentam grande fluxo gênico, característica comum em espécies que possuem alta dispersão. SCHWARTZ & DI MARE, (2001) em trabalho realizado com *P. agavus* relatam que esta espécie apresenta movimentos bastante intensos dentro das áreas, tornando esta hipótese aceitável. Segundo VANDERWOESTIJNE *et al.* (1999) o fluxo gênico neutralizaria os efeitos da deriva genética e seleção resultando na “homogeneização” da composição genética das populações. Entretanto esta explicação não concorda com o observado por PAIM & DI MARE (2002) em estudo realizado com *P. agavus* onde constataram que indivíduos capturados em uma área raramente eram recapturados em outras áreas indicando uma alta residencialidade e baixa dispersão. Desta forma teríamos uma segunda hipótese para o valor de F_{ST} obtido, pois SLATKIN (1981) explica a pouca diferenciação genética, entre populações com baixo fluxo gênico, pelo modelo de radiação, onde uma única população em algum tempo no passado radiou em várias populações não trocando migrantes atualmente. Neste modelo alelos presentes na população inicial podem ser perdidos ou tornarem-se comuns devido a deriva genética.

MALLET (1986) em estudos com *Heliconius erato* em sítios de eclosão de pupas verificou que a maioria dos movimentos ocorreu antes da primeira captura de um indivíduo em estudos de marca-recaptura. Este autor encontrou neste estudo um parâmetro de dispersão duas vezes maior que em estudos de marca-recaptura, sugerindo que a dispersão é maior logo após a eclosão destas borboletas. Este fato explicaria a divergência encontrada neste trabalho e o estudo com *P. agavus* realizado por PAIM & DI MARE (2002).

Distância genética

A distância genética (NEI, 1978) estimada para as três populações de *P. agavus* aos pares (Tab. VI) foi pequena, sendo menor entre CH e RS (0,016) e CH e RC (0,021) e maior entre RC e RS (0,039). A divergência genética entre os pares de populações (F_{ST}) concorda com os valores encontrados para a distância genética com o valor mais baixo foi entre CH e RS (0,017), seguido de CH e RC (0,020) e o maior entre RC e RS (0,042), estes valores apresentados também são muito baixos. A distância geográfica entre as áreas onde se encontram as populações estudadas varia entre 2239m a 3288m, sendo menor entre CH e RC (2239m) e RC e RS (2863m) e maior entre CH e RS (3288m). Estes valores não concordam com a distância genética entre as populações, porém isto pode ser devido à amostra de CH onde foram capturados poucos indivíduos.

Os resultados mostram que a distância geográfica não se mostrou suficiente para impedir o fluxo gênico entre as populações estudadas mantendo desta forma uma similaridade genética entre elas. Esta seria a explicação levando em conta espécies que apresentam grande dispersão (a mais aceitável). Entretanto os dados obtidos podem sugerir que as áreas onde estas populações são encontradas estariam conectadas no passado sendo posteriormente fragmentadas. Estudos mais detalhados com *P. agavus* e com outras espécies devem ser feitos nestas áreas para comprovar tal conectividade passada. WYNNE *et al.* (2003) estudando *Epirrita dilutata* em bosques de Rothamsted encontraram baixos valores de F_{ST} entre as populações e sugeriram que este dado refletiria uma conectividade histórica destes bosques no passado, em vez de fluxo gênico entre os mesmos. Os autores sugerem ainda que o nível de diferenciação, devido a deriva genética, é baixo mesmo que o fluxo gênico seja ausente entre as populações contemporâneas.

Tabela VI. Valores de F_{ST} entre pares de populações (matriz triangular superior) e distância genética de Nei, 1978 entre populações de *Parides agavus* (matriz triangular inferior).

	RC	RS	CH
RC		0,042	0,020
RS	0,039		0,017
CH	0,021	0,016	

Fluxo gênico

O fluxo gênico aparente médio estimado para as populações amostradas foi de $Nm=6,89$ migrantes por geração. A estimativa do fluxo gênico (WRIGHT, 1969) entre os pares de populações mostrou-se menor entre RC e RS (5,77), maior entre CH e RS (14,17) e CH e RS (12,17). Os valores de Nm aos pares com a população CH parecem diferir do fluxo gênico médio, porém devemos levar em consideração o baixo número amostral da população CH. Segundo SLATKIN & BARTON (1989), os valores de Nm determinam se a deriva genética pode produzir variabilidade genética substancial entre locais. Os valores obtidos neste estudo para o fluxo gênico aparente médio estimado e fluxo gênico aos pares de populações mostram-se suficiente para impedir que as populações difiram entre si por deriva genética somente.

CONCLUSÕES

Os resultados revelam que as populações de *Parides agavus* amostradas apresentam uma alta diversidade genética. O estudo da estrutura genética mostra que a maior parte da variabilidade genética está dentro das populações. As três populações analisadas apresentam baixa divergência genética, significando que estas são bastante similares. Este dado sugere que as populações apresentam alto fluxo gênico ou ainda podem ter radiado de uma mesma população no passado. A distância genética encontrada concorda com a divergência genética das populações aos pares, porém não concorda com a distância com a distância geográfica. A baixa distância genética entre as populações estudadas reflete um alto nível de fluxo gênico mantendo uma homogeneidade genética entre as mesmas. Outra explicação seria devido ao

fato que as áreas estudadas estariam conectadas no passado. Porém faz-se necessário estudo mais detalhado sobre tal hipótese. O fluxo gênico aparente médio estimado e o fluxo gênico aos pares de populações mostram-se suficiente para impedir a diferenciação entre as populações estudadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem: à Dra. Ana Beatriz B. Morais, pelas sugestões e revisão do projeto inicial; à Dra. Neiva Maria Frizon Auler pelas sugestões e colaboração durante o desenvolvimento do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C. 1998. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**. Viçosa: UFV. 554p.

BOTREL, M. C. G.; A. M. SOUZA; D. CARVALHO; S. I. C. PINTO; M. C. O. MOURA & R. A. ESTOPA. 2006. Caracterização genética de *Calophyllum brasiliense* Camb. em duas populações de mata ciliar, **Árvore**, Viçosa, **30** (5): 821-827.

BROWN JR, K. S.; H. J. DAMMAN & P. FEENY. 1981. Troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) in Southeastern Brazil: natural history and foodplant relationships. **Journal of Research on the Lepidoptera**, Arcadia, (19): 137-159.

BROWN, K. S. & A. V. L. FREITAS. 1999. Lepidoptera. p. 227-243. *In*: BRANDÃO, C. R. F. & E. M. CANCELO. **Biodiversidade do estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX** (invertebrados terrestres), São Paulo: FAPESP.

CASSEL, A. & T. TAMMARU. 2002. Allozyme variability in central, peripheral and isolated populations of the scarce heath (*Coenonympha hero*: Lepidoptera, Nymphalidae); implications for conservation. **Conservation genetics**, **00**: 1-11.

D'ALMEIDA, R. F. 1966. **Catálogo dos papilionídeos americanos**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Entomologia. 366p.

FERGUSON, A. 1980. **Biochemical systematics and evolution**. Blackie Glasgow and London. 194p.

HARTL, D. L. & A. G. CLARK. 1997. **Principles of population genetics**. 3.ed. Canadá Sinauer Associates. 542p.

HOOLE, J. C.; D. A. JOYCE & A. S. PULLIN. 1999. Estimates of gene flow between populations of the swallowtail butterfly, *Papilio machaon* in Broadland, UK and implications for conservation. **Biological Conservation**, **89**: 293-299.

KRAUSS, J.; T. SCHMITT; A. SEITZ; I. STEFFAN-DEWENTER & T. TSCHARNTKE. 2004. Effects of habitat fragmentation on the genetic structure of the monophagous butterfly *Polyommatus coridon* along its northern range margin. **Molecular Ecology**, **13**: 311-320.

MALLET, J. 1986. Dispersal and gene flow in a butterfly with home range behavior: *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Oecologia**, **68** (2): 210-217.

MARTINS, P. S. 1987. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação “in situ”. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, (35): 71-78.

MORAIS, A. B. B. & K. S. BROWN JR. 1992. Larval food plant and others effects on troidini guild composition (Papilionidae) in Southeastern Brazil. **Journal of Research on the Lepidoptera**, Arcadia, **30** (1-2): 19-37.

MURPHY, R. W.; J. W. SITES JR.; D. G. BUTH & C. H. HAUFLE. 1990. Proteins I: isozyme electrophoresis. p. 45-126. *In*: HILLIS, D. M. & C. MORITZ (Ed.). **Molecular Systematics**, Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc.

NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, **89**: 583-590.

PAIM, A. C. & R. A. DI MARE. 2002. Ecologia de papilionidae, I: Parâmetros biológicos e demográficos de *Parides agavus* (Papilioninae, Troidini) no sul do Brasil. **Biociências**, Porto Alegre, **10** (2): 33-48.

RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C.; M. F. P. S. MACHADO & H. CONTE. 2002. Esterase-3 polymorphism in the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera, Pyralidae). **Genetics and Molecular Biology**, **25** (1): 61-64.

SCHWARTZ, G.; A. C. PAIM & R. A. DI MARE. 1995a. Padrões de variação quantitativa na morfologia das asas de três espécies de Troidini (Lepidoptera; Papilionidae) em populações naturais de Santa Maria, RS. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, **18** (3): 306. (suplemento)

SCHWARTZ, G.; A. C. PAIM & R. A. DI MARE. 1995b. Estudo comparativo da variação da massa em quinze espécies de papilionídeos (Lepidoptera; Papilionidae) na região central do estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, **18** (3): 306. (suplemento)

SCHWARTZ, G. & R. A. DI MARE. 2001. Diversidade de quinze espécies de borboletas (Lepidoptera, Papilionidae) em sete comunidades de Santa Maria, RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, **31** (1): 49-55.

SCRIBER, J. M. 1984. Larval foodplant utilization by the world Papilionidae (Lepidoptera): latitudinal gradient reappraised. **Tokurana**, **6-7**: 1-50.

SHEPHARD, J. M.; J. M. HUGHES & M. P. ZALUCKI. 2002. Genetic differentiation between Australian and North American populations of the monarch butterfly *Danaus plexippus* (L.) (Lepidoptera: Nymphalidae): an explorations using allozyme electrophoresis. **Biological Journal of the Linnean Society**, **75**: 437-452.

SLATKIN, M. 1981. Estimating levels of gene flow in natural populations. **Genetics**, **99**: 323-335.

SLATKIN, M. & N. H. A. BARTON. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, **43** (7): 1349-1368.

STAMP, N. E. 1986. Physical constraints of defense in response to invertebrate predators by pipevine caterpillars (*Battus philenor*: Papilionidae). **Journal of the Lepidopterists' Society**, **40**: 191-205.

TEIXEIRA, A. S.; L. S. CHAVES & K. YUYAMA. 2004. Esterases no exame da estrutura populacional de camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunt) McVaugh-Myrtaceae). **Acta Amazonica**, **34** (1): 89-96.

TYLER, H. A.; K. S. BROWN JR & K. H. WILSON. 1994. **Swallowtail butterflies of the Americas**, Gainesville: Scientific Publishers. 360p.

TORGGLER, M. G. F.; E. P. B. CONTEL & S. P. TORGGLER. 1995. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 175p.

VANDEWOESTIJNE, S.; G. NEVE & M. BAGUETTE. 1999. Spatial and temporal population genetic structure of the butterfly *Aglais urticae* L. (Lepidoptera, Nymphalidae). **Molecular Ecology**, **8**: 1539-1543.

WEIR, B. S. & C. C. COCKERHAN. 1984. Estimating F-Statistics for the analysis of populations structure. **Evolution**, **38** (6): 1358-1370.

WYNNE, I. R.; H. D. LOXDALE; C. P. BROOKES & I. P. WOIWOD. 2003. Genetic structure of fragmented November moth (Lepidoptera: Geometridae) populations in Farmland. **Biological Journal of the Linnean Society**, **78**: 467-477.

WRIGHT, S. 1969. **Evolution and the genetics of populations II. The theory of gene frequencies**. Chicago: University of Chicago Press.

WRIGHT, S. 1978. **Evolution and the genetics of populations IV. Variability within and among natural populations**. Chicago: University of Chicago Press.

3. CONCLUSÕES

O presente estudo mostra que as populações *Parides agavus* da região de Santa Maria amostradas apresentam um nível de diferenciação genética. Alelos ausentes ou presentes em baixa frequência nas populações indicam ação da deriva genética e a redução destas populações pode levar a diminuição da variabilidade genética desta espécie.

Por outro lado, a heterozigosidade observada para estas populações sugere grande variabilidade genética, o que possibilita um aumento do potencial evolutivo, pela maior capacidade de adaptação às possíveis mudanças ambientais.

As populações amostradas revelaram desvio da panmixia no conjunto das populações. A baixa divergência genética entre as populações se deve à alta dispersão da espécie ou à radiação de uma população ancestral que deu origem as populações atuais. O fluxo gênico aparente médio estimado e o fluxo gênico das populações aos pares mostram-se suficiente para impedir a diferenciação entre as populações estudadas.

Os valores referentes a distância genética das populações mostra grande fluxo gênico entre as populações. Porém não descartamos a hipótese de que possivelmente as áreas estudadas estariam conectadas no passado sendo fragmentadas no período atual, fato este que só poderá ser confirmado com estudos futuros utilizando outras espécies e talvez outros tipos de marcadores genéticos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERY, P. R.; VANE-WRIGHT, R. I. **Milkweed Butterflies: their Cladistics and Biology**. New York: Comstock Publishing Associates, Ithaca, 1984. 425p.

ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: UFV, 1991. 242p.

ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**. Viçosa: UFV, 1998. 554p.

BOTREL, M. C. G.; SOUZA, A. M.; CARVALHO, D.; PINTO, S. I. C.; MOURA, M. C. O.; ESTOPA, R. A. Caracterização genética de *Calophyllum brasiliense* Camb. em duas populações de mata ciliar. **Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 821-827, 2006.

BRITTEN, H. B.; BRUSSARD, P. F.; MURPHY, D. D. Isozyme data and the taxonomy of Checkerspot butterflies (*Euphydryas*). **Journal of Research on the Lepidoptera**, n. 32, p. 124-134, 1993.

BROWER, L. P.; BROWER, J. V. Z. Birds, butterflies and plant poisons: a study in ecological chemistry. **Zoologica**, New York, v. 49, p. 137-159, 1964.

BROWN JR, K. S.; DAMMAN; H. J.; FEENY, P. Troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) in Southeastern Brazil: natural history and foodplant relationships. **Journal of Research on the Lepidoptera**, Arcadia, n. 19, p. 137-159, 1981.

BROWN, K. S.; FREITAS, A. V. L. Lepidoptera. In: BRANDÃO, C. R. F.; CANCELLO, E. M. **Biodiversidade do estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX** (invertebrados terrestres). São Paulo: FAPESP, 1999.

BURNS, J. M.; JOHNSON, F. M. Esterase polymorphism in the butterfly *Hemiargus isola*: stability in a variable environment. **Proceedings of National Academy of Science**, USA, n. 68, p. 34-37, 1971.

CASSEL, A.; TAMMARU, T. Allozyme variability in central, peripheral and isolated populations of the scarce heath (*Coenonympha hero*: Lepidoptera, Nymphalidae), implications for conservation. **Conservation genetics**, v. 00, p. 1-11, 2002.

COLLINS, M. M.; BRITTEN, H. B.; RIVERS, V. Allozyme analysis of a know hybrid zone between *Hyalophora euryalus* and *H. columbia gloveri* (Lepidoptera: Saturniidae) in the California Sierra Nevada. **Journal of Research on the Lepidoptera**, n. 32, p. 79-88, 1993.

DAVIS, B. J. Disc electrophoresis II. Methods and application to human serum proteins. **Annals N. Y. Academic Science**, n. 121, p. 404-427, 1964.

D'ALMEIDA, R. F. **Catálogo dos papilionídeos americanos**. São Paulo, 1966. 366p.

DONGEN, S. D.; BACKELJAU, T.; MATTHYSEN, E.; DHONDT, A. A. Genetic population structure of the winter moth (*Operophtera brumata* L.) (Lepidoptera, Geometridae) in a fragmented landscape. **Heredity**, n. 80, p. 92-100, 1998.

FERGUSON, A. **Biochemical systematics and evolution**. Blackie Glasgow and London, 1980. 194p.

FERREIRA, M. A. J. F. **Utilização das técnicas de marcadores moleculares na genética de populações, na genética quantitativa e no melhoramento de plantas**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2003. 63p. (Documentos, 1).

HAAG, K. L.; ARAÚJO, A. M.; ZAHA, A. Genetic structure of natural populations of *Dryas iulia* (Lepidoptera: Nymphalidae) revealed by enzyme polymorphism and mitochondrial DNA (mtDNA) restriction fragment length polymorphism (RFLP). **Biochemical Genetics**, v. 31, n. 9-10, 1993.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Principles of population genetics**. 3.ed. Canadá: Sinauer Associates, 1997. 542p.

HIGGINS, L. G. A revision of the genus *Euphydryas* Scudder (Lepidoptera: Nymphalidae). **Entomologist's Gazette**, v. 29, p. 109-115, 1978.

HOOLE, J. C.; JOYCE, D. A.; PULLIN, A. S. Estimates of gene flow between populations of the swallowtail butterfly, *Papilio machaon* in Broadland, UK and implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 89, p. 293-299, 1999.

JOHNSON, G. B. Polymorphism and predictability at the α -glicerophosphate desidrogenase locus in *Colias* butterflies: Gradients in allele frequency within single population. **Biochemical Genetics**, v. 14, p. 403-426, 1976.

KRAUSS, J; SCHMITT, T.; SEITZ, A.; STEFFAN-DEWENTER, I.; TSCHARNTKE, T. Effects of habitat fragmentation on the genetic structure of the monophagous butterfly *Polyommatus coridon* along its northern range margin. **Molecular Ecology**, v. 13, p. 311-320, 2004.

KRONFORST, M. R.; FLEMING, T. H. Lack of genetic differentiation among widely spaced subpopulations of a butterfly with home range behavior. **Heredity**, n. 86, p.243-250, 2001.

LIMA, F. A. M. **Polimorfismos Enzimáticos e Estrutura Populacional em *Heliconius erato* (Lepidoptera; Nymphalidae)**. 1979. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1979.

LIMA, F. A. M. & ARAUJO, A. M. Studies on the genetics and ecology of *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae). II. Inheritance of esterases and genotypic distribution in a natural population. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, n. 5, v. 4, p. 679-686, 1982.

LORKOVIC, Z, Enzyme eletrophoresis and interespecific hybridization in Pieridae (Lepidoptera). **Journal of Research on the Lepidoptera**, Arcadia, n. 24, v. 4, p. 334-358, 1986.

LUTZ, L. V. **Interações mímicos modelos em populações naturais de papilionídeos**. 1993. 102f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1993.

MALLET, J. Dispersal and gene flow in a butterfly with home range behavior: *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Oecologia**, n. 2, v.68, p. 210-217, 1986.

MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação “in situ”. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, n. 35, p.71-78, 1987.

McALISTER-HENN, L. Malate dehydrogenase isoenzymes: cellular locations and role in the flow of metabolites between the cytoplasm and cell organelles. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1100, p. 217-234, 1992.

MILLER, J. S. Phylogenetic studies in the Papilioninae (Lepidoptera, Papilionidae). **B. Am. Mus. Nat. Hist.**, v. 186, p. 365-512, 1987.

MORAIS, A. B. B. **Interação entre Troidini (Lepidoptera: Papilionidae) e Aristolochia (Aristolochiaceae) em Campinas, São Paulo**. 1986. 153f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1986.

MORAIS, A. B. B.; BROWN JR., K. S. Larval food plant and others effects on troidini guild composition (Papilionidae) in Southeastern Brazil. **Journal of Research on the Lepidoptera**, Arcadia, n. 30, v. 1-2, p. 19-37, 1992.

MURPHY, R. W.; SITES JR., J. W.; BUTH, D. G.; HAUFLER, C. H. Proteins I: isozyme electrophoresis. p. 45-126. *In*: HILLIS, D. M.; MORITZ, C. (Ed.). **Molecular Systematics**, Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 1990.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, p. 583-590, 1978.

NEIGEL, J. E. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. **Annu. Rev. Ecol. Syst.**, n. 28, p.105-128, 1997.

NÈVE, G.; BARASCUD, B.; DESCIMON, H.; BAGUETTE, M. Genetic structure of *Procllossiana eunomia* populations at the regional scale (Lepidoptera, Nymphalidae). **Heredity**, n. 84, p. 657-666, 2000.

PAIM, A. C.; DI MARE, R. A. Ecologia de papilionidae, I: Parâmetros biológicos e demográficos de *Parides agavus* (Papilioninae, Troidini) no sul do Brasil. **Biociências**, Porto Alegre, n. 10, v. 2, p. 33-48, 2002.

PERES, M. D.; RENESTO, E. Genetic variability in a *Leporinus lacustris* Campos, 1945 (Osteichthyes: Anostomidae) population from *Lagoa do Carão* (Upper Paraná River floodplain), Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 79-84, jan/mar, 2005.

RESENDE, A. G.; VIDIGAL FILHO, P. S.; MACHADO, M. F. P. S. Esterase polymorphism marking cultivars of *Manihot esculenta*, Crantz. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 3, p. 347-353, 2004.

RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C.; MACHADO, M. F. P. S.; CONTE, H. Esterase-3 polymorphism in the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera, Pyralidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 1, p. 61-64, 2002.

SCHWARTZ, G.; PAIM, A. C.; DI MARE, R. A. Padrões de variação quantitativa na morfologia das asas de três espécies de Troidini (Lepidoptera; Papilionidae) em populações naturais de Santa Maria, RS. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 3, p. 306, set., 1995a. (suplemento)

SCHWARTZ, G.; PAIM, A. C.; DI MARE, R. A. Estudo comparativo da variação da massa em quinze espécies de papilionídeos (Lepidoptera; Papilionidae) na região central do estado

do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 3, p. 306, set., 1995b. (suplemento)

SCHWARTZ, G.; DI MARE, R. A. Diversidade de quinze espécies de borboletas (Lepidoptera, Papilionidae) em sete comunidades de Santa Maria, RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 49-55, 2001.

SCRIBER, J. M. Larval foodplant utilization by the world Papilionidae (Lepidoptera): latitudinal gradient reappraised. **Tokurana**, v. 6-7, p. 1-50, 1984.

SCRIBER, J. M. Overview of swallowtail butterflies: taxonomic and distributional latitude. In: SCRIBER, J. M.; TSUBAKI, Y.; LEDERHOUSE, R. C. (Eds.). **Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology**. Scientific Publishers, Gainesville, p. 3-20, 1995.

SELANDER, R. K. Genetic variation in natural populations. In: AYALA, F. J. (Ed.). **Molecular Evolution**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 1976. 277p.

SHEPHARD, J. M.; HUGHES, J. M.; ZALUCKI, M. P. Genetic differentiation between Australian and North American populations of the monarch butterfly *Danaus plexippus* (L.) (Lepidoptera: Nymphalidae): an explorations using allozyme electrophoresis. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 75, p. 437-452, 2002.

SILVA, L. M. **Estrutura genética de populações naturais de *Heliconius erato* no Rio Grande do Sul (Lepidoptera; Nymphalidae)**. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1989.

SILVA, L. M.; ARAÚJO, A. M. The genetic structure of *Heliconius erato* populations (Lepidoptera; Nymphalidae). **Brazilian Journal of Genetics**, v. 17, n. 1, p. 19-24, 1994.

SLATKIN, M. Estimating levels of gene flow in natural populations. **Genetics**, v. 99, p. 323-335, 1981.

SLATKIN, M.; BARTON, N. H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, v. 43, n. 7, p. 1349-1368, 1989.

STAMP, N. E. Physical constraints of defense in response to invertebrate predators by pipevine caterpillars (*Battus philenor*: Papilionidae), **Journal of the Lepidopterists' Society**, v. 40, p. 191-205, 1986.

TEIXEIRA, A. S.; CHAVES, L. S.; YUYAMA, K. Esterases no exame da estrutura populacional de camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunt) McVaugh-Myrtaceae). **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1, p. 89-96, 2004.

TESTON, J. A.; CORSEUIL, E. Lista documentada dos papilionídeos (Lepidoptera, Papilionidae) do Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, Porto Alegre, n. 6, v. 2, p. 81-94, 1998.

TYLER, H. A.; BROWN JR, K. S.; WILSON, K. H. **Swallowtail butterflies of the Americas**. Gainesville: Scientific Publishers, 1994. 360p.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. 175p.

TURNER, J. R. G.; JOHNSON, M. S.; EANES, W. F. Contrasted modes of evolution in the same genome: Allozymes and adaptive chance in *Heliconius*. **Proceedings of National Academy of Sciences**, USA, n. 76, v. 4, p. 1924-1928, 1979.

VANDEWOESTIJNE, S.; NEVE, G.; BAGUETTE, M. Spatial and temporal population genetic structure of the butterfly *Aglais urticae* L. (Lepidoptera, Nymphalidae). **Molecular Ecology**, v. 8, p. 1539-1543, 1999.

VANDEWOESTIJNE, S.; MARTIN, T.; LIÉGEOIS, S.; BAGUETTE, M. Dispersal, landscape occupancy and population structure in the butterfly *Melanargia galathea*. **Basic and Applied Ecology**, n. 5, p. 581-591, 2004.

WATT, W. B.; CARTER, P. A.; BLOWER, S. M. Adaptation at specific loci: IV. Differential matting success among glycolytic allozyme genotypes of *Colias* butterflies. **Genetics**, n. 109, p. 157-175. 1985.

WEINTRAUB, J. D. Host plant association patterns and phylogeny in the tribe Troidini (Lepidoptera: Papilionidae). In: SCRIBER, J. M.; TSUBAKI, Y.; LEDERHOUSE, R. C. (Eds.). **Swallowtail Butterflies: their ecology and evolutionary biology**. Gainesville: Scientific Publishers, p. 307-316, 1995.

WEIR, B. S.; COCKERHAN, C. C. Estimating F-Statistics for the analysis of populations structure. **Evolution**, n. 38, v. 6, p. 1358-1370, 1984.

WYNNE, I. R.; LOXDALE, H. D.; BROOKES, C. P.; WOIWOD, I. P. Genetic structure of fragmented November moth (Lepidoptera: Geometridae) populations in Farmland. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 78, p. 467-477, 2003.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations II. The theory of gene frequencies**. Chicago: University of Chicago Press, 1969.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations IV. Variability within and among natural populations**. Chicago: University of Chicago Press, 1978.

5. ANEXO

ANEXO I - Normas para publicação do artigo na Revista Brasileira de Zoologia

A **Revista Brasileira de Zoologia**, órgão da Sociedade Brasileira de Zoologia (SBZ), destina-se a publicar artigos científicos originais em Zoologia de seus sócios. Todos os autores deverão ser sócios e estarem quites com a tesouraria, para poder publicar na Revista. Artigos redigidos em outro idioma que não o português, inglês ou espanhol poderão ser aceitos, a critério da Comissão Editorial.

É permitida a reprodução de artigos da revista, desde que citada a fonte. O uso de nomes ou marcas registradas etc. na publicação não implica que tais nomes estejam isentos das leis e regulamentações de proteção pertinentes. É vedado o uso de matéria publicada para fins comerciais.

MANUSCRITOS

Devem ser acompanhados por carta de concessão de direitos autorais e anuência, modelo disponível no [site da SBZ](#), assinada por todos os autores. Os artigos devem ser enviados em três vias impressas e em mídia digital, disquete ou CD, em um único arquivo no formato PDF, incluindo as figuras e tabelas. O texto deverá ser digitado em espaço duplo, com margens esquerda e direita de 3 cm, alinhado à esquerda e suas páginas devidamente numeradas. A página de rosto deve conter: 1) título do artigo, mencionando o(s) nome(s) da(s) categoria(s) superior(es) à qual o(s) animal(ais) pertence(m); 2) nome(s) do(s) autor(es) com endereço(s) completo(s), exclusivo para recebimento de correspondências, e com respectivos algarismos arábicos para remissões; 3) resumo em inglês, incluindo o título do artigo se o mesmo for em outro idioma; 4) palavras-chave em inglês, no máximo cinco, em ordem alfabética e diferentes daquelas utilizadas no título; 5) resumo e palavras-chave na mesma língua do artigo, ou em português se o artigo for em inglês, e equivalentes às do resumo em inglês. O conjunto de informações dos itens 1 a 5 não deve exceder a 3500 caracteres considerando-se espaços.

Os nomes de gênero(s) e espécie(s) são os únicos do texto em itálico. A primeira citação de um taxa no texto, deve vir acompanhada do nome científico por extenso, com autor e data, e família.

Citações bibliográficas devem ser feitas em caixa alta reduzida (Versalete) e da seguinte forma: SMITH (1990), SMITH (1990: 128), LENT & JURBERG (1965), GUIMARÃES *et al.* (1983), artigos de um mesmo autor ou seqüências de citações devem ser arrolados em ordem cronológica.

ILUSTRAÇÕES E TABELAS

Fotografias, desenhos, gráficos e mapas serão denominados figuras. Desenhos e mapas devem ser feitos a traço de nanquim ou similar. Fotografias devem ser nítidas e contrastadas e não misturadas com desenhos. A relação de tamanho da figura, quando necessária, deve ser apresentada em escala vertical ou horizontal.

As figuras devem estar numeradas com algarismos arábicos, no canto inferior direito e chamadas no texto em ordem crescente, devidamente identificadas no verso, obedecendo a proporcionalidade do espelho (17,0 x 21,0 cm) ou da coluna (8,3 x 21,0 cm) com reserva para a legenda.

Legendas de figuras devem ser digitadas logo após à última referência bibliográfica da seção Referências Bibliográficas, sendo para cada conjunto um parágrafo distinto.

Gráficos gerados por programas de computador, devem ser inseridos como figura no final do texto, após as tabelas, ou enviados em arquivo em separado. Na composição dos gráficos usar fonte Arial. Não utilizar caixas de texto.

Figuras em formato digital devem ser enviadas em arquivos separados, no formato TIF com compactação LZW. No momento da digitalização utilizar as seguintes definições mínimas de resolução: 300 ppp para fotos coloridas ou em tons de cinza; 600 ppp para desenhos a traço. Não enviar desenhos e fotos originais quando da submissão do manuscrito.

Tabelas devem ser geradas a partir dos recursos de tabela do editor de texto utilizado, numeradas com algarismos romanos e inseridas após a última legenda de figura. O cabeçalho de cada tabela deve constar junto à respectiva tabela.

Figuras coloridas poderão ser publicadas com a diferença dos encargos custeada pelo(s) autor(es).

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos, indicações de financiamento e menções de vínculos institucionais devem ser relacionados antes do item Referências Bibliográficas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As Referências Bibliográficas, mencionadas no texto, devem ser arroladas no final do trabalho, como nos exemplos abaixo.

Periódicos devem ser citados com o nome completo, por extenso, indicando a cidade onde foi editado.

Não serão aceitas referências de artigos não publicados (ICZN, Art. 9).

Periódicos

NOGUEIRA, M.R.; A.L. PERACCHI & A. POL. 2002. Notes on the lesser white-lined bat, *Saccopteryx leptura* (Schreber) (Chiroptera, Emballonuridae), from southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, **19** (4): 1123-1130.

LENT, H. & J. JURBERG. 1980. Comentários sobre a genitália externa masculina em *Triatoma Laporte*, 1832 (Hemiptera, Reduviidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, **40** (3): 611-627.

SMITH, D.R. 1990. A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphita) of America South of the United States: Pergidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, **34** (1): 7-200.

Livros

HENNIG, W. 1981. **Insect phylogeny**. Chichester, John Wiley, XX+514p.

Capítulo de livro

HULL, D.L. 1974. **Darwinism and historiography**, p. 388-402. In: T.F. Glick (Ed.). The comparative reception of Darwinism. Austin, University of Texas, IV+505p.

Publicações eletrônicas

MARINONI, L. 1997. SCIOMYZIDAE. In: A. Solís (Ed.). Las Familias de insectos de Costa Rica. Disponível na World Wide Web em: <http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/Texto630.html> [data de acesso].

ENCAMINHAMENTO

Os artigos enviados à RBZ serão protocolados e encaminhados para consultores. As cópias do artigo, com os pareceres emitidos serão devolvidos ao autor correspondente para considerar as sugestões. Estas cópias juntamente com a versão corrigida do artigo impressa e o respectivo disquete, devidamente identificado, deverão retornar à RBZ. Alterações ou acréscimos aos artigos após esta fase poderão ser recusados. Provas serão enviadas eletronicamente ao autor correspondente.

SEPARATAS

Todos os artigos serão reproduzidos em 50 separatas, e enviadas gratuitamente ao autor correspondente. Tiragem maior poderá ser atendida, mediante prévio acerto de custos com o editor.

Quando apropriado, o manuscrito deve mencionar a coleção da instituição onde podem ser encontrados os exemplares que documentam a identificação taxonômica.

RESPONSABILIDADE

O teor gramatical, independente de idioma, e científico dos artigos é de inteira responsabilidade do(s) autor(es).