Artículo Original

Observaciones biológicas de larvas y pupas de *Rekoa marius* (Lucas) (Lepidoptera: Lycaenidae) en Panamá

Biological observations of larvae and pupae of *Rekoa marius* (Lucas) (Lepidoptera: Lycaenidae) in Panama

Alonso Santos-Murgas^{1,3} , Roberto A. Cambra T.² , Alfredo Lanuza-Garay^{1,2,3} ,
Rafael Mauricio Cobos-Hernández⁴ y Miguel A. Osorio-Arenas^{5,6}

¹Universidad de Panamá, Museo de Invertebrados G. B. Fairchild, Estafeta Universitaria, 0824, apartado 00017, Panamá, República de Panamá. ²Centro Regional Universitario de Colón. ³Sociedad Mesoamericana para la Biología y la Conservación, Capítulo de Panamá. ⁴Biólogo, Universidad de Pamplona, norte de Santander, Colombia, estudiante de maestría en Gestión Ambiental de la Universidad Interamericana de Panamá. ⁵Centro Regional Universitario de Azuero. ⁶Laboratorio de Entomología Experimental-GIEP, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. ✉ santosmurgasa@gmail.com

ZooBank: urn:lsid:zoobank.org:pub:D7AB595D-6019-4BCE-B8EC-9E79D893D75C
<https://doi.org/10.35249/rche.46.4.20.11>

Resumen. Se presenta un caso de policromatismo críptico y de mirmecofilia en estadios inmaduros de *Rekoa marius* (Lucas) (Lepidoptera: Lycaenidae: Theclinae). Las observaciones se realizaron mediante la inspección de la inflorescencia y follaje de *Acalyma wilkesiana* Müll. Arg. y la cría de cinco orugas en condiciones de laboratorio. Las orugas encontradas en este estudio mostraron interacciones mirmecofílicas con hormigas carpinteras (*Camponotus lindigi* Mayr) así como cambios en la coloración epitelial asociado a una estrategia de policromatismo críptico. Además, se registran las preferencias en el tiempo de cuidado de las orugas de *Rekoa* empleado por las hormigas, influenciado por el comportamiento alimenticio de las orugas. Se registra a la avispa parasítica *Tenuipetiolus* sp. (Hymenoptera: Eurytomidae) atacando estadios pupales de *Rekoa marius*, siendo el primer informe de un lepidóptero como hospedante de este parasitoide. Se proveen ilustraciones de la larva y pupa de *R. marius*, la interacción mirmecofílica, y el parasitoide.

Palabras clave: Mirmecofilia, parasitoides, policromatismo.

Abstract. A case of cryptic polychromatism and myrmecophily in the early stages of *Rekoa marius* (Lucas) (Lepidoptera: Lycaenidae: Theclinae) are presented. Observations were made through the inspection of both the inflorescence and foliage of *Acalyma wilkesiana* Müll. Arg. and the rearing of five larvae under laboratory conditions. All caterpillars found in this study showed myrmecophilous interactions with carpenter ants (*Camponotus lindigi* Mayr) as well as changes in the epithelial coloration associated with a cryptic larval polychromatism defense strategy. In addition, we recorded preferences in the time caring for larval *Rekoa* by carpenter ants, influenced by caterpillar feeding behavior. A parasitic wasp, *Tenuipetiolus* sp. (Hymenoptera: Eurytomidae), attacked the pupal stage of *Rekoa marius*, this being the first Lepidoptera host record for this parasitoid. Illustrations of larva and pupa, the myrmecophilous interactions and parasitoid studied in this paper are provided.

Key words: Myrmecophile, parasitoids, polychromatism.

Recibido 9 Octubre 2020 / Aceptado 6 Noviembre 2020 / Publicado online 23 Diciembre 2020
Editor Responsable: José Mondaca E.

Introducción

La familia Lycaenidae incluye cerca de 1200 especies en el Neotrópico de las casi 6000 especies existentes a nivel mundial (Chacón y Montero 2007), siendo una de las familias más diversas de mariposas (Lepidoptera: Papilionoidea) de la región (Robbins 2004), y *Rekoa* Kaye, 1904 uno de los géneros de licénidos con más amplia distribución en la región Neotropical (Robbins 1991).

Robbins (1991) presenta información para la identificación del género *Rekoa*, y hace referencia sobre las orugas de *R. marius* (Lucas, 1857) y *R. palegon* (Cramer, 1870), catalogándolas como especies polífagas, principalmente en plantas de las familias Fabaceae, Malpighiaceae (*R. marius*) y Asteraceae (*R. palegon*). Dentro del género *Rekoa* se pueden encontrar casos de orugas que presentan coloración variable durante su etapa de desarrollo larval, fenómeno conocido como policromatismo críptico. Esa adaptación les brinda excelentes ventajas, tanto en funciones defensivas (camuflaje, mimetismo, aposematismo), de supervivencia, así como también de termorregulación y comunicación por señalización (Poulton 1887; Cott 1940; Cromartie 1959; Rettenmeyer 1970; Schuler y Hesse 1985; Alcock 1998).

Maschwitz *et al.* (1984, 1985), Ballmer y Pratt (1989), Monteiro (1990b) y Silva *et al.* (2014), aseguran que el policromismo críptico es un patrón muy común entre las larvas de licénidos, determinado por los alimentos que éstas consumen, los cuales son sintetizados por antraquininas, pterinas, tetrapirrol, ommocromos y papilocromos, o son absorbidos por los carotenoides y flavonoides antioxidantes de sus plantas hospedantes (Brown 1969; Linzen 1967; Moraes *et al.* 2005; Heath *et al.* 2013). Sin embargo, estos procesos metabólicos están poco documentados y estudiados.

Muchas especies de Lycaenidae tienen acceso a estrategias defensivas tan complejas como el policromismo y la mirmecofilia, lo cual requiere una variedad de adaptaciones conductuales y morfológicas (especialmente en las hormigas) para su éxito (Silva *et al.* 2014). Hinton (1951), Kitching y Taylor (1981), Kitching y Luke (1985), Pierce (1987), Eastwood y Fraser (1999), han categorizado la mirmecofilia en tres tipos generales: obligados, facultativos y no asociados. Por último, el término mirmecoxeno acuñado por Kitching y Luke (1985), subraya la noción de que, a diferencia de la mayoría de los Lepidoptera, las larvas de estos licénidos poseen adaptaciones relacionadas entre sí, que los protegen contra la agresión, incluso si no se cuidan activamente. La defensa química a través de las glándulas exocrinas, la vellosidad, el grosor de la cutícula larval y la construcción de refugios de seda son algunas de las adaptaciones que protegen a las larvas de licénidos contra las hormigas Kitching y Luke (1985).

El objetivo de este trabajo es documentar el policromatismo, la mirmecofilia y la presencia de parasitoides en la pupa de *Rekoa marius* (Lepidoptera: Lycaenidae) en Panamá.

Materiales y Métodos

Desde el 10 mayo al 2 de junio del 2020 se realizaron observaciones sobre la dieta e interacción con hormigas a cinco orugas de último estadio de *Rekoa marius* (L.) (Lepidoptera: Lycaenidae) (Figs. 1, 2). El estudio se ejecutó en la República de Panamá, provincia de Panamá Oeste, Distrito de Arraiján, corregimiento de Juan Demóstenes Arosemena, en el jardín de una casa, dentro del Residencial Park Village (8°56'19,25" N, 79°44'5,85" O).

Se realizaron observaciones diarias a las orugas de *R. marius* durante 20 minutos por la mañana entre las 8:00 y 10:00 am y en horas de la tarde entre las 14:00 y 16:00 pm. Se anotó la frecuencia y cantidad de hormigas que llegaban a visitar las orugas (Fig. 2). Una vez estas orugas pasaron al estadio de pupa, se les dejó en el mismo sitio por tres días (Fig. 3), para luego ser removidas y colocadas en jaulas individuales de malla fina (Fig. 4), hasta la emergencia de los adultos.

Para la identificación de *R. marius* se utilizó la guía ilustrada de Garwood y Lehman (2012); adicionalmente, se compararon con especímenes identificados por Gordon B. Small, depositados en la colección del Museo de Invertebrados G. B. Fairchild, de la Universidad de Panamá (MIUP). La identificación de la hormiga *Camponotus lindigi* se realizó cotejando con los especímenes identificados por W. Mackay, depositados en el MIUP. El parasitoide Eurytomidae (Figs. 7, 8) fue identificado por el Dr. Paul Hanson (Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, UCR), mientras que la identificación de la planta, en la cual se encontró a *R. marius*, la realizó el personal del Herbario de la Universidad de Panamá. Todo el material de insectos estudiados se encuentra depositados en el Laboratorio de Entomología Sistemática del MIUP.

Figuras 1-6. *Rekoa marius* Lucas. 1. Larva del tercer estadio de sobre la inflorescencia de *A. wilkesiana*. 2. Larva del tercer estadio de sobre la inflorescencia de *A. wilkesiana*, recibiendo atención por la hormiga *C. lindigi*. 3. Pupa en las primeras horas del cambio de estadio, sobre la base de la hoja de *A. wilkesiana*. 4. Pupa sobre la base de la hoja y cerca de la inflorescencia de *A. wilkesiana*, trasladadas a la jaula de malla. 5. Pupa parasitada antes de que salgan los parasitoides. 6. Orificio en la pupa después que han salido los parasitoides.

Figuras 7-8. *Tenuipetiolus* sp. (Hymenoptera: Eurytomidae). 7. *Habitus* de la hembra. 8. *Habitus* de la hembra y el macho.

Se usó el software libre R (R Core Team 2020) para la elaboración de diagramas de caja con el fin de visualizar las diferencias entre el número de visitas a las larvas de *R. marius* por parte de las hormigas y la preferencia de horario para realizar dichas visitas. La significancia de las diferencias para ambos casos se estimó mediante el uso de la prueba de Tukey.

Resultados y Discusión

Se observó un total de cinco larvas de *Rekoa marius* alimentándose del follaje y de la inflorescencia de la planta *Acalypha wilkesiana* (Euphorbiaceae) (Fig. 1). Dos orugas estaban en una misma planta y las otras tres en plantas individuales. Transcurridos 16 a 20 días en estadio pupal, emergieron cuatro adultos de *R. marius* y a los 23 días salieron de la quinta pupa (Figs. 5, 6) un total de 24 avispas (22 hembras y 2 machos) de *Tenuipetiolus* sp. (Hymenoptera: Eurytomidae) (Figs. 7, 8). Lo anterior representa una proporción 11:1 (91,7% hembras y 8,3% machos). Monteiro (1991) registra los siguientes cuatro parasitoides (un díptero y tres himenópteros) para los diferentes estadios de *R. marius*: Tachinidae (larva y pupa), *Conura* sp. (Chalcididae) (larva y pupa), *Rogas* sp. (Braconidae) (larva) y *Telenomus* sp. (Scelionidae) (huevo). Silva *et al.* (2014) registraron a *R. marius* parasitada por *Baryscapus* sp. (Hymenoptera: Eulophidae). El género *Tenuipetiolus* ha sido reportado como parasitoide de Cecidomyiidae y Cynipidae formadores de agallas (Gates y Hanson 2006; Zhang *et al.* 2014).

Durante toda la etapa larval de *R. marius* se observó que fueron visitadas por un número promedio de 2 a 3 hormigas de la especie *C. lindigi*. Las hormigas se acercaban, generalmente por la parte posterior de las larvas, y obtenían las secreciones por parte de las orugas. Una interesante observación biológica, usando análisis de varianza, es la preferencia de *C. lindigi* en visitar a las larvas de *R. marius* con mayor frecuencia y cantidad de individuos en horas de la mañana (8:00 y 10:00 am) con respecto al número de visitas efectuadas en horas de la tarde (14:00 y 16:00 pm) con un valor $p < 0,0001$ (Fig. 9). Esta preferencia horaria por parte de las hormigas estaría asociada a los hábitos alimenticios de *R. marius*, por lo que requieren mayor protección ante los depredadores o parasitoides. De la misma manera, se determinó que no hubo diferencias significativas en la cantidad de visitas por parte de las hormigas a cada una de las larvas en el horario vespertino con un valor $p = 0,0764$ (Fig. 10) y en el horario matutino con un valor $p = 0,0764$ (Fig. 11).

Otra observación biológica interesante, es que en las horas de la mañana las larvas se alimentaban de las partes florales de la planta y en horas de la tarde recurrían al follaje.

Además de presentar un excelente mecanismo mirmecofílico facultativo contra parasitoides y enemigos naturales, las larvas de *R. marius* utilizan mecanismos complementarios como el policromatismo, basados en las estructuras florales de *A. wilkesiana*, lo que le brindaba una mayor protección ante estos ataques, hasta tal punto que pueden catalogarse como funciones defensivas o de supervivencia en el sitio donde se encuentran (Pierce y Mead 1981; Pierce y Eastal 1986; Monteiro 1990a; Fraser *et al.* 2001; Kaminski *et al.* 2010; Silva *et al.* 2014). La interpretación anterior es basada en el hecho de que ninguna larva fue atacada por depredadores o parasitoides. El único individuo atacado por un parasitoide ocurrió en otro estadio (pupa), el cual no estaba cubierto por la ventaja del camuflaje que realizan muy exitosamente las orugas con las partes florales de la planta hospedera o la protección de las hormigas.

Un aspecto destacable es que *A. wilkesiana* no presenta nectarios extra-florales (estructuras presentes en las más de 30 especies de plantas asociadas a estas mariposas, y que son muy atractivas para las hormigas); por lo que es aceptable sugerir que las hormigas asistían exclusivamente a la planta en una relación mutualista con las larvas de *R. marius*, aunque ésta no sea obligatoria. Además, registramos una nueva familia de planta hospedante (Euphorbiaceae) como alimento de las orugas, al igual que el reporte nuevo de un parasitoide asociado al género *Rekoa*.

Figura 9. Número de visitas de *C. lindigi* a las larvas de *R. marius* según el horario (valor $P < 0,0001$).

Figura 10. Número de visitas de *C. lindigi* a las larvas de *R. marius* de 14:00-16:00 pm (valor $P = 0,0764$).

Figura 11. Número de visitas de *C. lindigi* a las larvas de *Rekoa marius* de 8:00-10:00 am (valor $P=0,0764$).

Agradecimientos

Al Dr. Paul E. Hanson, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, por la identificación de la avispa parasitoide y por revisar la redacción del abstract. Al Licenciado Alex Espinosa por la identificación de la planta.

Literatura Citada

- Alcock, J. (1998)** *Animal Behavior: An Evolutionary Approach*. 6th ed. Sunderland, MA. Sinauer Associates, Inc.
- Ballmer, G.R. y Pratt, G.F. (1989)** A survey of the last instar larvae of the Lycaenidae (Lepidoptera) of California. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 27: 1-81.
- Brown, R.M. (1969)** Larva and habitat of *Callophrys fotis bayansis* (Lycaenidae). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 8: 49-50.
- Chacón, I., y Montero, J. (2007)** *Butterflies and moths of Costa Rica (order Lepidoptera)*. Editorial INBio, Costa Rica.
- Cott, H.B. (1940)** *Adaptive coloration in animals*. Methuen, London. 508 pp.
- Cromartie, R.I.T. (1959)** Insect pigments. *Annual Review of Entomology*, 4: 59-76. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.04.010159.000423>
- Eastwood, R. y Fraser, A. (1999)** Associations between lycaenid butterflies and ants in Australia. *Australian Journal of Ecology*, 24(5): 503-37. <https://doi.org/10.1046/j.1440-169x.1999.01000.x>
- Fraser, A.M., Axén, A.H. y Pierce, N.E. (2001)** Assessing the quality of different ant species as partners of a myrmecophilous butterfly. *Oecologia*, 129(3): 452-460.
- Garwood, K. y Lehman, R. (2012)** *Butterflies of Central America*. McAllen, Texas, USA.
- Gates, M.W. y Hanson, P.E. (2006)** Familia Eurytomidae, p. 380-387. En: Hanson, P.E. y Gauld, I.D. (eds.). *Hymenoptera de la Región Neotropical. Memoirs of the American Entomological Institute*, 77: 1-994.
- Heath, J.J., Cipollini, D. y Stireman, J.O. III. (2013)** The role of carotenoids and their derivatives in mediating interactions between insects and their environment. *Arthropod Plant Interactions*, 7: 1-20. <https://doi.org/10.1007/s11829-012-9239-7>
- Hinton, H.E. (1951)** Myrmecophilous Lycaenidae and other Lepidoptera – a summary. *Proceedings and transactions of the South London Entomological and Natural History Society*, 1949-1950: 111-175.

- Kaminski, L.A., Freitas, A.V.L. y Oliveira, P.S. (2010)** Interaction between mutualisms: ant-tended butterflies exploit enemy-free space provided by ant-treehopper associations. *The American Naturalist*, 176(3): 322-334. <https://doi.org/10.1086/655427>
- Kitching, R.L. y Taylor, M.F.J. (1981)** The culturing of *Jalmenus evagoras* (Donovan) and its attendant ant, *Iridomyrmex anceps* (Roger). *Australian Entomologist Magazine*, 7(5): 71-75.
- Kitching, R.L. y Luke, B. (1985)** The myrmecophilous organs of the larvae of some British Lycaenidae (Lepidoptera): a comparative study. *Journal of Natural History*, 19: 259-276.
- Linzen, B. (1967)** Zur Biochemie der Ommochrome. *Naturwissenschaften*, 54: 259-267. <https://doi.org/10.1007/BF00620883>
- Maschwitz, U., Schroth, M., Hanel, H. y Pong, T.Y. (1984)** Lycaenids parasiting symbiotic plants-ant partnerships. *Oecologia*, 64(1): 78-80.
- Maschwitz, U., Schroth, M., Hanel, H. y Tho, Y.P. (1985)** Aspects of the larval biology myrmecophilous lycaenids from West Malaysia (Lepidoptera). *Nachrichten des Entomologischer. Verein Apollo*, 6(4): 181-200.
- Monteiro, R.F. (1990a)** Aspectos ecológicos de teclíneos (Lep.: Lycaenidae) com especial referência à coloração críptica de duas espécies de *Rekoa* Kaye (PhD thesis). Campinas (Brazil): Universidade Estadual de Campinas.
- Monteiro, R.F. (1990b)** Cryptic larval polychromatism in *Rekoa marius* Lucas and *R. palegon* Cramer (Lycaenidae: Theclinae). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 29(1-2): 77-84.
- Moraes, A.S., Pimentel, E.R., Rodrigues, V.L. y Mello, M.L. (2005)** Eye pigments of the bloodsucking insect, *Triatoma infestans* Klug (Hemiptera, Reduviidae). *Brazilian Journal of Biology*, 65(3): 477-481. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842005000300013>
- Pierce, N.E. (1987)** The evolution and biogeography of associations between lycaenid butterflies and ants. pp. 89-116. In: Harvey, P.H., y Partridge, L. (eds) *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*. Vol. 4, Oxford University Press.
- Pierce, N.E. y Easteal, S. (1986)** The selective advantage of attendant ants for the larvae of a lycaenid butterfly, *Glaucopsyche lygdamus*. *Journal of Animal Ecology*, 55: 451-462.
- Pierce, N.E. y Mead, P.S. (1981)** Parasitoids as selective agents in the symbiosis between lycaenid butterfly caterpillars and ants. *Science*, 211(4487): 1185-1187. <https://doi.org/10.1126/science.211.4487.1185>
- Poulton, E.B. (1887)** The experimental proof of the protective value of colour and markings in insects in reference to their vertebrate enemies. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1887: 191-274.
- R Core Team (2020)** R: Un lenguaje y un entorno para la informática estadística. Fundación R para la Computación Estadística, Viena, Austria. URL <http://www.R-project.org/>
- Rettenmeyer, C.W. (1970)** Insect mimicry. *Annual Review of Entomology*, 15: 43-74. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.15.010170.000355>
- Robbins, R.K. (1991)** Evolution, comparative morphology, and identification of the eumaeine butterfly genus *Rekoa* Kaye (Lycaenidae: Theclinae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 498: 1-64.
- Robbins, R.K. (2004)** Introduction to the checklist of Eumaeini (Lycaenidae). pp. xxiv-xxx. In: Lamas, G., (ed.). Checklist: Part 4A. Hesperioidea—Papilionoidea. In: Heppner, J.B., (ed.) *Atlas of Neotropical Lepidoptera*. Volume 5A. Gainesville (IL): Association for Tropical Lepidoptera, Scientific Publishers.
- Schuler, W. y Hesse, E. (1985)** On the function of warning coloration: a black and yellow pattern inhibits prey-attack by naive domestic chicks. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 16: 249-255. <https://doi.org/10.1007/BF00310988>
- Silva, N.A.P., Duarte, M., Araújo, E.B. y Morais, H.C. (2014)** Larval biology of *Anthophagus eumaeini* (Lepidoptera: Lycaenidae; Theclinae) in the Cerrado of Central Brazil. *Journal of Insect Science*, 14(184): 1-17. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieu046>

Zhang, M.Y., Gates, M.W. y Shorthouse, J.D. (2014) Testing species limits of Eurytomidae (Hymenoptera) associated with galls induced by *Diplolepis* (Hymenoptera: Cynipidae) in Canada using an integrative approach. *The Canadian Entomologist*, 146(3): 321-334. <https://doi.org/10.4039/tce.2013.70>