

1. Imię i nazwisko

Freerk Molleman

2. Dyplomy, stopnie naukowe

1998 tytuł magistra (inżyniera rolnictwa); udział w trzech projektach Zakładu Entomologii na Uniwersytecie Rolniczym w Wageningen (Holandia). Pierwszy projekt dotyczył komunikacji chemicznej pomiędzy drzewami a naturalnymi wrogami ich szkodników; promotor Peter Mols we współpracy z Bas Drukker (Uniwersytet w Amsterdamie) oraz Leo Blommers (Sad Eksperymentalny Holenderskiego Instytutu Ekologicznego (NIO)). Drugi, dłuższy projekt pod kierownictwem Louise Vet (obecnie dyrektor NIO) we współpracy z Johnem VanderMeer i Ivette Perfecto (ze Stanów Zjednoczonych) dotyczył zachowania os pasożytniczych. Z kolei trzeci odbył się w ramach stażu na Uniwersytecie Queensland w Australii, promotor Marcel Dicke przy udziale Davida E. Waltera, należącego do światowej czołówki badaczy w dziedzinie akarologii (badanie roztoczy).

2004 tytuł doktora w Zakładzie Biologii Ewolucyjnej Uniwersytetu w Lejdzie, uzyskany na podstawie pracy „Wzorce bioróżnorodności i historii życia motyli dziennych odżywiających się owocami”, której promotorami był profesor Paul M. Brakefield oraz doktor Bas Zwaan, a recenzentem Philip J. DeVries.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w instytucjach naukowych

Instytut IISER w Thiruvananthapuram, Indie, wrzesień 2015 – sierpień 2017, staż podoktorski, „Zmienność ubarwienia, interakcje drapieżnik–ofiara, system łączenia się w pary motyli *Melanitis leda* L.” we współpracy z Ullasa Kodandaramaiah.

Uniwersytet w Rennes 1, Francja, sierpień 2013 – styczeń 2015, staż podoktorski „Powiązania filogenetycznego zróżnicowania różnorodności roślinności z fauną glebową, fenotypami owadów” we współpracy z Andreas Prinzing.

Uniwersytet w Tartu, Estonia, sierpień 2009 – grudzień 2015, pracownik naukowy, „Ewolucja historii życia. Bioróżnorodność. Motyle i ćmy” (Estonia, Uganda) we współpracy z Toomas Tammaru.

Uniwersytet Kalifornijski w Davis, USA kwiecień 2005 – czerwiec 2009, staż podoktorski, „Demografia i procesy starzenia. Motyle i muchy” (Uganda, laboratorium) we współpracy z James R. Carey.

Kamerun sierpień – listopad 2004, przeprowadzanie wywiadów na temat niszczenia upraw, zbieranie motyli (badania niezależne).

Muzeum zoologiczne w Amsterdamie, grudzień 2004 – marzec 2005, praca przy zbiorach muzeum, motyle (Kamerun).

4. Osiągnięcia naukowe zgodnie z art. 16 ust 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Rola odżywiania dorosłych osobników w ewolucji długości życia: badania eksperymentalne motyli.

b) Autor, tytuł publikacji, rok, wydawca

Molleman F (50%), Ding J (30%), and Carey JR (20%). 2009. Nutrients in fruit increase fertility in wild-caught females of long-lived *Euphaedra* species (Lepidoptera, Nymphalidae). *Journal of Insect Physiology* 55: 375–383 [**IF 2.2, MNiSW 35**]

Molleman F (50%), Ding J (30%), Wang J-L (5%), Zwaan BJ (5%), Carey JR (5%), and Brakefield PM (5%). 2008 Adult diet affects life span and reproduction of the fruit-feeding butterfly *Charaxes fulvescens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 129: 54–65. [**IF 1.7, MNiSW 30**]

Molleman F (50%), Ding J (30%), Boggs CL (10%), Carey JR (5%), Arlet ME (5%). 2009. Does Dietary Restriction reduce longevity of male fruit-feeding butterflies? *Experimental Gerontology* 44: 601–606. [**IF 3.9, MNiSW 35**]

Molleman F (20%), Javoš J (15%), Esperk T (15%), Teder T (15%), Davis RB (15%), Tammaru T (20%). 2011 Sex-specific weight loss upon adult eclosion in Lepidoptera. *Journal of Insect Physiology* 57: 712–722. [**IF 2.2, MNiSW 35**]

Holm S (33%), Davis RB (11%), Javoš J (11%), Õunap E (11%), **Molleman F** (11%), Kaasik A (11%), Tammaru T (13%). 2016. A comparative perspective on longevity: the effect of body size dominates over ecology in moths. *Journal of Evolutionary Biology*, 29: 2422–2435. [**IF 2.7, MNiSW 35**]

Opis osiągnięć naukowych, stanowiących podstawę habilitacji

WSTĘP

Mimo, iż proces starzenia się stanowi nieodłączną część życia ludzi i zwierząt, kwestie dotyczące ewolucji starości i długości życia do niedawna nie spotykały się z zainteresowaniem naukowców (Medawar 1952). Długowieczność dorosłych znacznie się różni, gdyż niektóre organizmy żyją zaledwie kilka dni (np. jętki), gdy inne zdają się nie starzeć w ogóle, a przedstawiciele niektórych gatunków osiągają wiek tysięcy lat (np. Balfourianae). Biorąc pod uwagę, że istnieją wielkie różnice w starzeniu (zmniejszenie prawdopodobieństwa przeżycia wraz z upływem lat), starości (obniżenie funkcji fizycznych i fizjologicznych wraz z upływem lat), a także długowieczności (średnia długość życia populacji) pomiędzy gatunkami, należy poświęcić temu zagadnieniu badania, które będą próbą znalezienia ewolucyjnego wyjaśnienia (Orzack 2003).

Ewolucyjne wyjaśnienie starości, zatem starzenia i długowieczności, odbywa się z perspektywy genetycznej zgodnie z „nową syntezą” w biologii ewolucyjnej. Krótko mówiąc, istnieje nagromadzenie mutacji, które skutkują ograniczonym funkcjonowaniem w późniejszym życiu. Takie mutacje mogą nie zostać wyeliminowane przez dobór naturalny, jeżeli drapieżnictwo i zdarzenia losowe pozostawią przy życiu wyłącznie małą populację starszych osobników, w których przypadku taki dobór naturalny mógłby się odbyć (pozostanie w cieniu doboru naturalnego, ang. *selection shadow*, Medawar 1952). Co więcej, niektóre mutacje mogą być korzystne na wczesnym etapie życia, a ich negatywne konsekwencje objawiają się dopiero później (antagonistyczny plejotropizm, Williams 1957). Na tempo akumulacji uszkodzeń DNA mogą mieć wpływ produkty wynikające z aktywności. Na przykład, wolne rodniki wytworzone w wyniku oddychania mogą uszkodzić DNA. Ponadto w obrębie organizmu naprawa DNA może przeciwdziałać uszkodzeniom spowodowanym przez aktywność, choć taka naprawa jest droga i może się odbyć kosztem np. bieżącej reprodukcji. Stąd ciało (soma) jest „jednorazowego użytku” i tylko DNA linii rozrodczej musi zostać utrzymane w najwyższej formie (teoria ciała jednorazowego użytku ang. *disposable soma theory* Kirkwood & Holliday 1979). Teoria ta może pomóc w wyjaśnieniu, dlaczego organizmy, u których nie ma podziału na linię somatyczną i płciową, np. koralowce i rośliny, często zdają się nie starzeć. Różnice tempa starzenia pomiędzy

gatunkami czy populacjami są zatem przypisywane różnicom, wynikającym z *selection shadow*, które determinują „zewnętrzne przyczyny śmiertelności” (Bell 1984, Kirkwood 2002).

Jednakże dla pełnego zrozumienia starzenia niezbędne jest przedstawienie podejścia, które uzależnia starzenie od organizmu (ang. *organismal approach*). W organizmach kumulują się uszkodzenia ciała, takie jak złamane kości czy blizny, które nie tylko skutkują uszkodzeniem DNA, ale również ograniczają funkcjonowanie. Obecność części ciała, które są nie do naprawienia została niedawno uznana za ważny czynnik determinujący, czy organizm wykazuje objawy starzenia czy nie (Jones *et al.* 2014). Przykładowo zęby rekinów mają zdolność do wyrastania na nowo w przeciwieństwie do ssaków, u których los zębów, które już wyrosną jest przesądzony, co wpływa u nich na wzorce starzenia (Gaillard *et al.* 2015). Co więcej, organizmy dokonują wyborów behawioralnych, które wpływają na długość ich życia. I tak wybory w zakresie pożywienia mogą być dobre dla reprodukcji, ale ograniczyć długość życia (Kulmiński *et al.* 2009, Carey & Molleman 2010), z kolei na reprodukcję wpływ może mieć nawet pora karmienia (Xu *et al.* 2011). Zdobywanie pożywienia dla potomstwa w miejscach niebezpiecznych może wiązać się z ryzykiem przedwczesnej śmierci i w ten sposób spada prawdopodobieństwo przyszłego potomstwa (np. Magnhagen 1991). Podsumowując, nie istnieje ścisła „zewnętrzna śmiertelność”, ponieważ wpływa na nią kombinacja różnych inwestycji w obronę przed naturalnymi wrogami i decyzji behawioralnych. Są to cechy organizmów, które w oczywisty sposób mają podłoże genetyczne, ale ich skutki nie mogą być bezpośrednio powiązane z teoriami starzenia, zasadzającymi się na hasło „uszkodzenie i naprawa DNA”, mimo iż niektóre z nich wpasowują się w schemat antagonistycznego plejotropizmu (Williams 1957).

Szersze spojrzenie na ewolucję długowieczności wiąże się z bilansem zysków i strat inwestycji w długowieczność. Dostosowanie przejawia się w reprodukcji, a przeżywalność jest niezbędna tylko dla samej reprodukcji – martwy organizm nie może się rozmnażać, lecz tak samo organizm żywy, który nie rozmnaża się ma zerową przydatność. Tak, więc organizmy mogą inwestować w naprawę DNA, we wzmocnienie części ciała, które są nie do naprawienia, albo w większą płochliwość, dzięki czemu będą żyć dłużej kosztem bieżącej reprodukcji. Chcąc zrozumieć ewolucję w odniesieniu do długości życia, należy zestawić ze sobą dane, dotyczące ryzyka

śmiertelności oraz pozostałego potencjału reprodukcyjnego, najlepiej pochodzące z warunków naturalnych. Na przykład, jeśli organizmy rosną z wiekiem, ich potencjał rozrodczy również wzrasta (liczne gatunki ryb i drzew) i w ten sposób poprzez inwestycję w przeżycie stają się silniejsze niż organizmy, których wielkość w dorosłości jest stała (np. ludzie i owady), a potencjał reprodukcyjny spada z wiekiem. Sądę, że przy sprawnie działających mechanizmach molekularnych w ostatecznym rozrachunku większość różnic w starzeniu zależy od różnic w przeżyciu i schematów reprodukcyjnych, które z kolei determinują pozostały potencjał rozrodczy w danym momencie i stąd również bierze się siła doboru do inwestowania w przeciwdziałanie starości.

Zważywszy, że samce i samice odnoszą sukces reprodukcyjny w różny sposób, mogą one również podlegać odmiennej presji wyborów, wpływających na długowieczność. U wielu zwierząt samice uzyskują sukces rozrodczy inwestując w składniki odżywcze dla potomstwa (liczne, duże jaja, opieka matki), z kolei u samców sukces rozrodczy polega na inwestycji w poszukiwanie partnerki, konkutowaniu o partnerkę lub konkurencji spermy. U owadów samice mogą inwestować więcej w odwłok (większe ciało i jaja), a samce w tułów (mięśnie poruszające skrzydłami). Samce podejmują również większe ryzyko niż samice spotkania z drapieżnikami (stąd inwestycja w mięśnie tułowia, dzięki której mają szansę na przetrwanie ataku). Zatem obie płcie mają odmienne wzorce aktywności, cechy służące obronie, a nawet przeżyciu (Wallace 1889). Konkludując, przy rozważaniu starzenia należy uwzględnić różnice między płciami (Kulmiński *et al.* 2009, Lemaitre *et al.* 2015).

Kompromisy inwestycyjne w dużym stopniu wiążą się z rozmieszczeniem zasobów pokarmowych, od nich zależy też dieta, ponieważ dieta determinuje rozmieszczenie zasobów (Boggs 2009, Newcombe 2015). Dieta może wpływać na reprodukcję i przeżycie, niezależnie od powyższego y-modelu rozmieszczenia zasobów pokarmowych (Carey & Molleman 2010, Attisano *et al.* 2012). Gatunki zwierząt różnią się znacznie pod względem diety, a to wpływa na zasoby, do których się zaadaptowały, stąd różne dysponowanie długowiecznością i reprodukcją. Dieta często się zmienia w trakcie rozwoju. Inwestycje w długowieczność są podejmowane w dużej mierze przy pomocy diety dla młodych osobników, choć dla reprodukcji generalnie

potrzebna jest dieta „dorosła”. Zasoby potrzebne do reprodukcji, zdobyte i zgromadzone w młodości, są traktowane jako „kapitał”, a zasoby pozyskane przez dorosłe organizmy można opisać słowem „dochód”. Dlatego też zwierzęta, które głównie korzystają w reprodukcji z zasobów pochodzących z wczesnych stadiów określa się po angielsku jako *capital breeders*, a te, które zdobywają pokarm na bieżąco w dorosłości nazywa się *income breeders*. Wobec tego gatunki zwierząt można umieścić na osi ciągłej „stopnia *income breeding*” (Tammaru & Haukioja 1996, Stephens *et al.* 2009, Davis *et al.* 2016). Pamiętając, że skład diety i zasoby zmieniają się w ciągu życia zwierzęcia, stopień ten zazwyczaj różni się pod względem substancji odżywczych, np. węglowodanów, aminokwasów. Niektóre składniki odżywcze potrzebne do reprodukcji pochodzą wyłącznie z nagromadzonych w młodości zapasów (kapitał), gdy inne przede wszystkim z diety w dorosłym życiu (dochód). W związku z tym, nawet jeśli większa część ciała rozwija się w młodości, do przetrwania potrzebuje energii i dobrej kondycji. Podobnie, jak przeżycie, reprodukcja może zależeć od różnego stopnia zależności pomiędzy dochodem a kapitałem. Samo zagadnienie „stopień przeżycia ze względu na zdobywanie pokarmu w dorosłości” (ang. *degree of income survival*) rzadko bywa omawiane w piśmiennictwie w przeciwieństwie do często poruszanych „ograniczeń w diecie” i dość często „odporności na głód” (np. Ingle *et al.* 1937, Pijpe *et al.* 2008, Kulmiński *et al.* 2009, Molleman *et al.* 2009), które zasadniczo skupiają się na *degree of income survival*, sporadycznie uwzględniając reprodukcję (np. Kulmiński *et al.* 2009, Carey *et al.* 2002).

Owady przechodzące przeobrażenie zupełne takie, jak motyle (motyle dzienne i ćmy) są znakomitym systemem modelowym, by badać wpływ diety na ewolucję długowieczności. U tych owadów występuje wyraźna różnica pomiędzy stadiami rozwoju – młodym osobnikiem (larwa) a dorosłym (imago). Dorosły owad otacza się szkieletem zewnętrznym, ograniczając swój wzrost, co w dużej mierze jest inwestycją w przetrwanie (np. pancerz, odnóża bieżne, skrzydła, czułe zmysły oraz wydzielanie substancji służących obronie). Dieta larw u większości motyli składa się z materiału roślinnego, który zawiera zarówno węglowodany jak i białko ale ma niską zawartość sodu. Z kolei dieta dorosłego owada bywa bardzo różnorodna – od nie pobierania pokarmu, przez spożywanie nektaru (głównie węglowodany), owoców (węglowodany i aminokwasy), pyłku, aż do spożywania materii zwierzęcej takiej jak padlina czy krew

(węglowodany i aminokwasy) (Norris 1936, Bänziger *et al.* 1975). Dodatkowo wiele (lecz nie wszystkie) motyle korzysta z kałuż, moczu lub odchodów drapieżników, skąd pozyskują sód i aminokwasy (Molleman 2010). Tak więc dzięki motylom otrzymujemy dane do badań porównawczych na temat wpływu diety na długowieczność tym bardziej, że dietą motyli można manipulować w celach eksperymentalnych dla oceny wpływ braku składników odżywczych lub suplementacji w diecie na długość życia i rozrodczość w niewoli.

W niniejszym autoreferacie habilitacyjnym pragnę zaprezentować trzy artykuły, opisujące trzymane w niewoli gatunki motyli dziennych odżywiające się owocami, którym zapewniono dietę o różnej zawartości aminokwasów, a następnie zmierzono długość ich życia i w niektórych przypadkach również schematy składania jaj (Uganda). W przeciwieństwie do mojej pracy badawczej z roku 2008 o *Bicyclus anynana* który był gatunkiem modelowym (częściowo uwzględnionym w mojej pracy doktorskiej w 2004), w tych badaniach wykorzystałem złowione motyle dzienne żyjące na wolności. Wadą tej metody jest nieznaną długość ich życia na wolności, a zaletą to, że na poziomie kohorty mogą ujawnić się nowe informacje, dotyczące właśnie historii życia na wolności. Taka technika „złapanej kohorty” dostarcza dane o „latach życia (lub reprodukcji), które pozostały w niewoli”, które można wykorzystać w statystyce, ponieważ osobniki są zazwyczaj złowione w połowie swego naturalnego życia (Carey *et al.* 2008). Te złapane na wolności zwierzęta miały dotychczas normalną „wolną” dietę i wolną młodość, co wpływa na sposób, w jaki reagują w warunkach niewoli. Na przykład, w zależności od diety w niewoli motyle dzienne mogą potrzebować więcej lub mniej czasu, by wyprodukować jaja, wskazując w ten sposób na niedobory pożywienia na wolności. Zgodnie z innym przykładem złapane na wolności muszki owocowe żyją dłużej (nie krócej) niż te, które zostały zebrane jako poczwarki wraz z owocami, co sugeruje, że żyjące na wolności młode owady mają przewagę służącą przeżyciu (Carey *et al.* 2008). Ten nowy paradygmat stworzył mój pierwszy opiekun stażu naukowego James Carey, który go dalej rozwinął, m.in. z pomocą matematyka – statystyka G-J. Müllera. Pomysł wykorzystania złapanych na wolności zwierząt do wyciągnięcia wniosków na temat historii życia na wolności po raz pierwszy zastosowano w odniesieniu do danych, dotyczących reprodukcji w moich publikacjach na temat motyli dziennych Ugandy (Molleman *et al.* 2008, 2009).

Dwa kolejne artykuły poświęciłem porównawczej perspektywie filogenetycznej w oparciu o dane zebrane w Estonii na motylach dziennych i miernikowcach oraz danych, obejmujących liczne gatunki owadów (Molleman *et al.* 2011, Holm *et al.* 2016). Artykuł Molleman *et al.* (2011) po raz pierwszy pokazuje, że u skrajnych *capital breeders* (korzystanie w reprodukcji z pokarmu zdobytego w stadium larwalnym), nawet woda może być traktowana jako kapitał – woda w jajach pochodzi z diety larw i nie jest wydzielana po przepoczwarczeniu jak u samców wielu gatunków lub u samic gatunków *income breeding* (pozyskujących pożywienie w czasie reprodukcji). Artykuł Holma *et al.* (2016) jako pierwszy w badaniach międzygatunkowych uwzględnia pozostałe lata życia w niewoli. Odkryliśmy, że wielkość ciała jest głównym czynnikiem determinującym długowieczność miernikowcowatych, przy czym gatunki o wyższym stopniu *income breeding* średnio żyły nieco dłużej.

Pytania:

- 1) Czy ewolucja w spożywaniu owoców przyczyniła się do wydłużenia życia u motyli dziennych odżywiających się owocami?

Wykazano, że długość aktywnego życia tych motyli dziennych jest stosunkowo duża i często przekracza sześć miesięcy (Molleman *et al.* 2007, Beck and Fiedler 2008). Inny typ motyli dziennych o takim długim życiu to żywiące się pyłkiem gatunki z rodzaju *Heliconius* (Gilbert 1972). Okazuje się, że te gatunki wykorzystują w reprodukcji aminokwasy pozyskane z pyłku (O'Brien *et al.* 2003). Dlatego można się spodziewać, że motyle dzienne odżywiające się owocami wykorzystują aminokwasy z owoców w tym samym celu (Brakefield and Kesbeke 1995). Gdy reprodukcja uniezależnia się od ograniczeń wynikających ze zgromadzonych składników odżywczych w stadium larwy (*income breeding*), dłuższe życie przekłada się na większą reprodukcję. Innymi słowy, owady, które poszukują aminokwasów (w owocach lub pyłku) po osiągnięciu dorosłości podlegają doborowi naturalnemu ze względu na dłuższe życie i wydłużoną iteroparyczność. Podobnie składniki odżywcze z owoców mogą być wykorzystywane do przeżycia, na przykład utrzymania mięśni odpowiedzialnych za skrzydła (*income survival*). W ten sposób nawyk spożywania owoców mógł utorować drogę w ewolucji do dłuższego życia u obu płci. Z tego wynikają dalsze pytania, czy

1.1) u różnych grup motyli dziennych odżywiających się owocami samice korzystają z aminokwasów z owoców, by złożyć więcej jaj lub większe jaja, czy też czynią to przez dłuższy czas?

1.2) u różnych grup motyli dziennych odżywiających się owocami, samce żyją dłużej gdy mają dostęp do aminokwasów, które mogą, na przykład, pomóc w utrzymaniu sprawności mięśni i innych organów?

1) Czy na wolności motyle dzienne odżywiające się owocami podlegają ograniczeniom pokarmowym?

Motyle te mogą żerować na różnorodnych substratach, ale pozostaje pytanie, czy to im wystarcza, czy też natrafiają na ograniczenia pokarmowe. Jeśli na wolności są dobrze odżywione, produkcja ich jaj powinna trwać aż do momentu złowienia. Jeśli brakuje im składników odżywczych, reprodukcja nastąpi z opóźnieniem, gdyż jajniki muszą być uaktywnione, i dlatego czas niezbędny do ich składania zależy od diety w niewoli. Stąd rodzą się pytania, czy:

2.1) złapane na wolności motyle dzienne wykazują stałe opóźnienie pomiędzy czasem pojmania (po, którym następuje spontaniczne odżywianie się) a czasem składania jaj?

2.2) takie opóźnienie jest krótsze, gdy zapewni się dostępne źródło aminokwasów?

3) Czy wodę można uznać za składnik odżywczy budujący kapitał?

Zauważono, że u niektórych gatunków motyli, waga poczwarki względem wagi dorosłego osobnika jest bardzo różna u różnych płci. Wysunęliśmy hipotezę, że dzieje się tak, ponieważ u owadów korzystających w reprodukcji z zasobów zdobytych we wcześniejszych stadiach (*capital breeders*) samica z jednej strony za dużo nie lata i nie odczuwa balastu wody, a z drugiej nie odżywia się i nie może absorbować wody tak, jak dorosłe osobniki. Z kolei samce tego samego gatunku muszą latać, by – tak, jak u innych motyli – znaleźć partnerkę. Stąd nasuwają się pytania, czy

3.1) różnica wagi pomiędzy poczwarkami a imagines to przede wszystkim woda, a nie sucha masa?

3.2) u samic, korzystających z kapitału ta strata wagi jest zmniejszona?

3.3) woda została umieszczana w jajach już na etapie wylęgu dorosłego motyla?

4) Czy pozyskiwanie pokarmu do reprodukcji u imagines (*income breeding*) wiąże się z dłuższym życiem u miernikowcowatych?

Podobnie do motyli dziennych odżywiających się owocami i pyłkami, można się spodziewać, że gatunki ciem, które polegają bardziej na pożywieniu jako imagines, muszą żyć dłużej, aby znaleźć pożywienie i dobór może sprawić, że będą żyły dłużej, gdyż rozmnażanie trwa u nich do późnego wieku. Dlatego pytamy czy:

- 4.1) gatunki miernikowcowatych, które wykazują wyższy poziom *income breeding*, żyją dłużej?

Dyskusja

W niniejszej pracy habilitacyjnej prezentuję serię artykułów, które poruszają temat, w jaki sposób dieta dorosłych osobników motyli jest związana z długowiecznością. Podstawową metodą badań było trzymanie pojedynczo w niewoli dorosłych motyli i rejestrowanie długości ich życia, a także wzorców reprodukcji w przypadku samic. Następnie przeprowadziliśmy filogenetyczne analizy porównawcze utraty wagi pomiędzy poczwarkami a imagines (utrata wagi na etapie wylęgu dorosłego motyla) oraz długowieczności dorosłych. Wyniki pokazują, że rzeczywiście dieta odgrywa ważną rolę, determinując długowieczność u owadów zdobywających pożywienie do reprodukcji jako imagines (*income breeding*), co jest związane z dłuższym życiem. Część różnic pomiędzy gatunkami zdaje się być jednak zależna od wielkości ciała dorosłego osobnika. Wśród motyli dziennych odżywiających się owocami dodatek aminokwasów w diecie dorosłych owadów przynosi mały wzrost reprodukcji u niewielkich *Bicyclus anynana* (Molleman *et al.* 2008), a u większych motyli dziennych z rodzaju *Euphaedra* karmionych bananami reprodukcja utrzymywała się na niemal stałym poziomie, podobnie jak wielkość jaj, co nie jest możliwe u tych owadów, które spożywały tylko cukier. Osobniki gatunku *Charaxes fulvescens* (ciało podobnej wielkości do motyli z rodzaju *Euphaedra*) również wykazały znaczącą odpowiedź na dietę. Wielkość ciała została uznana za główny czynnik determinujący długowieczność u miernikowcowatych, chociaż wydaje się być słabo skorelowana z długowiecznością u motyli dziennych.

Czy ewolucja spożywania owoców przyczyniła się do zwiększenia długowieczności u motyli dziennych odżywiających się nimi? Moje badania na *Charaxes fulvescens* (Molleman *et al.* 2008) i gatunkach z rodzaju *Euphaedra* (Molleman *et al.* 2009) pokazały, że te duże motyle dzienne mogą wykorzystywać składniki odżywcze z owoców, aby utrzymać reprodukcję w ciągu całego dorosłego życia. Tak jednak nie dzieje się w przypadku *Bicyclus anynana*, u których nie odkryłem takiego powiązania (praca doktorska Molleman 2004, Molleman *et al.* 2008). Geister *et al.* (2008) później dostrzegli mały, ale znaczący związek, przede wszystkim większy sukces wylęgania jaj w późniejszym życiu motyli dziennych karmionych bananami w przeciwieństwie motyli pozostających tylko na całkowicie sztucznej diecie. Nasuwa się zatem wniosek, że wśród różnych grup motyli dziennych żywiących się owocami dieta nie jest oczywistym kluczem do ewolucji wydłużonej długowieczności, ponieważ nawet takie małe gatunki często żyją długo. I tak Tufto *et al.* (2012) odkryli, że spośród dziesięciu gatunków motyli dziennych odżywiających się owocami w Ekwadorze większe gatunki żyją krócej, a nie dłużej. Odkryliśmy również, że u różnych grup motyli dziennych odżywiających się owocami samce żyją dłużej, gdy mają dostęp do aminokwasów i innych składników odżywczych (dieta bananowa porównywana z dietą wyłącznie cukrową). Być może składniki te pomagają utrzymać mięśnie i inne narządy tak, jak ma to miejsce w przypadku przeżycia w oparciu o pokarm zdobyty przez imagines (*income survival*). Owady zazwyczaj przed śmiercią trwają jakiś czas w stadium przedśmiertnym – często leżą do góry nogami, a nawet poruszają się, gdy się je niepokoi (nietyczne zachowania: leżenie na wznak: Papadopoulos *et al.* 2002). Niewykluczone, że dzieje się tak samo, gdy układ nerwowo-mięśniowy otrzymuje zbyt mało składników odżywczych. Składniki odżywcze w diecie dorosłych owadów odgrywają rzeczywiście istotną rolę w wydłużonej długowieczności, ale zdaje się, że nie jest to główna siła ewolucyjna u wszystkich gatunków, zwłaszcza tych o małych rozmiarach ciała.

Czy na wolności motyle dzienne odżywiające się owocami podlegają ograniczeniom w dostępności do pożywienia? Złapane na wolności motyle wykazują stałą tendencję do opóźnienia w składaniu jaj o cztery do siedmiu dni. Można to zrzucić na karb czasu potrzebnego do przystosowania, ale liczne inne motyle zaczynają składać jaja tuż po złapaniu, jeśli zapewni się im odpowiednią roślinę żywicielską, jak to miało miejsce w naszych badaniach (Molleman *et al.*

2008, 2009). Co więcej, u motyli dziennych z rodzaju *Euphaedra* ten okres opóźnienia skrócił się znacznie, gdy dorosłym owadom zapewniono banany niż gdy miały wyłącznie dostęp do cukrów. Posiadam również nieopublikowane dane, które wskazują, że średnia masa (korekta uwzględnia długość skrzydeł) różni się sezonowo, co oznacza, że często brak im składników odżywczych do utrzymania wagi ciała. Badania obejmujące ograniczenia kaloryczne (pół-głodowe) mogłyby rzucić więcej światła na tę kwestię. Ograniczenie pożywienia u owadów pozyskujących na wolności pokarm w dorosłości mogą spowolnić tempo reprodukcji i w ten sposób przyczynić się do większej długowieczności, tak by uzyskać czas potrzebny do realizacji płodności.

Czy wodę można traktować jako kapitałowy składnik odżywczy? W naszych studiach porównawczych opartych na oryginalnych danych dotyczących miernikowcowatych i motyli dziennych z Estonii oraz literaturze poświęconej owadom (Molleman *et al.* 2011) wykorzystaliśmy coś, co zdaje się być zaledwie enigmatycznym zjawiskiem (utrata wagi przy wylęgu imago), aby wykazać, że u motyli woda może być użyta jako źródło pokarmu zgromadzonego we wcześniejszych stadiach. Dzieje się tak zwłaszcza u skrajnych *capital breeders*, u których samice nie mają czynnego aparatu gębowego i są często bezskrzydłe, a woda zdobyta w stadium larw jest lokowana w jajach, a nie wydalana. U samców tego samego gatunku i samic bardziej korzystających z nabytego pożywienia, niemal połowa masy poczwarki jest tracona przez wydalanie wody (bardzo mała strata suchej masy). Wydaje się, że dla przeobrażenia potrzebna jest matryca wodna, ale u większości owadów taka woda staje się po wylęgu imago niepotrzebnym balastem i jest wydalana. Wodę można wówczas łatwo i w miarę potrzeby zdobyć poprzez picie (np. poranna rosa/nektar kwiatów).

Czy pozyskiwanie pokarmu do reprodukcji w dorosłości wiąże się z większą długością życia u miernikowców?

Wykazaliśmy, że gatunki miernikowców, które mają wyższy stopień *income breeding* żyją znacznie dłużej (Holm *et al.* 2016). Jednakże rezultat ten nie był imponujący i pozostał w cieniu wniosku dotyczącego wielkości ciała – duże ćmy żyją dłużej. Z jednej strony oznacza to, że większy rozmiar zapewnia im pewną ochronę przed zewnętrznymi przyczynami śmierci, np. z powodu drapieżników czy złej pogody (np. odwodnienie), i w ten sposób gatunki o większym

ciela mogą lepiej wypaść w obliczu doboru względem starości. Z drugiej jednak strony mniejsze ciała mogą mieć większe tempo metabolizmu, gdyż tak się dzieje u mniejszych organizmów, co może zaowocować większą liczbą wolnych rodników, które u małych ciał wywołują szybsze starzenie. Jednak wcale tak nie musi się dziać, ponieważ u motyli dziennych odżywiających się owocami jest na odwrót – gatunki o większym ciele są bardziej aktywne (a nie mniej) i żyją krócej (Tufto *et al.* 2012). Chcąc lepiej zrozumieć skutki związane z wielkością ciała, potrzebne są dane dotyczące śmiertelności zewnętrznej ciał zależnej od wielkości oraz tempa metabolizmu.

Wnioski

Ewolucja w spożywaniu owoców mogła przyczynić się do większej długowieczności u motyli dziennych odżywiających się owocami, gdyż wiele gatunków potrafi utrzymać reprodukcję w zaawansowanym wieku dzięki składnikom odżywczym pochodzącym z owoców. Motyle te na wolności zdają się mieć ograniczony dostęp do pożywienia, co może spowalniać tempo ich reprodukcji i w ten sposób sprzyjać większej długowieczności tak, aby mogły zrealizować swoją płodność. W naszych badaniach jako pierwsi wykazaliśmy, że woda może być traktowana jako składnik odżywczy – kapitał, zwłaszcza u owadów skrajnie polegających na zasobach z wczesnego stadium (*capital breeders*), u których większość jaj jest gotowa w momencie wylęgu imago. U miernikowców zdobywających pokarm jako imagines (*income breeding*) oznacza to większą długość życia, ale efekt ten jest nieznaczny i zdominowany przez wielkość ciała. Niniejsze badania sugerują, że pożywienie stanowi istotny czynnik w ewolucji długości życia i starości, ponieważ zapewnia składniki odżywcze potrzebne do inwestycji w przeżycie i reprodukcję.

Piśmiennictwo

1. Attisano, A., Moore, A. J., Moore, P. J. (2012) Reproduction-longevity trade-offs reflect diet, not adaptation. *Journal of Evolutionary Biology* 25:5
2. Bänziger H. (1975) Skin-piercing blood-sucking moths I: ecological and ethological studies on *Calpe eustrigata* (Lepid., noctuidae). *Acta Tropica* 32(2): 125-44
3. Beck, J. K. Fiedler (2008). Adult life spans of butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea + Hesperioidea): broadscale contingencies with adult and larval traits in multi-species comparisons. *Biological journal of the Linnean Society* 96(1): 166–184
4. Bell G. (1984) Evolutionary and non-evolutionary theories of senescence. *American Naturalist* 124: 600-603
5. Boggs, C.L. (2009). Understanding insect life histories and senescence through a resource allocation lens. *Functional Ecology* 23: 27-37.
6. Brakefield, P.M., Kesbeke, F. (1995). Raised adult lifespan and female fecundity in tropical fruit-feeding *Bicyclus* butterflies. *Proceeding of Experimental and Applied Entomology* 6: 93–98.
7. Carey JR, Molleman F. 2010 Reproductive aging in tephritid fruit flies. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1204: 139-148
8. Carey JR , Hans-Georg Müller , Jane-Ling Wang , Nikos T Papadopoulos , Alexandros Diamantidis, Nikos A Koulousis. (2012) Graphical and demographic synopsis of the captive cohort method for estimating population age structure in the wild. *Experimental Gerontology* 47 (10): 787-791
9. Carey JR, Liedo P, Harshman L, Zhang Y, Müller HG, Partridge L, Wang JL. (2002). Life history response of Mediterranean fruit flies to dietary restriction. *Aging Cell* 1(2): 140-8
10. Carey, J. R., Papadopoulos, N. T., Müller, H.-G., Katsoyannos, B. I., Kouloussis, N. A., Wang, J.-L., ... Liedo, P. (2008). Age structure changes and extraordinary lifespan in wild medfly populations. *Aging Cell*, 7(3), 426–437.
11. Davis, R. B., Javoš, J., Kaasik, A., Öunap, E. & Tammaru, T. (2016) An ordination of life-histories using morphological proxies: capital vs income breeding in insects. *Ecology*, 99, 2112–2124
12. Gaillard, J.-M., Berger, V., Tidière, M., Duncan, P. & Lemaître J.-F. (2015) Does tooth wear influence ageing? A comparative study across large herbivores. *Experimental Gerontology*, 71, 48–55.
13. Geister T, Lorenz M, Hoffmann K, Fischer K. (2008). Adult nutrition and butterfly fitness: effects of diet quality on reproductive output, egg composition, and egg hatching success. *Frontiers in Zoology*;5:10.
14. Gilbert, L. (1972) Pollen Feeding and Reproductive Biology of *Heliconius* Butterflies (fatbody/nitrogenouscompounds/reproductivestrategy) *Proc.Nat.Acad.Sci.USA* 69(6): 1403-1407
15. Holm S, Davis RB, Javoš J, Öunap E., Molleman F, Kaasik A, Tammaru T. 2016. A comparative perspective on longevity: the effect of body size dominates over ecology in moths. *Journal of Evolutionary Biology* 29: 2422–2435
16. Ingle, L., T.R. Wood, and A.M. Banta (1937). A study of longevity, reproduction and heart rate in *Daphnia longispinu* as influenced by limitations in quantity of food. *Journal of Experimental Zoology* 76: 325-352.
17. Jones, O.R., Scheuerlein, A., Salguero-Gomez, R., Camarda, C.G., Schaible, R., Casper, B.B., Dahlgren, J.P., Ehrlen, J., Garcia, M.B., Menges, E.S., Quintana-Ascencio, P.F., Caswell, H., Baudisch, A. & Vaupel J.W. (2014) Diversity of ageing across the tree of life. *Nature*, 505: 169–171.
18. Lemaître, et al 2015. Early-late life trade-offs and the evolution of ageing in the wild. *Proceedings of the Royal Society of London B* 282
19. Kirkwood, and R. Holliday (1979). The evolution of ageing and longevity. *Proceedings of the Royal Society of London B* 205: 531-546
20. Kirkwood, TBL (2002) Evolution of ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, 123(7): 737-745

21. Kulmiński KM, Molleman F, Culminkaya IV, Arbeev KG, Ukraintseva SV, Carey JR, Yashin AI. 2009. Date of eclosion modulates longevity: insights across dietary-restriction gradients and female reproduction in the mexfly *Anastrepha ludens*. *Experimental Gerontology* 44: 718–726
22. Magnhagen, C. (1991). Predation risk as a cost of reproduction. *Trends in Ecology & Evolution* 6(6): 183-186
23. Medawar, PB. (1952). An unsolved problem of biology. In: Uniqueness of the Individual. Verlag H. K. Lewis, London, 44–70.
24. Molleman, F., Ding, J., Boggs, CL., Carey, JR. & Arlet, ME. (2009) Does dietary restriction reduce life span in male fruit-breeding butterflies? *Experimental Gerontology*, 44: 601–606.
25. Molleman F. (2010). Puddling: from natural history to understanding how it affects fitness (review) *Entomologia Experimentalis et Applicata* 134: 107–113
26. Molleman F, Javoš J, Esperk T, Teder T, Davis RB, Tamaru T. 2011 Sex-specific weight loss upon adult eclosion in Lepidoptera *Journal of Insect Physiology* 57: 712–722.
27. Molleman F, Zwaan BJ, Brakefield PM, and Carey JR. 2007. Extraordinary long life spans in fruit-breeding butterflies can provide window on evolution of life span and aging. *Experimental Gerontology* 42: 472-482
28. Molleman F, Ding J, Wang J-L, Brakefield PM, Carey JR, and Zwaan BJ. 2008. Amino acid sources in the adult diet do not affect life span and fecundity in the fruit-feeding butterfly *Bicyclus anynana*. *Ecological Entomology* 33: 429-438
29. Newcombe, D., Hunt, J., Mitchell, C., & Moore, A. J. (2015). Maternal effects and maternal selection arising from variation in allocation of free amino acid to eggs. *Ecology and Evolution*, 5(12): 2397–2410.
30. Norris, M.J. (1936) The feeding-habits of the adult lepidoptera heteroneura. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 85(2) 61- 90
31. Orzack, S. (2003). How and why do aging and life span evolve? *Population and Development Review*, 29, 19-38
32. Williams, G. (1957). Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution*, 1(4): 98-411.
33. O'Brien, D.M, Boggs, C.L. and Fogel, M.L. 2003. Pollen feeding in the butterfly *Heliconius charitonia*: isotopic evidence for essential amino acid transfer from pollen to eggs. *Proceedings of the Royal Society London* 270: 2631-2636.
34. Papadopoulos, NT, James R. Carey, Byron I. Katsoyannos, Nikos A. Kouloussis, Hans–Georg Müller, Xueli Liu (2002) Supine behaviour predicts the time to death in male Mediterranean fruitflies (*Ceratitis capitata*) . *Proceedings of the Royal Society London B* 269: 1633-1637
35. Pijpe J., Paul M. Brakefield, Bas J. Zwaan (2008) Increased life span in a polyphenic butterfly artificially selected for starvation resistance. *The American Naturalist* 171(1): 81-90
36. Stephens, P.A., Boyd, I.L., McNamara, J.M. & Houston, A.I. (2009). Capital breeding and income breeding: their meaning, measurement, and worth. *Ecology*, 90: 2057-2067.
37. Tammaru, T. & Haukioja, E. (1996). Capital breeders and income breeders among Lepidoptera: consequences to population dynamics. *Oikos*, 77: 561-564.
38. Tufto, J., Lande, R., Ringsby, TH., Engen, S., Saether, BE., Walla, TR. *et al.* (2012). Estimating Brownian motion dispersal rate, longevity and population density from spatially explicit mark-recapture data on tropical butterflies. *Journal of Animal Ecology*, 81: 756-769.
39. Wallace, AR. (1889) Darwinism: an exposition of the theory of natural selection with some of its applications, 2nd edn. London, UK: MacMillan
40. Xu K, DiAngelo JR, Hughes ME, Hogenesch JB, Sehgal A. (2011). Interaction between circadian clocks and metabolic physiology: implications for reproductive fitness. *Cell metabolism*. 13(6): 639–654.

5. Opis innych osiągnięć naukowych

Oprócz pięciu artykułów przedstawionych w niniejszym autoreferacie, opublikowałem trzydzieści osiem artykułów i mój wskaźnik Hirscha wynosi 14.

Chronologiczny przegląd rozwoju moich zainteresowań i działalności badawczej

Studia biologiczne rozpocząłem na Uniwersytecie Rolniczym w Wageningen, Holandia, szczególną pasję odczuwając w Zakładzie Entomologii gdzie byłem szczególnie zainteresowany badaniami nad pszczołami. Zainteresowałem się nauką o roślinności i ekologią w rolnictwie. Jednak mój największy entuzjazm budziły badania z zakresu ekologii ewolucyjnej w Zakładzie Entomologii, które wówczas były nowatorskimi odkryciami w zakresie komunikacji pomiędzy roślinami i naturalnymi wrogami ich fitofagów. Zrealizowałem wówczas dwa projekty badawcze o roli zapachów wydzielanych przez rośliny w przemieszczaniu się naturalnych wrogów szkodników upraw. Pierwszy projekt dotyczył przemieszczania się naturalnych wrogów skoczkwatych z żywopłotów na grusze i pozwolił mi na zrozumienie dynamiki przestrzenno-czasowej interakcji drapieżca-ofiara oraz na zidentyfikowanie różnych grup owadów (zwłaszcza pluskwiaków i bzygowatych). Moja pierwsza publikacja dotyczyła wyników właśnie tych badań. Mój drugi projekt realizowałem w ścisłej współpracy z innym studentem. Badaliśmy zachowania poszukujących żywiciela parazytoidów bielinka rzepnika : generalisty (ang. *generalist*; bez specjalizacji żywieniowej) i specjalisty (ang. *specialist*; ze specjalizacją żywieniową). Badania prowadziliśmy w monokulturze upraw kapusty i kapusty wymieszanej z ziemniakami, prowadząc szczegółowe obserwacje behawioralne w tunelu aerodynamicznym i w terenie. Za tę pracę otrzymaliśmy możliwie najwyższą ocenę.

W czasie wakacji pracowałem jako asystent pszczelarza w południowej Francji, gdzie ponadto rozwinąłem umiejętność konwersacji w języku francuskim.

Następnie postanowiłem zdobyć doświadczenie w naturalnym środowisku i rozpocząłem staż w Australii, gdzie zajmowałem się projektem poświęconym zachowaniom chrząszczy żerujących na roztoczach. Dzięki temu nauczyłem się pracować z różnymi przedstawicielami fauny owadów, która w dużej mierze pozostaje nieopisana. W Australii napisałem moją drugą publikację i otrzymałem nagrodę za prezentację pracy w formie posteru pięć miesięcy później.

Dalszym konsekwentnym krokiem było rozpoczęcie studiów doktoranckich na uniwersytecie w Lejdzie (Holandia), gdzie prowadziłem podstawowe badania nad ewolucją historii życia organizmów i bioróżnorodnością. Wiązało się to z pracą w terenie w lasach tropikalnych Ugandy oraz doświadczeniami przeprowadzonymi w laboratorium. W oparciu o projekt stworzony w Ugandzie kontynuowałem badania na dwóch, następujących po sobie stażach podoktorskich – na Uniwersytecie Kalifornijskim w Davis (USA), gdzie zajmowałem się długością życia motyli dziennych, oraz na Uniwersytecie w Tartu (Estonia). W Estonii powróciłem do studiów nad bioróżnorodnością, dla których przez cały czas zbierałem dane i przygotowałem badania nad integracją historii życia organizmów oraz ekologią zgrupowań. Na Uniwersytecie w Rennes (Francja) zajmowałem się zagadnieniami leżącymi na styku ekologii i ewolucji czyli ekologią zgrupowań, częściowo powracając do pytań o wpływ różnorodności roślin i ich przestrzennego rozmieszczenia na owady, nad czym pracowałem już jako student. To wszystko pozwoliło pogłębić moją wiedzę na temat biologii zgrupowań i ekologii krajobrazu. Ponadto uczestniczyłem we wszystkich etapach badań nad historią życiową i zachowaniem małp, a także badaniach dotyczących rolnictwa i agroleśnictwa w Kamerunie.

Podsumowując, większość mojej dotychczasowej działalności można podzielić na dwie części – studia nad ewolucją historii życia organizmów oraz bioróżnorodnością. Obecnie pracuję nad połączeniem tych dwóch dziedzin, co znajduje odzwierciedlenie w wykazie moich publikacji.

Jak różnorodność roślinności kształtuje ewolucję historii życia owadów?

Owady wykazują szeroki wachlarz cech i zachowań w swej historii życia, które można rozumieć w kategorii stopnia ich specjalizacji w relacji z roślinami. U niektórych owadów całe pokolenia spędzają życie na tej samej małej powierzchni, inne z kolei migrują tysiące kilometrów, są też takie, które żyją zaledwie kilka dni i takie, które mogą przeżyć wiele dziesięcioleci (Carey 2001). Kluczową determinantą takich cech jest istota relacji z roślinami, która różni się stopniem specjalizacji między gatunkami, zapewniając mniej lub bardziej obfite zasoby, rozmieszczone miejscowo lub okresowo dostępne. Ważnym sposobem porządkującym takie wariacje jest określenie strategii złożonych z takich zintegrowanych cech. Podstawowym aspektem każdego organizmu jest jego historia życia, która jest bezpośrednio powiązana z morfologią, fizjologią i zachowaniem oraz przesądza o właściwościach demograficznych.

Relacje pomiędzy odżywianiem a rozmnażaniem (zdobycie i rozmieszczenie zasobów) są sprawą fundamentalną historii życia (Boggs 2009). Choć pożywienie jest niezbędne do reprodukcji, wiele owadów nie pobiera pokarmu w stadium imago. Zwierzęta, które nie odżywiają się w czasie reprodukcji bazują na wcześniej zgromadzonych i transportowanych zapasach. Takie rezerwy nazywa się kapitałem (ang. *capital*), a pożywienie zdobyte w dorosłości określa się jako dochód (ang. *income*) (Stephens *et al.* 2009). Strategia oparta o kapitał pozwala na reprodukcję przy niedostatku pożywienia u dorosłych, ale wiąże się również z ograniczoną mobilnością. Warto zauważyć, że jest bardziej prawdopodobne, że owady korzystające z kapitału wykażą silne fluktuacje liczebności, zwane gradacjami (ang. *outbreak dynamics*) (Tammaru & Haukioja 1996), co sugeruje ogólny wpływ stopnia *income breeding* na demografię. Poziom *income breeding* zdaje się być jedyną, najważniejszą osią, wzdłuż której gatunki owadów tworzą swoje strategie. Poświęciłem uwagę temu zagadnieniu głównie z perspektywy ewolucji długości życia i starzenia. Systemy modelowe, które wykorzystałem obejmowały motyle dzienne, ćmy, muchówki i małpy.

Określiłem położenie zwierząt na osi kapitał – dochód ze względu na źródło zasobów, aby rzucić światło na ewolucję zintegrowanych cech, zwłaszcza długość

życia. Testowałem hipotezy, jak rozmnażanie w oparciu o zasoby zdobyte we wczesnych stadiach (kapitał) ma się wobec pożywienia zdobywanego w dorosłości (dochód) i wpływa na długość życia: 1) całkowite *income breeding* przyspiesza ewolucję większej długowieczności, 2) *income breeding* jest kojarzone z dłuższym życiem, oraz 3) wpływ fenotypu na wydłużenie długości życia poprzez ograniczenia w diecie.

Ważnym elementem mojej pracy doktorskiej była robocza hipoteza, że motyle dzienne odżywiające się owocami wykorzystują aminokwasy zaczerpnięte z owoców, aby złożyć jaja, co przyczynia się do ich długowieczności, gdyż poszczególne owady są w stanie kontynuować reprodukcję w późniejszym wieku. Motyle dzienne odżywiające się owocami żyją głównie w lasach tropikalnych i przyciągają je gnijące owoce, bardzo rzadko lub wcale kwiaty. Do spożywania owoców rozwinęły dwie wyraźne modyfikacje ssawki (*proboscis*), by móc nakłuwać miękkie pożywienie lub zbierać sok z powierzchni (Molleman *et al.* 2005a). Szeroki wybór owoców i innych pokarmów jest bardzo ważny w ich diecie. Średnio owoce zawierają więcej aminokwasów niż nektar kwiatowy (Molleman *et al.* 2005b), stąd wyewoluowało korzystanie z

„dorosłego” pożywienia jako pełnowartościowej diety, umożliwiającej produkcję jaj. Z tego powodu przewidywałem, że motyle dzienne odżywiające się owocami korzystają ze zdobytych węglowodanów i aminokwasów do reprodukcji (*income breeding*). To pomoże wyjaśnić, dlaczego motyle te żyją stosunkowo długo (Molleman *et al.* 2007, Beck & Fiedler 2009; Tufto *et al.* 2012). Dzięki dotychczasowym wynikom (40.000 rekordów), które zebrałem metodą wielokrotnych złowień okazuje się, że rekordy długowieczności często przekraczają sześć miesięcy (Molleman *et al.* 2007). Co ciekawe, eksperymenty z motylami *Bicyclus anynana* nie wykazały szczególnego wpływu aminokwasów, które dodałem do diety cukrowej, ani różnic pomiędzy motylami karmionymi bananami a karmionymi cukrem (Molleman *et al.* 2008 praca doktorska, przeanalizowane ponownie podczas stażu podoktorskiego na Uniwersytecie Kalifornijskim w Davis). W dalszej kolejności zebrałem w terenie dane dotyczące większych gatunków (Molleman *et al.* 2008a dane zebrane podczas badań w ramach doktoratu, przeanalizowane podczas stażu podoktorskiego na Uniwersytecie Kalifornijskim w Davis), a następnie kolejnych gatunków (zob. główna część niniejszej habilitacji).

Przeprowadziłem badania porównawcze, aby wyjaśnić i uogólnić ewolucyjne konsekwencje rozrodu w oparciu o zasoby zdobyte we wczesnych stadiach w porównaniu z pokarmem zdobywanym w dorosłości (Uniwersytet w Tartu).

Określenie korelacji i następstw w/w stało się jednym z kluczowych tematów badawczych. Głównym systemem modelowym były miernikowce, ponieważ ta rodzina motyli różni się bardzo pozycjami na osi kapitał – dochód, cechami ekologicznymi, ponadto dobrze się z nimi pracuje. Dieta dorosłych owadów waha się od nie odżywiania się do pobierania nektaru kwiatowego (cukry). Pomogłem opracować indeksy stopnia pozyskania pokarmu u imagines, które mogą być używane w badaniach porównawczych. Odkryliśmy, na przykład, że samice ciem korzystających z zasobów uzyskanych przez larwy mają stosunkowo ciężki odwłok w porównaniu z tułowiem. Nasze dane ilustrują również związek pomiędzy większą długowiecznością u owadów korzystających z pokarmu jako imagines, a ich wyższym stopniem specjalizacji żywicielskiej (Javoiš *et al.* 2011).

Położenie gatunków miernikowców na osiach domniemanych indeksów income breeding i capital breeding (po lewej) i income breeding (po prawej).

Inne składniki odżywcze są również potencjalnie ważne i mogą być traktowane jako dochód lub kapitał. Zauważyłem w terenie, że liczne motyle

dzienne odżywiają się owocami również zdobywają pokarm na odchodach drapieżników i na padlinie, i stąd pytanie, jak to wpływa na ich reprodukcję. Poszukiwanie odpowiedzi zaowocowało linią badawczą nad zjawiskiem określanym po angielsku *puddling*, czyli żerowanie w błocie, na odchodach lub padlinie. Wykazaliśmy, że u wielu gatunków motyli dziennych (ale nie wszystkich), samce żerują w ten sposób, przekazując następnie samicom sól podczas kopulacji (Molleman *et al.* 2005a). Dlatego wydaje się prawdopodobne, że zdobyty podczas kopulacji sól samice używają do reprodukcji (Pivnick & McNeil 1987). Jednakże w eksperymencie na *Bicyclus anynana* nie odkryłem wyraźnego wpływu sodu w diecie na reprodukcję, zarówno u samców jak i ich partnerek mimo, że ujawniły się ciekawe strategie samców (Molleman *et al.* 2004). Badania przy pomocy proporcji trwałych izotopów nie ujawniły, by owady te pobierały azot z padliny czy odchodów (Molleman & Midgley 2009). To zagadnienie rozwinąłem w artykule przeglądowym na temat *puddling* u stawonogów lądowych, podając w wątpliwość długoletnią hipotezę o aktywności nerwowo-mięśniowej i sugerując wpływ sodu na absorpcję aminokwasów w stadium larwy (Molleman 2010). Krótko mówiąc, w mojej pracy na temat *puddling* podkreślam potencjał interakcji pomiędzy składnikami odżywczymi oraz ważną rolę, jaką może pełnić w reprodukcji stopień nabycia pokarmu w dorosłości w ewolucji systemów kopulacji.

Długowieczność wymaga również inwestycji w obronę, która może pochodzić z substancji obronnych roślin. Można się spodziewać, że długożyjące organizmy, zdobywające pokarm do rozrodu jako imagines zainwestują więcej w obronę niż krótko żyjące owady bazujące na

kapitale (Pasteels & Grégoire 1983). Na przykład, długożyjący migrujący danaid wędrowny broni się chemicznie. Z kolei obrona chemiczna wiąże się ze specjalizacją żywicielską, co jest kolejną cechą charakteryzującą adaptacyjne strategie organizmów, zdobywających pokarm do rozrodu jako imagines (Nishida 2002). Opracowałem nową technikę pomiaru obrony chemicznej przed drapieżnikami i odkryłem, że kilka motyli dziennych odżywiających się owocami znanych jako smaczne, są w rzeczywistości niesmaczne (Molleman *et al.* 2012). Ponadto podczas pobierania pokarmu następuje kontakt z mikroorganizmami, stąd niezbędna jest reakcja odpornościowa, szczególnie jeśli pokarmem są rozkładające się owoce lub mięso (Molleman 2010). Obecnie jestem współuczestnikiem projektu, pod kierownictwem Siiri-Lii Sandre z Uniwersytetu w Tartu, poszukującego związku pomiędzy cechami immunologicznymi a długowiecznością i dietą imagines owadów.

Dla długiego życia potrzebne są strategie związane ze zdobywaniem pokarmu (income breeding), gdyż zwierzęta muszą inwestować w mocne ciało, które „zużyje” się stopniowo i będzie zdolne odpierać atak. Istotnym aspektem starzenia się zwierząt są nieodwracalne uszkodzenia ciała (Jones *et al.* 2014). Temu zagadnieniu dotychczas nie poświęcono jednak uwagi w badaniach ekologicznych i badaniach historii życia. Na Uniwersytecie Kalifornijskim w Davis rozwinęliśmy badania nad uszkodzeniami ciała (ang. *impairment studies*), które powodują utratę funkcji, obniżają przeżycie i reprodukcję. W eksperymentach usuwaliśmy odnóża, aby zbadać przeżycie i reprodukcję (Carey *et al.* 2007, Carey *et al.* 2009) oraz powiązaliśmy konfigurację ran i uszkodzeń szkieletu małą z agresją i drapieżnictwem (Arlet *et al.* 2009a). Uszkodzenia te wykorzystałem jako wskaźniki ich wieku w badaniach nad zbieranymi w terenie motylami dziennymi (Molleman *et al.* 2005b; Molleman *et al.* 2009b; Molleman *et al.* 2009a). Obecnie kończę manuskrypt dla *Journal of Animal Ecology*, gdzie przedstawiam pierwszą dogłębną analizę porównawczą uszkodzeń ciała w oparciu o dane dotyczące motyli dziennych zebrane w latach 2006-2012. W Indiach zajmowałem się powiązaniem kształtu uszkodzeń skrzydeł z atakami jaszczurek, porównując wyniki eksperymentów z kształtem uszkodzeń skrzydeł motyli dziennych żyjących na wolności. Modele demograficzne prezentujące szacowaną długość życia żyjących na wolności populacji owadów można znacznie ulepszyć poprzez uwzględnienie uszkodzeń jako przyczyny obniżonego przeżycia zwłaszcza, że uszkodzenia takie są stosunkowo łatwe do oszacowania. Moim zdaniem inwestycja w unikanie

ataku (i jako sprawca i jako ofiara) oraz przeżycie ataku z odniesieniem minimalnych szkód jest niezmiernie ważna dla osiągnięcia długiego życia tak, jak w przypadku umiejętności zdobycia pokarmu do reprodukcji imagines u *income breeders*.

U *income breeders* dostępność pożywienia w stadium imago (np. nektar kwiatowy i pyłek) może wpływać na zrealizowaną długość życia i reprodukcję na wolności i w ten sposób spełnić wymagania środowiskowe owadów w zależności od przyjętej strategii w ich historii życia. W przyrodzie zwierzęta zazwyczaj borykają się z brakiem odpowiedniej ilości określonych składników odżywczych albo pokarmem o różnej jakości odżywczej i dlatego wybór pożywienia i diety może wpłynąć na przebieg indywidualnej historii życia. U zwierząt w niewoli często zauważa się lepszą przeżywalność przy ograniczonej diecie, stąd ograniczenia dietetyczne są stosowane jako sposób na zwiększenie długowieczności. Eksperymenty mające na celu określenie stopnia *income breeding* są podobne do eksperymentów nad ograniczeniami dietetycznymi, jednak organizmy modelowe są całkowitymi *income breeders* i pytania oscylują wokół samych skutków fenotypowych. Gatunki muchówek z rodziny nasionnicowatych (Tephritidae) stanowią bardzo dogodny system modelowy, ponieważ substrat, na którym składają jaja nie jest ich pokarmem (można więc ograniczyć dietę nie zmniejszając możliwości reprodukcji). Ich pokarm jest płynny, można go łatwo dozować i są one hodowane w olbrzymich ilościach, by wypuścić bezpłodne samce. Dane dotyczące tych muszek owocowych (a później innych zwierząt) pokazują, że optymalna zawartość białka w diecie jest różna dla optymalizacji tempa reprodukcji i dla długowieczności. Nie można tego uznać za koszt reprodukcji sam w sobie (*per sé*) – wysoka zawartość białka źle służy przeżyciu bez względu na to, czy samica składa jaja czy nie (Kulmiński *et al.* 2009). Z tego płynie wniosek, że na poziomie wyboru diety następuje kompromis, który nie wiąże się z przeznaczeniem zasobów pokarmowych, gdyż organizm mający wybór pomiędzy pożywieniem bogatym w węglowodany czy w białka może wybrać taki pokarm, który będzie korzystny dla długości życia (węglowodany) lub dla reprodukcji (białka). Poza tym optymalna dieta jest różna dla samców i samic (Kulmiński *et al.* 2009).

Filogenetyczna różnorodność roślinności wpływa na mikroewolucję owadów. Różnorodność roślinności wpływa na ewolucję specjalizacji żywicielskiej i długowieczność roślinożernych

owadów w skali krajobrazu, a równocześnie owady kolonizują pojedyncze rośliny, które stają się wyspami wśród roślinności. Z punktu widzenia wielu kolonizujących owadów poszczególne rośliny żywicielskie otoczone sąsiadami filogenetycznie odległymi (pojedyncze rośliny daleko spokrewnionych gatunków) są filogenetycznie izolowane. Izolacja filogenetyczna wpływa na zgrupowania owadów na poszczególnych drzewach, ponieważ jest mniej prawdopodobne, że część roślinożerców skolonizuje bardziej filogenetycznie izolowane drzewa (Vialatte *et al.* 2010). W rezultacie liście bardziej filogenetycznie izolowanych drzew są uszkodzane w znacznie mniejszym stopniu (Yguel *et al.* 2011). Tak więc, dla rośliny może być korzystne, gdy rośnie wśród innych daleko spokrewnionych roślin, a dla roślinożernych owadów korzystne może być skolonizowanie takich izolowanych roślin żywicielskich, gdyż będą na nich doświadczały mniejszej konkurencji i będzie istniała mniejsza szansa na to, że zostaną odnalezione przez wyspecjalizowanych wrogów naturalnych (Yguel *et al.* 2014). Dla odmiany, drapieżcy napotkają niższe zagęszczenie ofiar na bardziej filogenetycznie izolowanych drzewach. Odkryłem, że gatunki sprzążkowatych o roślinożernych larwach są większe na bardziej filogenetycznie izolowanych drzewach, a drapieżcy na ogół są mniejsi (Molleman *et al.* 2016). Może to być spowodowane tym, że roślinożercy doświadczają mniejszej konkurencji i drapieżcy obniżają zagęszczenie ofiar na bardziej filogenetycznie izolowanych drzewach. Pokazuje to, że makroewolucyjne sąsiedztwo poszczególnych drzew może wpłynąć na mikroewolucję powiązanych z nimi owadów poprzez ekologiczne interakcje. Dużo zatem można się dowiedzieć, studiując zgrupowania owadów w skali poszczególnych drzew, które różnią się filogenetyczną izolacją oraz innymi parametrami, które wpływają na wyspowość poszczególnych roślin.

Brałem udział we wszystkich elementach programu badawczego ssaków naczelnych (projektowanie, zbieranie danych, analiza danych, pisanie), który był próbą zrozumienia, jak interakcje społeczne kształtują historię życia. Głównym przedmiotem badań były mały żyjące na drzewach. Reprodukacja tego gatunku następuje po zwiększaniu obfitości pożywienia, co można rozumieć jako oportunistyczną strategię zdobywania pokarmu w dorosłości w obliczu stochastycznej fenologii owocowania (Arlet *et al.* 2015). Ważnym aspektem ich struktury społecznej jest to, że samce przemieszczają się pomiędzy grupami, by kopulować z gotowymi do kopulacji samicami na jakimś etapie ich życia (Arlet *et al.* 2007, Arlet *et al.* 2008). Wykazaliśmy, że takie zachowanie wiąże się podwyższonym poziomem hormonu stresu (Arlet *et al.* 2009b),

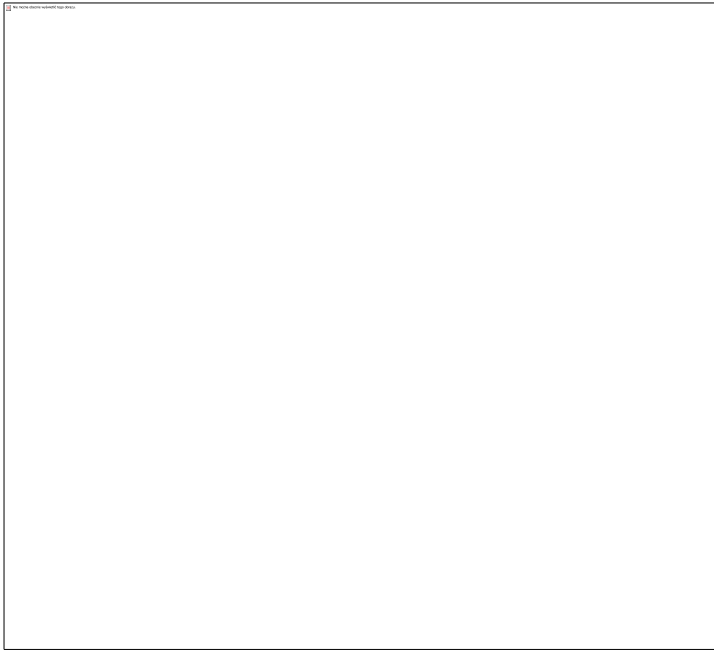
niskim poziomem testosteronu (Arlet *et al.* 2011) i wysoką produkcją jaj pasożytów (Arlet *et al.* 2015). Ponadto walka pomiędzy samcami o dostęp do samic gotowych do kopulacji podnosi poziom hormonu stresu u wszystkich samic i może wywołać śmierć niemowląt (Arlet *et al.* 2013, Arlet *et al.* 2014). Długoterminowe dane demograficzne pokazują złożone interakcje pomiędzy wiekiem samicy, rangą dominacji oraz płcią i przeżyciem jej potomstwa, co jest osadzone w ewolucyjnym schemacie historii życia (Arlet *et al.* 2014; Arlet *et al.* 2015). Co więcej, historie życiowe są zgodne z zachowaniem. Na przykład, samice ubiegając się o wyższą rangę, która rzeczywiście przekłada się na korzyści z dostosowania i doświadczenie stresu, gdyż one same oraz ich potomstwo mogą ucierpieć w walkach samców w koronach drzew.

Jak różnorodność owadów różni się w czasie i przestrzeni?

Schemat dużej liczebności i różnorodności owadów w czasie i przestrzeni zawiera ważne informacje o biologii ich zgrupowań. Takie informacje są również potrzebne przy projektowaniu i interpretowaniu badań bioróżnorodności. Ponadto, szeregi czasowe mogą udokumentować zmiany na przestrzeni czasu następujące wraz ze zmianą krajobrazu i klimatu. Długoterminowe dane są jednak skąpe, zwłaszcza w odniesieniu do tropików. Od roku 2000 wykorzystywałem zgrupowania motyli dziennych z Ugandy jako mój główny system modelowy, otrzymując w rezultacie unikalną na skalę światową najdłuższą kombinację szeregów czasowych zgrupowań tropikalnych, porównawczych danych z historii życia i molekularnej filogenezy. Praca doktorska Sille Holm na Uniwersytecie w Tartu, której jestem współpromotorem, opisuje różnorodność miernikowców w terenie, włączając nowe gatunki, filogenezę oraz rewizję taksonomiczną w kontekście ekologicznym i historii życia.

Okresowe zmiany w liczebności i różnorodności zgrupowań owadów

Odławianie motyli dziennych odżywiających się owocami jest powszechnie stosowane w lasach tropikalnych dla określenia wskaźników bioróżnorodności, głównie aby porównać obszary różniące się zaburzeniami w funkcjonowaniu siedliska, metodą odnawiania i strukturą krajobrazu (Ribeiro *et al.* 2011; Ribeiro & Freitas 2012).



Średnie podobieństwo Bray-Curtis'a między próbkami reprezentującymi miesiące badania uzyskane w zależności od opóźnienia między próbkami, uwzględniając 12-letni monitoring motyli dziennych.

Stosowałem tę technikę do opisu schematów bioróżnorodności w lesie naturalnym, dzięki czemu otrzymywałem informacje, jak przeprowadzić badania mające na celu porównanie obszarów (Molleman *et al.* 2006).

Odlawiając motyle dzienne co miesiąc w lesie w Ugandzie od roku 2000, uzyskałem najdłuższy na świecie szereg czasowy zgrupowań owadów tropikalnych (14 lat comiesięcznych liczeń). Analiza zgrupowań ujawniła, że wariacje pomiędzy latami dominowały nad dwuletnią sezonowością, co można po części wyjaśnić różnicami pomiędzy latami w odniesieniu do czasu i ilości opadów oraz zieloności roślinności, np. jak to ma miejsce w przypadku ENSO (El Niño–Southern Oscillation) (Valtonen *et al.* 2013). Z perspektywy pomiaru bioróżnorodności, wariacje pomiędzy latami mogą łatwo zaburzyć schematy sezonowe lub zmianę kierunkową na przestrzeni lat. Nieliczne gatunki zdają się mieć dynamikę sezonową i synchronizacja pomiędzy gatunkami jest rzadka. To oznacza, że specyficzne czynniki (np. wyspecjalizowane parazytoidy) mogą odgrywać kluczową rolę w dynamice populacji. Co więcej, prawdopodobnie istnieją grupy

gatunków, które migrują i takie migracje są słabo udokumentowane. To pokazuje, jak trudne jest interpretowanie danych, dotyczących liczebności owadów z jednego siedliska, jeśli się nie wie, jak przemieszczają się one w obrębie krajobrazu. W Ugandzie, gdzie prowadziłem badania, są dwie pory deszczowe rocznie i jest to stosunkowo mała strefa klimatyczna. W Ghanie jest jedna pora deszczowa w roku i sezonowość może być silniejsza. Jeden rok monitorowania wykazał większą liczebność motyli dziennych w czasie pory deszczowej (Aduse-Poku *et al.* 2012).

Stopień umiejętności zdobywania pokarmu u imagines jest ważną determinantą dynamiki populacji, a korzystanie z zapasów zdobytych na etapie larwalnym skłania owady do silnych fluktuacji liczebności, zwanych gradacjami (ang. *outbreak dynamics*) (Tammaru & Haukioja 1996). Może to być spowodowane słabymi zdolnościami dyspersyjnymi *capital breeders* i relatywnie prostą kontrolą ich dynamiki (nie wpływa na nią pogoda w dorosłości, dostępność pokarmu w dorosłości, ani drapieżnictwo wobec dorosłych).

Stratyfikacja pionowa

Ważną granicą badań nad bioróżnorodnością jest korona drzew. Pułapki dla motyli można tam umieścić i spuszczać na linach, by móc badać występujące tam zgrupowania. W Ugandzie około 15% gatunków motyli dziennych odżywiających się owocami to specjaliści zamieszkujący korony drzew (Molleman *et al.*, 2006), a w Ghanie około 30% (Aduse-Poku *et al.* 2012), wciąż jednak jest to mniej niż typowe ca. 50% w lasach neotropikalnych (DeVries *et al.* 2011). Jako, że struktura lasu naruszona przez człowieka może wpływać na stratyfikację pionową, pominięcie pułapek w koronach drzew w badaniach nad bioróżnorodnością może łatwo doprowadzić do błędnych wniosków. Podobnie ważną rzeczą jest zbieranie prób ze wszystkich warstw, by oszacować wpływ odnawiania roślinności na różnorodność owadów.

Piśmiennictwo dla “innych osiągnięć naukowych”

1. Aduse-Poku, K., William, O., Oppong, S.K., Larsen, T., Ofori-Boateng, C. & Molleman, F. (2012). Spatial and temporal variation in butterfly biodiversity in a West African forest: lessons for establishing efficient rapid monitoring programmes. *African Journal of Ecology*, 50, 326-334.
2. Arlet ME, Carey JR, and Molleman F. (2009). Species and sex differences in type and frequencies of injuries and impairments among four arboreal primate species in Kibale National Park, Uganda. *Primates* 50: 65–73.
3. Arlet ME, Chapman CA, Molleman F, Mänd R, Hörak P, Carey JR 2015. The influence of social strategies, stress and testosterone levels on parasite infections in males of gray-cheeked mangabey *Lophocebus albigena*. *American Journal of Primatology*
4. Arlet ME, Isbell LA, Molleman F, Kaasik A, Chancellor RL, Chapman CA, Mänd R, Carey JR 2015. Determinants of reproductive performance among female gray-cheeked mangabeys in Kibale National Park, Uganda *International Journal of Primatology* 36: 55-73
5. Arlet ME, Isbell LA, Molleman F, Kaasik A, Chancellor RL, Chapman CA, Mänd R, Carey JR 2014. Maternal investment and infant survival in gray-cheeked mangabeys (*Lophocebus albigena*) *International Journal of Primatology* 35(2): 476-490
6. Arlet ME, Molleman F, Arlet ME, Chancellor RL, Carey JR, Mänd R 2013 Correlations between social context and fecal glucocorticoid metabolite concentrations in female gray-cheeked mangabeys *Acta Biologica* 16: 239-246
7. Arlet ME, Carey JR, and Molleman F. 2009. Species and sex differences in type and frequencies of injuries and impairments among four arboreal primate species in Kibale National Park, Uganda. *Primates* 50: 65–73 [C, 1.4, Q2]
8. Arlet ME, Grote MN, Molleman F, Isbell LA, Carey JR. 2009. Reproductive tactics influence cortisol levels in individual male gray-cheeked mangabeys (*Lophocebus albigena*). *Hormones and Behavior* 55: 210-216
9. Beck, J. & Fiedler, K. (2009). Adult life spans of butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea plus Hesperioidea): broadscale contingencies with adult and larval traits in multi-species comparisons. *Biological Journal of the Linnean Society*, 96, 166-184.
10. Boggs, C.L. (2009). Understanding insect life histories and senescence through a resource allocation lens. *Functional Ecology*, 23, 27-37.
11. Carey, J.R. (2001). Insect biodemography. *Annual Review of Entomology*, 46, 79-110.
12. Carey JR, Liedo P, Müller HG, Wang JL, Yang W, Molleman F. (2009). Leg impairments elicit graded and sex-specific demographic responses in the tephritid fruit fly *Anastrepha ludens*. *Experimental Gerontology* 44: 541-545
13. Carey JR, Pinter-Wollman N, Wyman M, Muller HG, Molleman F, and Zhang N. (2007). A search for principles of disability using experimental impairment of *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology* 42: 166-172
14. DeVries PJ, Alexander LG, Chacon IA, Fordyce JA (2011) Similarity and difference among rainforest fruit-feeding butterfly communities in Central and South America. *J Anim Ecol* 81:472–482
15. Javoš, J., Molleman, F. & Tammaru, T. (2011). Quantifying income breeding: using geometrid moths as an example. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 139, 187-196.
16. Kulmiński, A.M., Molleman, F., Culminskaya, I.V., Arbeev, K.G., Ukraintseva, S.V., Carey, J.R. et al. (2009). Date of eclosion modulates longevity: Insights across dietary-restriction gradients and female reprodukja in the mexfly *Anastrepha ludens*. *Exp. Gerontol.*, 44, 718-726.

17. Molleman, F., Ding, J., Wang, J.-L., Brakefield, P.M., Carey, J.R. & Zwaan, B.J. (2008). Amino acid sources in the adult diet do not affect life span and fecundity in the fruit-feeding butterfly *Bicyclus anynana*. *Ecological Entomology*, 33, 429-438.
18. Molleman, F., Grunsven, R.H.A., Liefting, M., Zwaan, B.J. & Brakefield, P.M. (2005a). Is male puddling behaviour of tropical butterflies targeted at sodium for nuptial gifts or activity? *Biological Journal of the Linnean Society*, 86, 345-361.
19. Molleman, F., Krenn, H.W., Van Alphen, M.E., Brakefield, P.M., Devries, P.J. & Zwaan, B.J. (2005b). Food intake of fruit-feeding butterflies: evidence for adaptive variation in proboscis morphology. *Biological Journal of the Linnean Society*, 86, 333-343.
20. Molleman, F., van Alphen, M.E., Brakefield, P.M. & Zwaan, B.J. (2005c). Preferences and food quality of fruit-feeding butterflies in Kibale Forest, Uganda. *Biotropica*, 37, 657-663.
21. Molleman, F., Zwaan, B.J., Brakefield, P.M. & Carey, J.R. (2007). Extraordinary long life spans in fruit-feeding butterflies can provide window on evolution of life span and aging. *Exp. Gerontol.*, 42, 472-482.
22. Molleman F, and Midgley JJ. (2009). Delta 15N analyses of butterfly wings and bodies suggest minimal nitrogen absorption in carrion and dung puddling butterflies. *Journal of Research on the Lepidoptera* 41: 14-16
23. Mutshinda, C.M., O'Hara, R.B. & Woiwod, I.P. (2009). What drives community dynamics? *Proceedings Of The Royal Society B-Biological Sciences*, 276, 2923-2929.
24. Molleman F. (2010). Puddling: from natural history to understanding how it affects fitness (review) *Entomologia Experimentalis et Applicata* 134: 107-113
25. Molleman F, Kaasik A, Whitaker MR, Carey JR (2012) Partitioning variation in duration of ant feeding bouts can offer insights into the palatability of insects: experiments on African fruit-feeding butterflies *Journal of Research on the Lepidoptera* 45: 65-75
26. Myers, J.A., Chase, J.M., Jiménez, I., Jørgensen, P.M., Araujo-Murakami, A., Paniagua-Zambrana, N. *et al.* (2013). Beta-diversity in temperate and tropical forests reflects dissimilar mechanisms of community assembly. *Ecology Letters*, 16, 151-157.
27. Molleman F, Depoilly A, Vernon P, Müller J, Bailey R, Jarzabek-Müller A, Prinzing A (2016). The island rule of body size demonstrated on individual hosts: phytophagous click-beetle species grow larger and predators smaller on phylogenetically isolated trees. *Journal of Biogeography* 43: 1388-1399
28. Nishida R. (2002). Sequestration of defensive substances from plants by Lepidoptera. *Annu Rev Entomol.* 47:57-92.
29. Pasteels & Gregoire (1984). Selective predation on chemically defended chrysomelid larvae. *Journal of Chemical Ecology* 10(12): 1693-1700
30. Pivnick & McNeil (1987). Puddling in butterflies: sodium affects reproductive success in *Thymelicus lineola* *Physiological Entomology* 12(4): 461-472.
31. Ribeiro, D.B., Batista, R., Prado, P.I., Brown, K.S., Jr. & Freitas, A.V.L. (2011). The importance of small scales to the fruit-feeding butterfly assemblages in a fragmented landscape. *Biodiversity and Conservation*, 21, 811-827.
32. Ribeiro, D.B. & Freitas, A.V.L. (2011). Large-sized insects show stronger seasonality than small-sized ones: a case study of fruit-feeding butterflies. *Biological Journal of the Linnean Society*, 104, 820-827.
33. Stephens, P.A., Boyd, I.L., McNamara, J.M. & Houston, A.I. (2009). Capital breeding and income breeding: their meaning, measurement, and worth. *Ecology*, 90, 2057-2067.

33. Stork, N.E., Grimbacher, P.S., Torey, R.S., Berprieler, R.G., Reid, C. & Slipinski, A.S. (2008). What determines whether a species of insect is described? Evidence from a study of tropical forest beetles. *Insect Conservation and Diversity* 1, 114-119.
34. Tammaru, T. & Haukioja, E. (1996). Capital breeders and income breeders among Lepidoptera: consequences to population dynamics. *Oikos*, 77, 561-564.
35. Tufto, J., Lande, R., Ringsby, T.H., Engen, S., Saether, B.E., Walla, T.R. *et al.* (2012). Estimating Brownian motion dispersal rate, longevity and population density from spatially explicit mark-recapture data on tropical butterflies. *Journal of Animal Ecology*, 81, 756-769.
36. Valtonen, A., Molleman, F., Chapman, C.A., Carey, J.R., Ayres, M.P. & Roininen, H. (2013). Tropical phenology: bi-annual rhythms and interannual variation in an Afrotropical butterfly assemblage. *Ecosphere*, 4, 36.
37. Vialatte, A., Bailey, R.I., Vasseur, C., Matocq, A., Gossner, M.M., Everhart, D. *et al.* (2010). Phylogenetic isolation of host trees affects assembly of local Heteroptera communities. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 277, 2227-2236.
38. Yguel, B., Bailey, R., Tosh, N.D., Vialatte, A., Vasseur, C., Vitrac, X. *et al.* (2011). Phytophagy on phylogenetically isolated trees: why hosts should escape their relatives. *Ecology Letters*, 14, 1117-1124.
39. Yguel B., Bailey RI, Villemant C, Brault A, Jactel H, Prinzing A.(2014). Insect herbivores should follow plants escaping their relatives. *Oecologia*. 176(2):521-32.



14-9-2018