



Danessa Schardong Boligon

Conseqüências da alimentação em espécies de *Solanum*  
(Solanaceae) para o tamanho, a forma e a performance de dois  
cassidíneos (Coleoptera, Chrysomelidae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal,  
Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul,  
como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

Área de Concentração: Biologia e Comportamento Animal

Orientador: Prof. Dr. Gilson R. P. Moreira

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Porto Alegre**

**2012**

Conseqüências da alimentação em espécies de *Solanum*  
(Solanaceae) para o tamanho, a forma e a performance de dois  
cassidíneos (Coleoptera, Chrysomelidae)

Danessa Schardong Boligon

Tese aprovada em

16 de março de 2012

Prof. Dr. Luiz Alexandre Campos (PPG Biologia Animal – UFRGS)

Prof. Dr. Leandro Duarte (PPG Ecologia – UFRGS)

Prof. Dr. Rodrigo Fornel (PPG Ecologia – URI Erechim)

## Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. Gilson Moreira por todo o seu empenho, entusiasmo, incentivo e compreensão ao longo destes anos.

Ao Prof. Dr. F. James Rohlf pela excelente acolhida na State University of New York at Stony Brook, por todo o conhecimento em morfometria geométrica e estatística multivariada que me foi passado durante os cinco meses de Doutorado Sanduíche e pela paciência em me ensinar a programar no Matlab.

À Coordenação do PPG-Biologia Animal, bem como os professores que compõe o curso.

Ao CNPq pelo suporte financeiro através da bolsa de Doutorado e Doutorado Sanduíche.

Aos colegas de laboratório que passaram pelo LMCI durante os anos do Doutorado, em especial ao Ábner Elpino Campos, Ana Kristina Silva, Bruna Menezes Ramos, Carolina Millán, Darli Massardo, Dênis dos Santos, Kim Barão, Leonardo Ré Jorge, Rosângela Britto e Sabrina Campos pelo suporte no dia-a-dia, ajuda nas coletas, na rega das plantas, discussões sobre o trabalho. Todos são muito especiais e estarão sempre na minha memória.

À Darli Massardo e Dênis dos Santos eu agradeço a amizade, parceria, preocupação, cuidado e incentivo prestados durante esse período

Às alunas de iniciação científica com as quais tive o prazer de colaborar, Deise Wotrich e Bruna Menezes Ramos que me ensinaram muito e contibuíram para o meu crescimento como profissional. À Bruna também pelo auxílio imprescindível nas coletas e criação dos insetos.

Aos demais colegas do PPG de outros laboratórios eu agradeço pela

convivência amigável, troca de experiências, discussões sempre pertinentes sobre métodos, análises e sobre o futuro.

À minha grande incentivadora, desde a iniciação científica, Lenice Medeiros.

Às amigas queridas, Dai, Fá, Carolzinha, à minha melhor amiga e irmã Caroline, à Profa. e amiga Patrícia pela ajuda valiosa no inglês que antecedeu a viagem ao exterior, ao meu noivo Marcelo e a família Andrezza por me acolher sempre e representar a minha família em Porto Alegre.

À Lois Reboli por me receber na sua casa em Long Island como uma filha, à Emily Pedersen e família, Ezio Bartocci e Renata Borges pela amizade e muitos momentos felizes durante o período em que fiquei longe.

Aos meus pais, Pedro José e Geni, e a minha irmã, Caroline, pelo incentivo constante, por apoiarem as minhas escolhas e simplesmente por estarem presentes em todos os momentos e fases desse trabalho. A vocês o meu eterno agradecimento.

Dedico esta tese aos meus pais, Pedro José e Geni,  
aos meus avós Pedro e Dalty Boligon e  
João Helmuth e Judith Schardong,  
pelo exemplo de vida.

## Sumário

Listas de figuras .....	ix
Listas de tabelas .....	xii
Resumo.....	xiii
1. Introdução geral .....	1
1.1. Sobre os herbívoros: <i>Gratiana spadicea</i> (Klug, 1829) e <i>Metriona elatior</i> Klug (1829) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae).....	1
1.2. Sobre as plantas: <i>Solanum</i> Linnaeus.....	3
1.3. Aspectos sobre interação inseto-planta .....	6
1.4. Plasticidade fenotípica .....	8
1.5. Aspectos sobre morfometria geométrica.....	10
1.6. Referências .....	12
2. Capítulo I: Plasticidade comportamental de larvas de duas espécies de Cassidinae (Coleoptera, Chrysomelidae) sobre folhas de <i>Solanum</i> (Solanaceae).....	20
2.1. Introdução .....	22
2.2. Material e Métodos.....	25
2.2.1. Cultivo das plantas .....	25
2.2.2. Caracterização da superfície foliar .....	25
2.2.3. Criação dos insetos .....	26
2.2.4. Observações da atividade das larvas .....	26
2.2.5. Análise estatística.....	28
2.3. Resultados .....	29
2.4. Discussão.....	42

2.5. Referências .....	47
3. Capítulo II: Performance e preferência alimentar de larvas de <i>Metriora elatior</i> (Coleoptera, Chrysomelidae) em hospedeiras do gênero <i>Solanum</i> (Solanaceae).....	51
3.1. Introdução .....	53
3.2. Material e Métodos.....	54
3.2.1. Plantas.....	54
3.2.2. Insetos .....	55
3.2.3. Performance larval.....	55
3.2.4. Testes sem chance de escolha com larvas .....	56
3.2.5. Testes de múltipla escolha com larvas .....	56
3.2.6. Testes de oviposição com múltipla escolha.....	57
3.2.7. Análise estatística.....	57
3.3. Resultados .....	58
3.4. Discussão.....	67
3.5. Referências .....	72
4. Capítulo III: Mudanças na forma e no tamanho das asas e genitália de <i>Metriora elatior</i> (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae) criados em diferentes espécies de <i>Solanum</i> .....	76
4.1. Introdução .....	78
4.2. Material e Métodos.....	80
4.2.1. Criação e preparação dos insetos. ....	80
4.2.2. Morfometria geométrica.....	81
4.3. Resultados .....	86
4.4. Discussão.....	99

4.5. Referências .....	106
5. Considerações finais .....	111
6. Anexos .....	113



## Listas de figuras

### Capítulo I

**Figura 1.** Vista geral da superfície foliar da face abaxial das espécies de planta hospedeiras avaliadas. *Solanum aculeatissimum* (A), *Solanum atropurpureum* (B), *Solanum melongena* (C), *Solanum viarum* (D) e *Solanum sisymbriifolium* (E). Tricomas: **st**, estrelado; **tc**, tector uni ou pluricelular; **gl**, glandular longo; **gc**, glandular curto.. ..... 30

**Figura 2.** Medianas e respectivos quartis do tempo repousando no I, III e V ínstares larvais de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn)..... 32

**Figura 3.** Medianas e respectivos quartis do tempo removendo tricomas no I, III e V ínstares larvais de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn)..... 33

**Figura 4.** Medianas e respectivos quartis do tempo se alimentando no I, III e V ínstares larvais de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn)..... 34

**Figura 5.** Medianas e respectivos quartis do tempo caminhando no I, III e V ínstares larvais de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn)..... 35

**Figura 6.** Medianas e respectivos quartis do tempo provando no I, III e V ínstares larvais de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn)..... 36

### Capítulo II

**Figura 1.** Sobrevivência (%) de *Metriona elatior* (n = 40), da eclosão a emergência dos adultos, em seis espécies de *Solanum*. Plantas seguidas de letras iguais não diferem significativamente ..... 59

**Figura 2.** Tamanho (mm; médias  $\pm$  erro padrão) das pupas (A) e dos adultos (B) de *Metriona elatior* em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferença estatística entre as plantas. .... 60

**Figura 3.** Tempo de desenvolvimento (dias; média  $\pm$  erro padrão) de *Mettriona elatior* em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferença estatística entre as plantas ..... 62

**Figura 4.** Área foliar ( $\text{mm}^2$ ; medianas e respectivos quartis) consumida pelas larvas de primeiro instar de *Mettriona elatior* em seis espécies de *Solanum*, em testes sem (A) e com (B) chance de escolha..... 63

**Figura 5.** Área foliar ( $\text{mm}^2$ ; medianas e respectivos quartis) consumida pelas larvas de quinto instar de *Mettriona elatior* em seis espécies de *Solanum*, em testes sem chance de escolha. .... 64

**Figura 6.** Área foliar ( $\text{mm}^2$ ; medianas e respectivos quartis) consumida pelas larvas de quinto instar de *Mettriona elatior*, mantidas em *Solanum aculeatissimum* (A), *Solanum atropurpureum* (B) e *Solanum viarum* (C), para testes com chance de escolha em seis espécies de *Solanum*..... 65

**Figura 7.** Taxas de oviposição (%) das fêmeas de *Mettriona elatior* em diferentes espécies de *Solanum* ..... 68

### Capítulo III

**Figura 1.** Landmarks (vermelho) e semi-landmarks (azul) localizados na vista ventral dos élitros (A), vista lateral do edeago (B) e vista dorsal das asas posteriores (C) de *Mettriona elatior*. ..... 82

**Figura 2.** Dois primeiros componentes principais sobre os resíduos da forma de *Mettriona elatior* criados em diferentes plantas hospedeiras para élitro direito (A) e esquerdo (B), asa posterior direita (C) e esquerda (D) e edeago (E). Os símbolos indicam adultos oriundos de *Solanum aculeatissimum* (\*), *Solanum atropurpureum* (●), *Solanum guaraniticum* (▲), *Solanum melongena* (+), *Solanum sisymbriifolium* (□) e *Solanum viarum* (○). ..... 89

**Figura 3.** Deformações ao longo do primeiro componente principal na asa posterior direita (A), esquerda (B), élitro direito (C) e esquerdo (D) e edeago (E) de *Mettriona elatior* criados em diferentes plantas hospedeiras. A linha contínua representa os escores positivos e a linha descontínua representa os escores negativos. .... 90

**Figura 5.** Comparação dos intervalos de confiança de 95% para as médias do logaritmo do tamanho do centróide da asa posterior direita (A) e esquerda (B) de *Mettriona elatior* oriundos de hospedeiras diferentes. As médias nas quais os intervalos não se sobrepõem estão indicadas por letras diferentes que representam diferença estatística ..... 94

**Figura 6.** Comparação dos intervalos de confiança de 95% para as médias do logaritmo do tamanho do centróide do edeago de *Mettriona elatior* oriundos de hospedeiras diferentes. As médias nas quais os intervalos não se sobrepõem estão indicadas por letras diferentes que representam diferença estatística; .. 95

**Figura 7.** Comparação dos intervalos de confiança de 95% para as médias do logaritmo do tamanho do centróide do élitro direito (A) e esquerdo (B) e asa

posterior direita (C) e esquerda (D) de *Metriona elatior*. As médias nas quais os intervalos não se sobrepõem estão indicadas por letras diferentes que representam diferença estatística ..... 96

**Figura 8.** Análise canônica da variação da forma do élitro direito (A), élitro esquerdo (B), asa posterior direita (C) e asa posterior esquerda (D) de *Metriona elatior* criados em diferentes plantas hospedeiras. Os símbolos indicam adultos oriundos de *Solanum aculeatissimum* (\*), *Solanum atropurpureum* (●), *Solanum guaraniticum* (▲), *Solanum melongena* (+), *Solanum sisymbriifolium* (□) e *Solanum viarum* (○). Os símbolos maiores e em cinza representam as médias..... 98

**Figura 9.** Análise canônica da variação da forma do élitro direito (A), élitro esquerdo (B), asa posterior direita (C) e asa posterior esquerda (D) de *Metriona elatior* para fêmeas (●) e machos (□). ..... 100

## Listas de tabelas

### Capítulo I

- Tabela 1.** Número de tricomas (média±erro padrão) para 1mm<sup>2</sup> de área da superfície abaxial das plantas hospedeiras ..... 31
- Tabela 2.** Uso temporal (média±erro padrão) no número, duração e intervalo das refeições realizadas pelas larvas de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* durante 6 horas de observação em cinco espécies de *Solanum*.. ..... 39
- Tabela 3.** Regressões do tempo destinado a cada atividade das larvas de *Gratiana spadicea* em cinco espécies de *Solanum*, em relação ao I, III e V instares larvais.. ..... 40
- Tabela 4.** Regressões do tempo destinada a cada atividade das larvas de *Metriona elatior* em cinco espécies de *Solanum*, em relação ao I, III e V instares larvais.. ..... 41

### Capítulo III

- Tabela 1.** Descrição dos landmarks..... 83
- Tabela 2.** Anova de procrustes sobre a forma das asas posteriores e élitros direito e esquerdo de *Metriona elatior* criados em diferentes plantas hospedeiras..... 87
- Tabela 3.** Análise de variância do tamanho do centróide testado para efeito da planta hospedeira e sexo nos élitros, edeago e asas posteriores de *Metriona elatior*.. ..... 92
- Tabela 4.** Análise de variância multivariada das variáveis de forma testadas para efeito da planta hospedeira e sexo nos élitros, edeago e asas posteriores de *Metriona elatior*..... 97
- Tabela 5.** Porcentagem de classificação correta da planta hospedeira na qual as larvas de *Metriona elatior* foram criadas, com base nas variáveis de forma resultantes da análise canônica segundo o procedimento de validação cruzada. As linhas mostram a porcentagem de indivíduos criados em cada uma das plantas hospedeiras e as colunas mostram os indivíduos classificados em cada planta. As classificações corretas estão em negrito..... 101

## Resumo

A variedade de plantas hospedeiras e suas características, bem como a digestão e assimilação dos seus nutrientes por parte dos insetos herbívoros compreendem mecanismos pré- e pós-ingestivos centrais para a interpretação de fenômenos da história de vida dos insetos. *Metriorhina elatior* (Klug, 1829) e *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae) têm diferente comportamento alimentar; a primeira é considerada oligófaga e ocorre sobre algumas espécies de *Solanum* e, a segunda, monófaga, tendo sua ocorrência limitada a *Solanum sisymbriifolium* Lamarck. Neste trabalho, detectamos diferenças comportamentais, através da quantificação do tempo empregado em diferentes atividades (repouso, caminhada, remoção de tricomas, alimentação e prova do alimento) pelas larvas de primeiro, terceiro e quinto ínstares desses dois Cassidinae em cinco diferentes plantas hospedeiras (*Solanum aculeatissimum* Jacquin, *Solanum atropurpureum* Shrank, *Solanum melongena* Linnaeus, *S. sisymbriifolium* e *Solanum viarum* Dunal), durante 6 horas consecutivas. Diante do hábito oligófago de *M. elatior*, observamos a ocorrência de diferenças na performance em seis espécies do gênero *Solanum* (as mesmas citadas anteriormente em adição a *Solanum guraraniticum* Hassl), além da escolha alimentar das larvas e preferência de oviposição. Em adição, com o uso da morfometria geométrica, avaliamos se diferentes tipos de alimentação durante o estágio larval influenciam na forma e tamanho das estruturas corporais dos adultos. Os diferentes graus de especialização de *G. spadicea* e *M. elatior* têm grande influência no comportamento das larvas, quando em diferentes plantas hospedeiras. *M. elatior* apresentou-se plástica em relação ao comportamento de *G. spadicea*,

as quais apresentaram respostas divergentes quando sobre outras plantas que não são sua hospedeira usual. *M. elatior* apresentou maior performance sobre *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum* e *S. viarum*, e uma clara desvantagem em se alimentar de *S. guaraniticum*, *S. melongena* e *S. sisymbriifolium*, o que foi também confirmado pelos testes de escolha alimentar pelas larvas e oviposição pelas fêmeas. Além disso, a alimentação em diferentes hospedeiras trouxe conseqüências para a forma e tamanho de estruturas corporais dos adultos, que são importantes evolutivamente no contexto da seleção natural (vôo) e sexual (genitália).

## **Apresentação**

A presente tese está estruturada por uma “Introdução Geral” com o objetivo de proporcionar um melhor entendimento sobre o tema estudado, aspectos relevantes sobre as espécies envolvidas e método adotado. A seguir, são apresentados os três capítulos, na forma de artigos científicos. O Capítulo I caracteriza o emprego do tempo em diferentes atividades comportamentais das larvas de *Metriona elatior* e *Gratiana spadicea* em cinco espécies de *Solanum*. Tendo em vista o hábito oligófago de *M. elatior*, o Capítulo II aborda a performance e preferência alimentar das larvas e a preferência de oviposição das fêmeas em seis espécies de *Solanum*. O Capítulo III trata das consequências na forma e tamanho das asas e genitália dos adultos de *M. elatior* diante da variedade de plantas hospedeiras durante o estágio larval. Por fim, situam-se as “Considerações Finais” que contém um resumo das principais conclusões dos três artigos desenvolvidos nesta tese.

A tese está formatada em conformidade com as normas da revista *Zoologia*, editada pela Sociedade Brasileira de Zoologia. As normas para publicação desta revista são apresentadas nos anexos.

## 1. Introdução geral

1.1. Sobre os herbívoros: *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) e *Metritona elatior* Klug (1829) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae)

Larvas e adultos de *G. spadicea* desenvolvem-se em uma única planta - *Solanum sisymbriifolium* Lamarck, considerada pioneira das regiões temperadas e tropicais da América do Sul e invasora de locais abertos como pastagens, poteiros e culturas de trigo, milho, arroz, batata e soja (GROTH 1989, MENTZ & OLIVEIRA 2004).

*Gratiana spadicea* é um organismo bastante estudado, principalmente por ser considerada monófaga. Tais trabalhos dizem respeito à fecundidade e a longevidade (ALBUQUERQUE & BECKER 1986), morfologia e histologia dos órgãos reprodutivos internos das fêmeas (BECKER & ROMANOWSKI 1986), parasitóides e predadores das ootecas e mortalidade no estágio de ovo (BECKER & FRIEIRO-COSTA 1987, 1988), e ainda, ecologia populacional (BECKER & FREIRE 1996). Alguns estudos indicam que *G. spadicea* apresenta grande potencial como agente de controle biológico de *S. sisymbriifolium*, uma vez que a mesma é invasora de culturas e pastagens (KVASINA & PONCE DE LEON 1985, HILL & HULLEY 1995, HILL *et al.* 1997, OLCKERS *et al.* 2002).

MEDEIROS & MOREIRA (2002, 2003, 2005) estudaram aspectos da interação entre *G. spadicea* e *S. sisymbriifolium* no que diz respeito ao deslocamento das larvas sobre a superfície foliar, a qual é coberta de tricomas, bem como em relação às atividades de alimentação e oviposição. Observaram que os tricomas estrelados de *S. sisymbriifolium* foram inteiramente ou parcialmente removidos pelas larvas antes da alimentação e que estas apresentam preferência por aquelas de menor densidade de tricomas. E, além



disso, demonstraram que as larvas, quando alimentadas com discos foliares cujos tricomas estrelados foram removidos, apresentaram uma taxa de sobrevivência significativamente maior.

BOLIGON (2007) verificou que a densidade de tricomas estrelados de *S. sisymbriifolium* influencia o tempo dedicado à alimentação das larvas de *G. spadicea*. Ou seja, um maior tempo dedicado à remoção destas estruturas diminuiu o tempo empregado na ingestão de alimento. Além disso, BOLIGON *et al.* (2009) detectaram que a ingestão acidental de tricomas e a passagem de alguns fragmentos destes através do canal alimentar podem estar relacionados com a alta mortalidade observada por MEDEIROS & MOREIRA (2005), pois estas estruturas em contato com o epitélio do tubo digestivo podem danificar o mesmo e causar a morte das larvas.

MEDEIROS & MOREIRA (2008) observaram que *G. spadicea* é capaz de explorar novas hospedeiras em laboratório e obtiveram adultos, porém em menor número, em *Solanum guaraniticum* Hassler, *Solanum viarum* Dunal e *Solanum atropurpureum* Shrank. Mas, sob condições naturais, não há registros para essas ou qualquer outra hospedeira.

*Mettriona elatior* é uma espécie oligófaga, hóspede de pelo menos quatro espécies de *Solanum* no Rio Grande do Sul: *S. viarum*, *S. sisymbriifolium* (BUZZI 1994, HILL & HULLEY 1996, MEDEIROS *et al.* 1996), *Solanum atropurpureum* Shrank, *Solanum aculeatissimum* Jacquin (LIMA *et al.* 1968) e *Solanum melongenea* Linnaeus, que é cultivada (MENTZ & OLIVEIRA 2004).

Segundo HILL & HULLEY (1996), *M. elatior* deve ser considerada oligófaga e desenvolve-se de forma satisfatória em *S. sisymbriifolium* (75% de sobrevivência), *Solanum acanthoideum* Dunal (66%), *S. aculeatissimum* (65%)

e inclusive na cultivada *S. melongena* (45%). MEDAL *et al.* (1999) verificaram a oviposição em *S. melongena* e *S. viarum* e alimentação em *S. melongena*, *S. viarum*, *Solanum capsicoides* Allioni e *Solanum elaeagnifolium* Cavanaugh. Ainda, ROSSINI *et al.* (2002), em condições de quarentena, verificaram o ciclo de vida e área foliar consumida por larvas e adultos de *M. elatior* sobre folhas de *S. viarum*.

Houve tentativas de utilizar *M. elatior* para controle biológico de solanáceas invasoras. Para controlar *S. viarum*, os testes conduzidos foram considerados bem sucedidos pelos autores, apesar da observação de dano foliar na cultivada *S. melongena* (MEDAL *et al.* 1999, BREDOW *et al.* 2007). Mas, para o controle de *S. sisymbriifolium* não foi recomendada a utilização de *M. elatior*, pois as larvas se alimentaram e as fêmeas colocaram ovos em outras exóticas e também em *S. melongena* (HILL & HULLEY 1996).

Das hospedeiras potenciais citadas no Rio Grande do Sul para *M. elatior*, ocorrem *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum*, *S. capsicoides* (somente na costa), *S. sisymbriifolium*, *S. viarum* e em *S. melongena*, que é cultivada (MENTZ & OLIVEIRA 2004).

## 1.2. Sobre as plantas: *Solanum* Linnaeus

O gênero *Solanum* distribui-se nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, África e Austrália e, em menor número, na Europa e Ásia. São geralmente árvores, arbustos ou ervas. Os ramos, folhas e inflorescências são glabros ou com indumento espesso ou denso, formado por tricomas de diversos tipos. As espécies que serão abordadas neste trabalho são, a menos que referenciado, caracterizadas conforme MENTZ & OLIVEIRA (2004):

*Solanum aculeatissimum* - Arbusto (0,3 a 1,2m de altura), muito ramificado. Folhas com a face adaxial coberta de tricomas simples e glandulares e, a face abaxial, com as nervuras cobertas por tricomas simples, estrelados e glandulares. Ocorre na região sudoeste e sul do Brasil. É comum em clareiras e orla das florestas, beiras de estradas, terrenos baldios e capoeiras. É conhecida popularmente como joá, joá-melancia e mata-cavalo;

*Solanum atropurpureum* - Arbusto (até 1,8m de altura), com caule ereto, pouco ramificado. Folhas com a face abaxial coberta por raros tricomas e face adaxial glabra. Encontrada em São Paulo, nos estados da região sul do Brasil, no Paraguai, Uruguai e Argentina. Ocorre em todas as formações vegetais, como clareiras de mata, capoeiras e margens de estradas. É conhecida popularmente como joá-roxo;

*Solanum guaraniticum* – Arbusto ereto (de até 2m de altura). Folhas com face adaxial verde com tricomas esparsos e face abaxial coberta por tricomas estrelados pedicelados formando um tapete denso e esbranquiçado. Ocorre no Paraguai, Argentina e no Brasil de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul. Na Região Sul ocorre em todas as formações vegetais. É conhecida popularmente como jurubeba;

*Solanum melongena* - Erva (até 1m de altura). As folhas apresenta-se densamente coberta por tricomas estrelados. É natural da Índia e introduzida no Brasil principalmente devido aos frutos utilizados para a alimentação. É cultivada em todas as regiões do Brasil e regiões tropicais e temperadas do mundo. É conhecida popularmente como berinjela (SMITH & DOWNS 1966, LIT & BERNARDO 1990);

*Solanum sisymbriifolium* - Subarbusto ou arbusto (até 2m de altura)

ramificado, com ramos estendidos lateralmente, raramente ereto. Folhas com a face abaxial e adaxial coberta por tricomas tectores simples, estrelados e glandulares curtos e longos e ambos tricomas glandulares secretam lipídios, fenóis e alcalóides (BOLIGON 2007). Tem ampla distribuição, ocorrendo no Brasil, Paraguai, Argentina e Uruguai podendo ser encontrada em outros países, onde foi introduzida. Encontrada em todas as formações vegetais do sul do Brasil, nos campos, clareiras das matas, matas abertas, secundárias, capoeiras, margens de estradas, entre outros. É conhecida popularmente como joá, joá-bravo, mata-cavalo;

*Solanum viarum* - Arbusto (até 1m de altura), com ramificações eretas. As folhas com ambas as faces densamente cobertas por tricomas tectores simples, estrelados e tricomas glandulares (MEDEIROS *et al.* 2004). É encontrada em todos os países do sul da América do Sul e em todas as formações vegetais do sul do Brasil, preferencialmente em campos. É conhecida popularmente como joá, joá-bravo, arrebenta-cavalo;

Miz *et al.* (2008) realizaram uma revisão global sobre as relações filogenéticas pré estabelecidas através de análises moleculares de algumas espécies de *Solanum* do sul do Brasil e as plantas utilizadas nesta tese estão organizadas em duas seções do subgênero *Leptostemonum*: 1) *Acanthophora*, que contém *S. atropurpureum* em um clado irmão que abrange *S. aculeatissimum* e *S. viarum*, as quais são espécies irmãs, e 2) *Torva*, a qual pertence *S. guaraniticum* e está estreitamente relacionada a *S. melongena* e *S. sisymbriifolium*, que pertencem a outra seção potencialmente um grupo irmão da seção *Torva*. Tais resultados corroboram as já evidenciadas e bem suportadas relações observadas em estudos utilizando dados de duas regiões

nucleares do DNA e uma região do cloroplasto (LEVIN *et al.* 2006) e técnicas de RAPD (POCZAI *et al.* 2008).

### 1.3. Aspectos sobre interação inseto-planta

Na seleção da planta hospedeira há o envolvimento freqüente de aleloquímicos agindo como atrativos, estimulantes, repelentes e deterrentes (BERNAYS & GRAHAM 1988, SLANSKY 1993), e que ocorre em três fases: 1) atração à possível fonte de alimento, 2) permanência na fonte de alimento e 3) aceitação ou não desta (BERNAYS & CHAPMAN 1994). Insetos considerados especialistas, além de distinguir hospedeiras de não hospedeiras, geralmente são capazes de discriminar a sua qualidade (SCRIBER 1982). Geralmente a prole fica restrita àquela planta devido a baixa mobilidade dos imaturos, principalmente nos ínstares iniciais, período em que as larvas são mais sensíveis a fatores ambientais (JOHNSON & ZALUCKI 2005, SHELOMI *et al.* 2010).

A variedade de plantas hospedeiras apresentada por uma determinada espécie de inseto é uma das suas principais características biológicas, que pode ser limitada por fatores morfológicos, fisiológicos e ecológicos dessa interação. As plantas apresentam mecanismos de resistência contra o ataque de insetos herbívoros, diminuindo a sobrevivência e sucesso até mesmo de especialistas. Estes mecanismos podem ser de ação mecânica ou química, como a presença de tricomas ou dureza foliar (LEVIN 1973, DUFFEY 1986, JEFREE 1986, SOUTHWOOD 1986, FERNANDES 1994) e compostos do metabolismo secundário (LEVIN 1973, JOHNSON 1975), respectivamente. Os tricomas, além de atuarem como barreiras físicas, podem reter metabólitos como fenóis e alcalóides (JOHNSON 1975). Estas propriedades podem interferir

negativamente no crescimento e desenvolvimento de insetos diante da ingestão, contato ou inalação de toxinas, ou por restrições físicas ao movimento (DUFFEY 1986, MEDEIROS & MOREIRA 2002, MEDEIROS *et al.* 2004).

A razão pela qual um inseto herbívoro se alimenta de determinada espécie ou gênero de planta dentre tantas que estão disponíveis no ambiente é uma das questões mais pertinentes e discutidas do ponto de vista ecológico (BERNAYS & GRAHAM 1988, HOCHULI 2001). Muitas dessas discussões tratam da composição química das folhas, principalmente no que se refere aos seus compostos secundários, que podem atuar como estimulantes ou deterrentes alimentares. Entretanto, há mais aspectos que devem ser abordados neste contexto, dentro do enfoque químico-mecânico (SEIGLER & PRICE 1976, WOODMAN & FERNANDES 1991, FERNANDES 1994, WAGNER *et al.* 2004).

De acordo com SCHOONHOVEN *et al.* (2005), os insetos ditos oligófagos aceitam um certo número de espécies de plantas, geralmente pertencentes a uma mesma família. Os polífagos, entretanto, aceitam muitas plantas, pertencentes a diferentes famílias. Embora muitas das espécies sejam consideradas generalistas ao longo de suas distribuições geográficas, comportam-se como especialistas em um dado local (FOX & MORROW 1981).

BERNAYS *et al.* (2004 a,b) observaram que podem haver diferenças comportamentais e fisiológicas entre generalistas e especialistas. Em estudos realizados por esses autores com Arctiidae (Lepidoptera), espécies generalistas gastaram mais tempo caminhando, provando e rejeitando fontes potenciais de alimento e em períodos curtos de alimentação quando comparados aos especialistas, o que sugere um custo para essas espécies e uma vantagem àquelas consideradas especialistas. Entretanto, generalistas

podem ter maior disponibilidade de alimento, bem como, de nutrientes, diante de um número maior de hospedeiras.

Um determinado inseto generalista deverá ser menos eficiente em qualquer planta do que um especialista na sua única planta hospedeira, o que estaria favorecendo o hábito alimentar especializado, além da vantagem de ter que codificar apenas o sinal químico de uma planta e não de várias no momento de selecionar a planta, seja para alimentação ou oviposição (BERNAYS & GRAHAM 1988). A dieta especializada pode ter impacto considerável no tempo de desenvolvimento das larvas de crisomelídeos, pois a maioria das espécies é monófaga ou oligófaga, se alimentam de um ou poucos gêneros de plantas (HSIAO 1986).

#### 1.4. Plasticidade fenotípica

Charles Darwin, em 1882, já mencionava, o que vários naturalistas afirmavam, que seres vivos tendem a variar independentemente das condições em que eles e seus progenitores foram criados/expostos, enquanto outros naturalistas mantinham a posição de que toda a variação é devida a tal exposição, restando a dúvida sobre a maneira como o ambiente atua nessa variação. Naquela época, Darwin afirmou que não havia nenhuma questão na biologia tão importante quanto a da natureza e causas da variabilidade. Hoje em dia esta habilidade de um organismo em reagir a uma mudança ambiental com uma mudança na forma, estado, movimento, ou taxa de atividade é definida como plasticidade fenotípica (WEST-EBERHARD 2003).

James Baldwin, em 1896, foi o primeiro a reconhecer plasticidade fenotípica em indivíduos e ligar tal fenômeno à evolução. Ele sugeriu que a

expressão de características induzidas pelo ambiente podem evoluir de maneira a adaptar diferentes fenótipos a diferentes conjuntos de circunstâncias ambientais. Um indivíduo plástico pode alcançar maior *fitness* em dois ou mais ambientes, entretanto, um fenótipo especialista fixado e altamente adaptado a somente um ambiente vai ser menos ajustável a um diferente enquanto um fenótipo generalista fixado vai ter um valor adaptativo moderado em outros ambientes (WHITMAN & AGRAWAL 2009).

A plasticidade pode acelerar ou retardar processos evolutivos dependendo do seu efeito na distribuição de fenótipos. Quando uma condição produz expressão recorrente de um fenótipo alternativo a plasticidade pode levar a uma evolução direcional. Já a geração de uma grande variedade de fenótipos à determinada característica recorrente pode retardar a evolução. O maior benefício da plasticidade fenotípica pode ser a geração de mudanças genéticas adaptativas em longo prazo, produzindo novidades que podem ser incorporadas no genoma via assimilação genética (WEST-EBERHARD 2003).

Dependendo da frequência em que um dado fenótipo é expresso e se torna recorrente em função de uma determinada condição ambiental, está sujeito a seleção e modificações em gerações subsequentes. Na ausência do ambiente indutor um dado fenótipo pode desaparecer de uma população e ser substituído por outro alternativo que pode, por sua vez, se tornar sujeito a seleção (WEST-EBERHARD 1989, NYLIN & JANZ 2009).

Um sistema amplamente estudado neste sentido é dos besouros do gênero *Onthophagus* Latreille, 1802 que apresentam enorme diversidade de tamanhos de chifres dentro e entre espécies (MOCZEC 2010). Em uma mesma espécie a diversidade de fenótipos dos machos ocorre em resposta à variação



na nutrição larval e além das mudanças morfológicas na proporção do tamanho dos chifres em relação ao tamanho corporal, os machos apresentam comportamento reprodutivo alternativo (MOCZEK & EMLEN 2000) e investimento diferenciado no sistema reprodutivo (tamanho do testículo) (SIMMONS & EMLEN 2006).

É importante salientar que a plasticidade é uma característica sujeita a seleção natural e mudanças evolutivas, bem como os diferentes graus de resposta, são geneticamente variáveis (WEST-EBERHARD 1989). Dessa maneira, a plasticidade fenotípica pode ser vista como facilitadora da evolução de espécies especialistas ou como facilitadora da diversificação dentro das espécies, aumentando a diversidade fenotípica sem aumento na riqueza de espécies (MOCZEK 2010). Pode ser observada como uma resposta adaptativa ou não ao ambiente, através do comportamento, fisiologia ou morfologia (MOONEY & AGRAWAL 2007).

#### 1.5. Aspectos sobre morfometria geométrica

Ao longo de quase 20 anos, vários pesquisadores vêm investindo substancialmente no emprego de ferramentas para análises acerca da forma (ROHLF & BOOKSTEIN 1990). Hoje é possível afirmar que existem métodos bem estruturados e análises fundamentadas, capturando a geometria da estrutura e preservando essa informação, que possibilitam avaliar seguramente mudanças na forma de estruturas biológicas e associá-las a possíveis causas e efeitos, através do uso da morfometria geométrica (BOOKSTEIN 1991), podendo ser aplicada na descrição e comparação de estruturas em sistemática, além de estudos ecológicos, ontogenéticos e genéticos, entre outras.

Morfometria é uma descrição quantitativa, análise e interpretação da forma e da sua variação e covariação com outras variáveis (ROHLF 1990, BOOKSTEIN 1991). ROHLF & MARCUS (1993) no artigo intitulado “A Revolution in morphometrics” revisaram os métodos utilizados para análises em morfometria geométrica e suas aplicações. Em geral o método é baseado em *landmarks* (ou marcos anatômicos) e as análises são fundamentadas nas distâncias entre estes pontos (resíduos = variáveis de forma).

Os *landmarks* representam coordenadas em um plano cartesiano (x,y) e devem passar por uma análise que remove efeitos que não são relativos à forma, chamada sobreposição de Procrustes. Nesta análise o centróide (centro geométrico de cada configuração formada pelos *landmarks*) é movido até a origem (0,0), as configurações, então, são escalonadas a uma unidade de tamanho comum e rotadas a fim de minimizar a diferença entre os *landmarks* correspondentes (ROHLF & SLICE 1990). Após a sobreposição, restam as diferenças correspondentes aos *landmarks*, as quais serão utilizadas em comparações multivariadas sobre a variação da forma (BOOKSTEIN 1991).

Quando os *landmarks* não são evidentes, em estruturas curvilíneas sem marcos anatômicos homólogos, os estudos são baseados no contorno, representado por uma seqüência de coordenadas (*semi-landmarks*), na qual pelo menos o primeiro marco deve ser homólogo. Em adição ao método de sobreposição descrito anteriormente, cada *semi-landmark* vai “deslizar” ao longo de uma linha até que encontre a posição do ponto correspondente no contorno de um espécime referência (que contém a seqüência dos pontos). Depois de ajustados a posição correta os dados recebem o mesmo tratamento que os dados resultantes de *landmarks* (BOOKSTEIN 1997).

As análises subsequentes à sobreposição envolvem a técnica denominada *thin-plate spline* que pode ser utilizado para mapear as deformações na forma entre as configurações desejadas. Os parâmetros que descrevem as referidas deformações (*partial warp scores*) podem ser utilizados como variáveis de forma a serem comparadas através de uma Análise de Componentes Principais (*relative warps*). A partir destes resultados, podem ser realizadas: 1) Análise de Variância para comparar o tamanho do centróide que é uma medida univariada; 2) Análise de Variância Multivariada, para detectar se há diferença na forma entre tratamentos e interação entre eles; 3) Análise Canônica e Análise Discriminante para detectar grupos originados por formas distintas; 4) cálculo das distâncias de Mahalanobis para mostrar a proximidade das formas obtidas, além de outras análises conforme a necessidade dos dados obtidos (ADAMS *et al.* 2004).

#### 1.6. Referências

- ADAMS, D.C.; F.J.ROHLF & D. SLICE. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the "revolution". **Italian Journal of Zoology** 71(1): 5-16.
- ALBUQUERQUE, G.S. & M. BECKER. 1986. Fecundidade e longevidade de *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae), em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia** 30(1): 105-113.
- BECKER, M. & A.J.P. FREIRE. 1996. Population ecology of *Gratiana spadicea* (Klug), a monophagous Cassidinae on an early successional Solanaceae in southern Brazil, p. 271-287. In: P.H.A. Jolivet & M.L. Cox (Eds.). **Chrysomelidae biology, vol. 2: ecological studies**. Amsterdam, SPB Academic Publishing, 462p.

- BECKER, M. & F.A. FRIEIRO-COSTA. 1987. An analysis of the fate of eggs of *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) in relation to the position in the ootheca. **Revista Brasileira de Zoologia** 4(3): 195-205.
- BECKER, M. & F.A. FRIEIRO-COSTA. 1988. Natalty and mortality in the egg stage in *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) (Coleoptera, Chrysomelidae), a monophagous Cassidinae beetle of an early successional Solanaceae. **Revista Brasileira de Biologia** 48(3): 467-475.
- BECKER, M. & H.P. ROMANOWSKI. 1986. The female internal reproductive organs of *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) (Col.: Chrysomelidae: Cassidinae): morphology and histology. **Revista Brasileira de Biologia** 46(1): 149-157.
- BERNAYS, E.A. & M. GRAHAM. 1988. On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. **Ecology** 69(4): 886-892.
- BERNAYS, E.A. & R.F. CHAPMAN. 1994. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York, Chapman & Hall, 312p.
- BERNAYS, E.A.; M.S. SINGER & D. RODRIGUES. 2004a. Trenching behavior by caterpillars of the *Euphorbia* specialist, *Pygarctia roseicapitis*: a field study. **Journal of Insect Behavior** 17(1): 41-52.
- BERNAYS, E.A.; M.S. SINGER & D. RODRIGUES. 2004b. Foraging in nature: foraging efficiency and attentiveness in caterpillars with different diet breadths. **Ecological Entomology** 29(4): 389-397.
- BOLIGON, D.S. 2007. **Variação nos tricomas de *Solanum sisymbriifolium* (Solanaceae) e herbivoria por larvas de *Gratiana spadicea* (Coleoptera, Chrysomelidae)**. Porto Alegre, Dissertação de mestrado, Biologia Animal, UFRGS, Brasil, 62p.
- BOLIGON, D.S.; L. MEDEIROS; R.M.S. ISAIAS & G.R.P. MOREIRA. 2009. Constraints on larval feeding morphology and selective removal of host-plant trichomes by a monophagous Cassidinae beetle , p. 15-30. In: P. Jolivet, J. Santiago-Blay & M. Schmitt (Eds.). **Research on Chrysomelidae**, vol. 2. Leiden,

Koninklijke Brill, 299p.

BOOKSTEIN, F.L. 1991. **Morphometrics tools for landmark data: geometry and biology**. Cambridge University Press, New York. 435p.

BOOKSTEIN, F.L. 1997. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. **Medical Image Analysis** 1(3): 225–243.

BREDOW, E.; J.H. PEDROSA-MACEDO; J.C. MEDAL & J.P. CUDA. 2007. Open field host specificity tests in Brazil for risk assessment of *Metritona elatior* (Coleoptera: Chrysomelidae), a potential biological control agent of *Solanum viarum* (Solanaceae) in Florida. **The Florida Entomologist** 90(3): 559-564.

BUZZI, Z.J. 1994. Host-plants of neotropical Cassidinae, p. 205-212. In: P.H. Jolivet; M.L.Cox & E. Petitpierre (Eds.). **Novel aspects of the biology of Chrysomelidae**. Dordrecht, Kluwer Academic Press, 582p.

DUFFEY, S.S. 1986. Plant glandular trichomes: their partial role in defense against insects, p. 151-172. In: B. Juniper & T.R.E. Southwood (Eds.). **Insects and the plant surface**. London, Edward Arnold Publishers, 360p.

FERNANDES, G.W. 1994. Plant mechanical defenses against insect herbivory. **Revista Brasileira de Entomologia** 39(2): 421-433.

FOX, L.R. & P.A. MORROW. 1981. Specialization: species property or local phenomenon? **Science** 211(4485): 887-893.

GROTH, D. 1989. Caracterização morfológica das sementes e plântulas de seis espécies invasoras do gênero *Solanum* L. **Acta Botânica Brasilica** 3(1): 25-41.

HILL, M.P. & P.E. HULLEY. 1995. Biology and host range of *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae), a potential biological control agent for the weed *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae) in South Africa. **Biological Control** 5 (3): 345-352.

HILL, M.P. & P.E. HULLEY. 1996. Suitability of *Metritona elatior* (Klug) (Coleoptera:

- Chrysomelidae: Cassidinae) as a biological control agent for *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae). **African Entomology** 4: 117-123.
- HILL, M.P.; P.E. HULLEY; J. ALLSOPP & G. van HARMELEN. 1997. Glandular trichomes on the exotic *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae): effective deterrents against an indigenous South African herbivore. **African Entomology** 5(1): 41-50.
- HOCHULI, D. 2001. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behavior, morphology and host use? **Austral Ecology** 26(5): 563-570.
- HSIAO, T.H. 1986. Specificity of certain chrysomelid beetles for Solanaceae, p. 346-363. *In*: W.G. Dàrcy (Ed.). **Solanaceae: biology and systematics**. New York, Columbia University Press, 603p.
- JEFREE, C.E. 1986. The cuticle, epicuticular waxes and trichomes of plants, with reference to their structure, functions and evolution, p. 23-64. *In*: B. Juniper & R. Southwood (Eds.). **Insects and the plant surface**. London, Edward Arnold, 360p.
- JOHNSON, H.B. 1975. Plant pubescence: an ecological perspective. **The Botanical Review** 41 (3): 233-258.
- JOHNSON, M.L. & M.P. ZALUCKI. 2005. Foraging behavior of *Helicoverpa armigera* first instar larvae on crop plants of different developmental stages. **Journal of Applied Entomology** 129(5): 239-245.
- KVASINA, M.L. & R. PONCE-DE-LEÓN. 1985. Nuevos aportes a la biología de *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) (Coleoptera, Chrysomelidae) y su relación com la planta huésped *Solanum sisymbriifolium* Lamarck, 1797 (Solanaceae). **Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay** 3: 9-15.
- LEVIN, D.A. 1973. The role of trichomes in plant defense. **The Quarterly Review of Biology** 48 (1): 3-15.
- LEVIN, R.A.; N.R. MYERS & L. BOHS. 2006. Phylogenetic relationships among the

“spiny solanums” (*Solanum* Subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). **American Journal of Botany** **93**(1): 157-169.

LIMA, A.M.A.; G.A. DA SILVA; C.R. GONÇALVES; D.M. GALVÃO; A.J.L. GONÇALVES; J. GOMES; M. DO N. SILVA; L. DE SIMONI. 1968. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores** t. 1, pt. 2. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Departamento de Defesa e Inspeção Agropecuária, 906p.

LIT, M.C. & E.N. BERNARDO. 1990. Mechanism of resistance of eggplant (*Solanum melongena* Linn.) to the Cotton Leafhopper, *Amrasca biguttula* (Ishida) II. Morphological and Biochemica Factors Associated with Resistance. **Philippine Journal of Crop Science** **15**(2): 79-84.

MEDAL, J.C.; R.A. PITELLI; A. SANTANA; D. GANDOLFO; R. GRAVENA & D.H. HABECK. 1999. Host specificity of *Metriona elatior*, a potential biological control agent of tropical soda apple, *Solanum viarum*, in the USA. **BioControl** **44**(4): 421-436.

MEDEIROS, L.; D.S. BOLIGON & G.R.P. MOREIRA. 2004. Morphological and behavioral adaptations to movement on different leaf surfaces: Studies with Cassidinae larvae, p. 291-303. In: P. Jolivet, J.A. Santiago-Blay & M. Schmitt (Eds.). **New developments in the biology of Chrysomelidae**. Dordrecht, SPB Academic Publishing, 804p.

MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA. 2002. Moving on hairy surfaces: modifications of *Gratiana spadicea* larval legs to attach on its host plant *Solanum sisymbriifolium*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **102**(3): 295-305.

MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA. 2003. Leaf selection and daily variation on feeding and oviposition of *Gratiana spadicea* (Klug) (Coleoptera, Crysomelidae, Cassidinae). **Revista Brasileira de Zoociências** **5**(2): 153-160.

MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA. 2005. Larval feeding behavior of *Gratiana spadicea* (Klug) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae) on its host plant, *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae): interaction with trichomes.

**The Coleopterist's Bulletin 59(2): 339-350.**

MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA. 2008. Performance of *Gratiana spadicea* (Cassidinae) on five sympatric hosts and non-host plants in south Brazil. p. 210-224. In: P. Jolivet, J.A. Santiago-Blay & M. Schmitt (Eds.). **Research on Chrysomelidae**. Brill SPB Academic Publishing, Leiden, 432p.

MEDEIROS, L.; D.N. FERRO & A. MAFRA-NETO. 1996. Association of chrysomelid beetles with solanaceous plants in the south of Brazil, p. 339-363. In: P.H.A. Jolivet, & M.L. Cox (Eds.). **Chrysomelidae biology, vol. 2: ecological studies**. Dordrecht, SPB Academic Publishing, 462p.

MENTZ, L.A. & P.L. OLIVEIRA. 2004. ***Solanum* (Solanaceae) na região sul do Brasil**. Pesquisas / Instituto Anchieta de Pesquisas. São Leopoldo, Unisinos, 327p.

MIZ, R.B.; L.A. MENTZ & T.T. SOUZA-CHIES. 2008. Overview of the phylogenetic relationships of some southern Brazilian species from section *Torva* and related sections of "spiny *Solanum*" (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). **Genetica 132(2): 143-158.**

MOCZEC, A.P. 2010. Phenotypic plasticity and diversity in insects. **Philosophical Transactions of the Royal Society B 365(1540): 593-603.**

MOCZEK, A. P. & EMLÉN, D. J. 2000. Male horn dimorphism in the scarab beetle *Onthophagus taurus*: do alternative reproductive tactics favor alternative phenotypes? **Animal Behavior 59(2), 459–466.**

MOONEY, K. A. & A. A. AGRAWAL. 2007. Phenotypic plasticity, p. 43-57. In: K.J. Tilmon (Ed.). **The evolutionary biology of herbivorous insects: Specialization, speciation and radiation**. Berkley, University of California Press, XV+341p.

NYLIN, S. & N. JANZ. 2009. Butterfly host plant range: an example of plasticity as a promoter of speciation? **Evolutionary Ecology 23(1): 137-146.**

OLCKERS, T., J.C. MEDAL & D.E. GANDOLFO. 2002. Insects herbivores associated



- with species of *Solanum* (Solanaceae) in Northeastern Argentina and Southeastern Paraguay, with reference to biological control of weeds in South Africa and the United States of America. **Florida Entomologist** **85** (1): 254-260.
- POCZAI, P.; J. TALLER & I. SZABÓ. 2008. Analysis of phylogenetic relationships in the genus *Solanum* (Solanaceae) as revealed by RAPD markers. **Plant Systematics and Evolution** **275**(1-2): 59-67.
- ROHLF, F.J. 1990. Morphometrics. **Annual Review of Ecology and Systematics** **21**(1): 299-316.
- ROHLF, F.J. & F.L. BOOKSTEIN. 1990. **Proceedings of the Michigan morphometrics workshop**. Special Publication No. 2. Ann Arbor, The University of Michigan Museum of Zoology, VIII+380p.
- ROHLF, F.J. & L.F. MARCUS 1993. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology and Evolution** **8**(4): 128-132.
- ROHLF, F.J. & D.E. SLICE. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. **Systematic Zoology** **39**(1): 40-59.
- ROSSINI, A.; R. GRAVENA; S.A. DE BORTOLI; R.A. PITELLI & A.E. SANTANA. 2002. Aspectos biológicos de *Metritona elatior* Klug (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae) sobre plantas de *Solanum viarum* Dunal (Solanaceae). **Acta Scientiarum** **24**: 1433-1438.
- SCHOONHOVEN, L.M.; J.J.A. VAN LOON & M. DICKE. 2005. **Insect-plant Biology** 2nd ed. New York, Oxford University Press, XVII+421p.
- SCRIBER, J.M. & F. SLANSKY, Jr. 1981. The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology** **26**: 183-211.
- SCRIBER, J.M. 1982. The behavior and nutritional physiology of southern armyworm larvae as a function of plant species consumed in earlier instars. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **31**(4): 359-369.
- SEIGLER, D. & P.W. PRICE. 1976. Secondary compounds in plants: primary

- functions. **The American Naturalist** **110**(971): 101-105.
- SHELOMI, M.; L.E. PERKINS; B.W. CRIBB & M.P. ZALUCKI. 2010. Effects of leaf surfaces on first-instar *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) behavior. **Australian Journal of Entomology** **49**: 289-295.
- SIMMONS, L.W. & D.J. EMLÉN. 2006. Evolutionary trade-off between weapons and testes. **Proceedings of the National Academy of Sciences** **103**(44): 16346-16351.
- SLANSKY, F.Jr. 1993. Nutritional ecology: the fundamental quest for nutrients. In: N.E. Stamp & T. Casey (Eds.). **Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging**. New York, Chapman & Hall, XIII+587p.
- SMITH, L.B. & R.J. DOWNS. 1966. Solanáceas, p. 1-321. In: R. Reitz (Org.). **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues, 321p.
- SOUTHWOOD, R. 1986. Plant surfaces and insects – an overview, p. 1-23. In: B. Juniper & R. Southwood (Eds.). **Insects and the plant surface**. London, Edward Arnold, VIII+360p.
- WAGNER H.; S. BLADT & E.M. ZGAINSKI. 1984. **Plant drug analysis**. Berlin, Springer-Verlag, XVII+167p.
- WEST-EBERHARD, M.J. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. **Annual Review of Ecology and Systematics**, **20**: 249-278.
- WEST-EBERHARD, M.J. 2003. **Developmental plasticity and evolution**. Oxford: Oxford University Press, New York, XX+794p.
- WHITMAN, D.W. & A.A. AGRAWAL. 2009. What is phenotypic plasticity and why is it important? p. 1-63. In: D.W. Whitman & T.N. Ananthakrishnan (Eds.). **Phenotypic Plasticity of Insects. Mechanisms and Consequences**. Enfield, Science Publishers, X+894p.
- WOODMAN, R.L. & G.W. FERNANDES. 1991. Differential mechanical defense: herbivory, evapotranspiration, and leaf-hairs. **Oikos** **60**(1): 11-19.

## 2. Capítulo I: Plasticidade comportamental de larvas de duas espécies de Cassidinae (Coleoptera, Chrysomelidae) sobre folhas de *Solanum* (Solanaceae)

A ser submetido para Entomologia Experimentalis et Applicata

**Resumo.** Qualquer característica da história de vida de um inseto herbívoro é amplamente influenciada pela planta hospedeira. Quando do contato do inseto com a planta na superfície foliar, as estruturas presentes desempenham papel determinante quanto ao acesso ao alimento, dependendo do grau de dependência do herbívoro com a planta. *Gratiana spadicea* (Klug, 1829) é monófaga, encontrada somente sobre folhas de *Solanum sisymbriifolium* Lamarck e *Metriona elatior* (Klug, 1829) apresenta menor grau de especificidade e ocorre em várias plantas do gênero *Solanum* Linnaeus. Diante dos distintos graus de especialização alimentar, examinamos a existência de adaptações comportamentais nessas espécies à planta hospedeira. Foi quantificado o tempo empregado pelas larvas de primeiro, terceiro e quinto instares de *G. spadicea* e *M. elatior* durante 6 horas consecutivas em cinco espécies de *Solanum* relativos ao repouso, caminhada, remoção de tricomas, alimentação e prova do alimento. Em todas as plantas, exceto *S. sisymbriifolium*, *M. elatior* se alimentou mais, caminhou menos e repousou mais do que *G. spadicea*, em todos os instares avaliados. O primeiro instar parece ser o mais crítico para *G. spadicea*, que ao longo da ontogênese aumentou o tempo ingerindo alimento, bem como o número de plantas hospedeiras utilizadas. *M. elatior* apresentou maior plasticidade, se alimentando por igual

tempo em todas as plantas. Em *Solanum melongena* Linnaeus, onde as folhas são densamente pilosas, o tempo removendo tricomas por *M. elatior* foi maior e, o em repouso menor, e não houve aumento no tempo se alimentando nessa planta durante o crescimento larval. Conclui-se que a alta especificidade de *G. spadicea* é vantajosa para esse organismo quando sobre *S. sisymbriifolium*. Por outro lado, a plasticidade comportamental de *M. elatior* lhe confere maiores opções quanto ao número de hospedeiras, com alguns custos, medidos aqui pelo tempo na remoção de barreiras físicas (tricomas), mas não restringindo a sua ocorrência a uma única planta hospedeira.

**Palavras-chave.** *Gratiana spadicea*, *Metritona elatior*, tricomas, especificidade alimentar, comportamento.

## 2.1. Introdução

A existência de diferentes graus de especialização e o conservadorismo filogenético correspondente estão entre os fatores responsáveis pelo sucesso de um organismo e podem explicar padrões da diversidade de insetos e plantas atuais (FARRELL & MITTER 1994). Dentre os Chrysomelidae (Coleoptera), por exemplo, existem várias espécies que se alimentam de táxons específicos, entre eles situam-se diversas solanáceas (JOLIVET 1988, HSIAO 1986). Os fatores que norteiam a escolha da planta hospedeira vem sendo estudados ao longo de muitos anos, constatando-se que a composição de herbívoros correspondente é influenciada principalmente por atributos das plantas (BERNAYS 1998, FUTUYMA 2000).

BERNAYS *et al.* (2004b) encontraram que embora o comportamento de larvas de lepidópteros especialistas seja mais provavelmente influenciado pelo tipo de planta, variações nesta podem ter importantes conseqüências para o comportamento de generalistas também. Defesas presentes nas folhas das plantas, como cera e tricomas, a dureza da cutícula, a presença de aleloquímicos, por exemplo, podem afetar o comportamento alimentar (HOCHULI 1996, 2001). Lagartas podem gastar mais tempo processando um local de alimentação em folhas com uma densa camada de cera, de tricomas e/ou impregnada de substâncias tóxicas, que devem ser removidas para possibilitar o acesso aos tecidos nutritivos da folha (MEDEIROS & MOREIRA 2005, SHELOMI *et al.* 2010, ELPINO-CAMPOS 2011). Ainda, a dificuldade de processar fisicamente as folhas pode afetar o tempo de alimentação e a baixa qualidade nutricional da planta pode implicar no consumo de grandes quantidades de tecido foliar para sustentar o crescimento do inseto (BERNAYS *et al.* 2004b).

*Gratiana spadicea* (Klug, 1829) (Coleoptera: Chrysomelidae) desenvolve-se em uma única planta, *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (HSIAO 1986, MEDEIROS *et al.* 1996). Uma atenção especial vem sendo dada ao estudo do estágio larval desse inseto e sua estreita relação com os tricomas presentes na superfície foliar da sua hospedeira. MEDEIROS & MOREIRA (2002, 2005), por exemplo, demonstraram que as larvas utilizam os raios dos tricomas para o deslocamento, e os removem inteira ou parcialmente antes da alimentação. Em conformidade, as larvas apresentaram preferência por folhas de menor densidade de tricomas, corroborando a maior sobrevivência conferida às larvas alimentadas de discos foliares com tricomas removidos. A causa da mortalidade na presença de maior densidade de tricomas foi avaliada por BOLIGON *et al.* (2009) e é conferida a ingestão de fragmentos de tricomas que ocasionalmente causam danos ao epitélio ventricular, principalmente nos instares iniciais. Ainda, BOLIGON (2007) verificou que a densidade de tricomas estrelados de *S. sisymbriifolium* influencia o tempo dedicado à alimentação das larvas de *G. spadicea*. Quanto maior tempo dedicado à remoção destas estruturas menor o tempo empregado na ingestão de alimento.

*Metriora elatior* (Klug, 1829) (Coleoptera, Chrysomelidae) se alimenta de várias espécies do gênero *Solanum*, dentre as ocorrentes no sul do Brasil, destacamos *Solanum viarum* Dunal (MEDAL *et al.* 1999), *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (HILL & HULLEY 1996), *Solanum atropurpureum* Shrank, *Solanum aculetissimum* Jacquin (LIMA *et al.* 1968) e, a cultivada *Solanum melongena* Linnaeus (HILL & HULLEY 1996, MEDAL *et al.* 1999). As larvas de *M. elatior* também apresentam estreita relação com os tricomas de *S. viarum*, ancorando os seus tarsúngulos nos tricomas a fim de se deslocar sobre a folha,

principalmente nos instares iniciais quando as pernas ainda não alcançam a epiderme foliar em função da altura dos tricomas (MEDEIROS *et al.* 2004).

De acordo com BERNAYS *et al.* (2004 a,b), podem haver diferenças comportamentais e fisiológicas entre insetos generalistas e especialistas. Em estudos realizados por esses autores com Arctiidae (Lepidoptera), espécies generalistas gastaram mais tempo caminhando, provando e rejeitando fontes potenciais de alimento e em períodos curtos de alimentação quando comparados aos especialistas, o que sugere um custo para essas espécies e uma vantagem àquelas consideradas especialistas. Entretanto, generalistas podem ter maior disponibilidade de alimento, bem como, de nutrientes, diante de um número maior de hospedeiras, o que é testado em relação a *G. spadicea* e *M. elatior*.

Os diferentes graus de especialização dessas espécies oferece um sistema interessante para estudar os mecanismos de adaptação, com respeito às interações das larvas com as plantas hospedeiras. Importantes características morfológicas e fisiológicas influenciam e são influenciadas pelo comportamento. Avaliar o emprego do tempo em diferentes atividades das larvas compreende uma maneira eficaz de determinar indiretamente tais *constraints* impostos pela planta hospedeira frente à história de vida dos insetos (BERNAYS 1998). Diante disso, conduzimos um estudo detalhado com vistas a quantificar diferenças comportamentais, e assim estabelecer comparações em relação ao grau de monofagia / oligofagia destas duas espécies de Cassidinae em diferentes plantas hospedeiras, bem como determinar os atributos da superfície foliar que podem afetar a frequência de atividades das larvas ao longo da ontogênese.

## 2.2. Material e Métodos

### 2.2.1. Cultivo das plantas

Mudas de *S. atropurpureum* e *S. viarum* foram coletadas nas proximidades do Departamento de Zoologia, no Campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Mudas de *S. aculeatissimum* foram coletadas no município de Ijuí (RS) e de *S. melongena* foram adquiridas no comércio de Porto Alegre. As plantas foram cultivadas, sob condições naturais, em vasos contendo terra e adubo orgânico em telado localizado no Campus do Vale da UFRGS. Em períodos de seca, as plantas foram regadas com água até duas vezes em uma semana.

### 2.2.2. Caracterização da superfície foliar

Fragmentos de 1cm<sup>2</sup> de folhas de *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum* e *S. melongena*, os quais ainda não tinham sua superfície caracterizada, foram fixados em solução de FAA<sub>50</sub> (formaldeído 37%, ácido acético glacial e álcool 50%, 1:1:18, v/v) (JOHANSEN 1940), desidratadas em série crescente de álcool e acetona P.A. e submetidas ao ponto crítico em aparelho Baltec® - CPD 030, no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS, montadas em suportes de alumínio (*stubs*), e cobertas com carbono em aparelho Baltec® - SCD 050. A análise e captura das imagens foi feita em microscópio eletrônico de varredura JEOL® JSM-6060.

A densidade de tricomas foi obtida através da contagem, sob estereomicroscópio Leica® M125, do número de tricomas em uma área de 1mm<sup>2</sup> da região distal na face abaxial de folhas adultas de plantas diferentes (n=10 folhas por cada espécie de planta), tendo em vista que as larvas estão



geralmente localizadas nessa posição (MEDEIROS & MOREIRA 2003).

Os tricomas de *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum*, *S. sisymbriifolium* e *S. viarum* foram previamente caracterizados por MENTZ *et al.* (2000) e a densidade dos tricomas em *S. sisymbriifolium* foi quantificada anteriormente por BOLIGON (2007), *S. viarum* por MEDEIROS *et al.* (2004) e diversas variedades de *S. melongena* por LIT & BERNARDO (1990). A contagem para *S. melongena* foi repetida pois não há garantia de que a variedade utilizada para este trabalho é a mesma utilizada por LIT & BERNARDO (1990).

Os tricomas quantificados foram os estrelados e os glandulares longos e tectores uni- e multicelulares que foram englobados na categoria simples, ou seja, não estrelados. Os tricomas glandulares curtos não foram quantificados em virtude da difícil visualização sob estereomicroscópio.

### 2.2.3. Criação dos insetos

Adultos de *M. elatior* e *G. spadicea* foram coletados em folhas de *S. viarum* e *S. sisymbriifolium*, respectivamente, nas proximidades do Campus do Vale da UFRGS, levados ao laboratório, mantidos em câmara climatizada ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ , 14 horas luz/dia), acondicionados em potes plásticos e alimentados *ad libitum* com ramos dessas plantas, estas oriundos do cultivo descrito em item anterior. Os ramos foram substituídos três vezes por semana e vistoriados para o recolhimento das ootecas, as quais eram acondicionadas em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido, onde foram mantidas até a eclosão das larvas.

### 2.2.4. Observações da atividade das larvas

Larvas de primeiro instar de *M. elatior* e *G. spadicea* foram observadas

no mesmo dia da eclosão. Aquelas de terceiro e quinto ínstaes foram alimentadas de *S. viarum* e *S. sisymbriifolium*, respectivamente, até o momento das observações. As larvas foram observadas ( $n = 15$  /instar/planta) individualmente, continuamente por seis horas, sobre folhas de *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum*, *S. sisymbriifolium*, *S. viarum* e *S. melongena*. As larvas de *G. spadicea* sobre *S. sisymbriifolium* já haviam sido anteriormente observadas por BOLIGON (2007), seguindo idêntico procedimento. As larvas foram colocadas individualmente sobre a margem das folhas, na porção distal da face abaxial, cerca de duas horas antes do início do período de observação. As observações foram realizadas das 11h às 17h, por ser período de atividade alimentar das larvas de *G. spadicea* (MEDEIROS & MOREIRA 2002). As observações foram realizadas a cada dois minutos, tempo estipulado com base no observado para larvas dessa espécie (BOLIGON 2007). Para as observações, foi utilizada uma lupa de mão (10 X), sendo registrada a atividade de acordo com as seguintes definições e comparações correspondentes (modificadas de BERNAYS *et al.* 2004b):

Repousando – não se alimentando ou locomovendo; outros movimentos podem ocorrer durante o repouso, incluindo contorção, contração, defecação;

Removendo – removendo os tricomas com auxílio das mandíbulas, armazenando os tricomas removidos na cavidade pré-oral e imediatamente movendo-os para fora desta cavidade;

Alimentando – ingerindo alimento e vistas usualmente com a cabeça movendo-se ritmicamente e próximas à superfície da folha; observa-se a marca de alimentação no limbo foliar;

Caminhando – locomovendo-se ativamente;

Provando – cabeça abaixada, movendo-se sobre a superfície da planta, entrando em contato momentaneamente com o alimento, mas sem mordida aparente;

A duração das refeições foi definida como um período de alimentação ininterrupta de 3 minutos ou mais, separados por intervalos em outras atividades (repousando, caminhando, removendo ou provando).

#### 2.2.5. Análise estatística

Pelo uso do teste de Kolmogorov-Smirnov, foi demonstrado que os dados não se ajustaram a distribuição normal; portanto, utilizamos testes não paramétricos para as comparações. Para verificar o efeito das plantas nas larvas de *G. spadicea* e *M. elatior* realizamos testes de Kruskal-Wallis para um critério de classificação, seguido de comparações múltiplas pelo teste de Dunn. Para as comparações entre as duas espécies de Cassidinae, em relação a cada planta hospedeira, foram conduzidos testes de Mann-Whitney *U*. Para avaliar a variação das atividades ao longo da ontogênese, os dados foram logaritmizados e submetidos a análise de regressão. Em todos os casos o nível de significância foi 0,05 e, a menos que explicitado, os resultados são apresentados pelas medianas e respectivos quartis. As análises foram realizadas no software GraphPad Prism (MOTULSKY & CHTISTOPOULOS 2003).

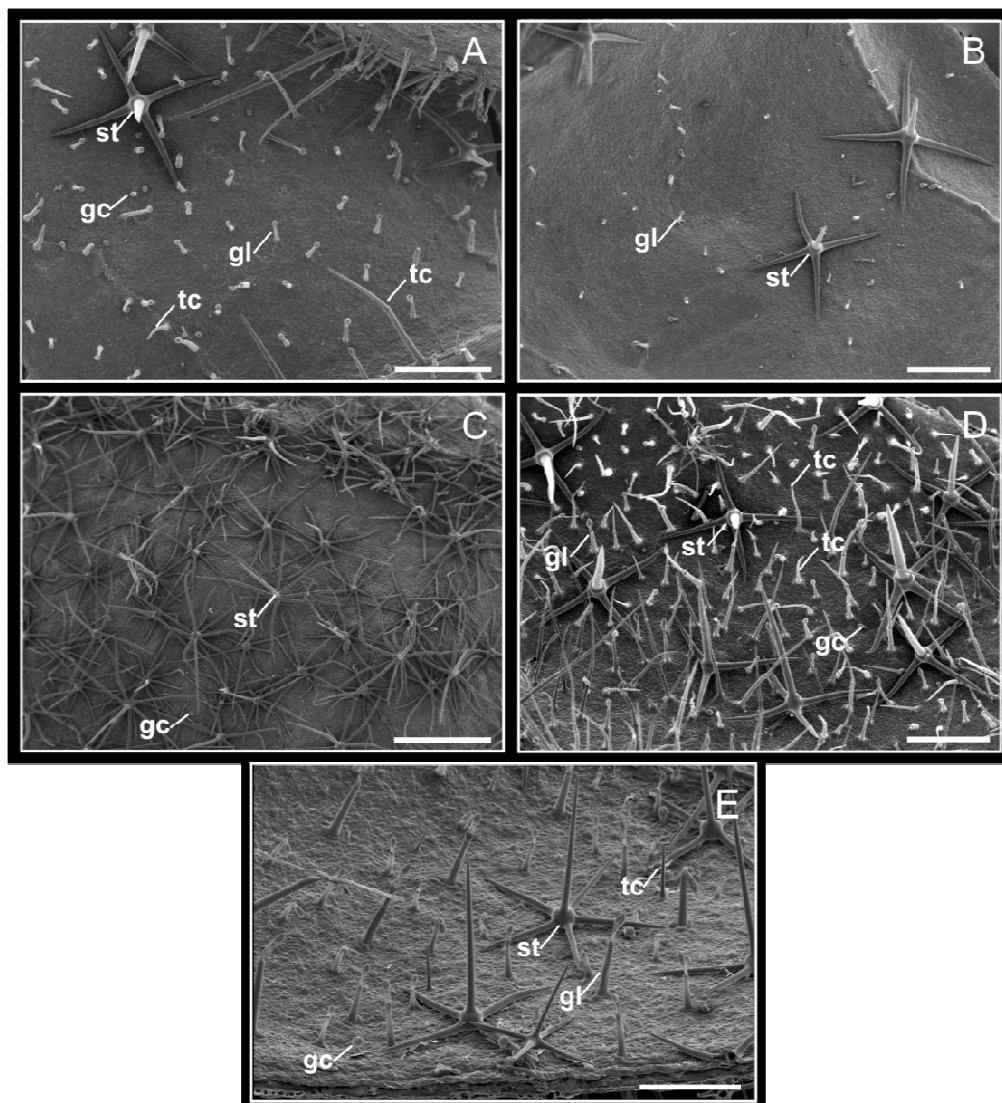
### 2.3. Resultados

Na superfície abaxial das folhas, foram encontrados os seguintes tipos de tricomas encontrados foram: estrelado com quatro ou mais raios laterais e um raio central (st), glandular longo com cabeça clavada (gl), glandular curto com cabeça globosa (gc) e tector uni- ou pluricelular (tc) (Figura 1).

As folhas das diferentes espécies de *Solanum* avaliadas apresentaram diferenças na superfície foliar em relação à densidade de tricomas. *S. melongena* apresentou alta densidade de tricomas estrelados (22,68 por mm<sup>2</sup>), seguida de *S. sisymbriifolium* (6,85), *S. aculeatissimum* (5,50), *S. viarum* (4,56) e *S. atropurpureum* (1,00). Quanto ao número de tricomas simples (não estrelados), a densidade foi alta em *S. viarum* (136,50), seguida de *S. aculeatissimum* (9,04), *S. sisymbriifolium* (2,30) e *S. atropurpureum* (2,16) (Tabela 1).

Há variação nos níveis de utilização da planta hospedeira pelas espécies de *G. spadicea* e *M. elatior* e também quando comparadas as duas espécies de Cassidinae em cada espécie de *Solanum* (Figuras 2 a 6).

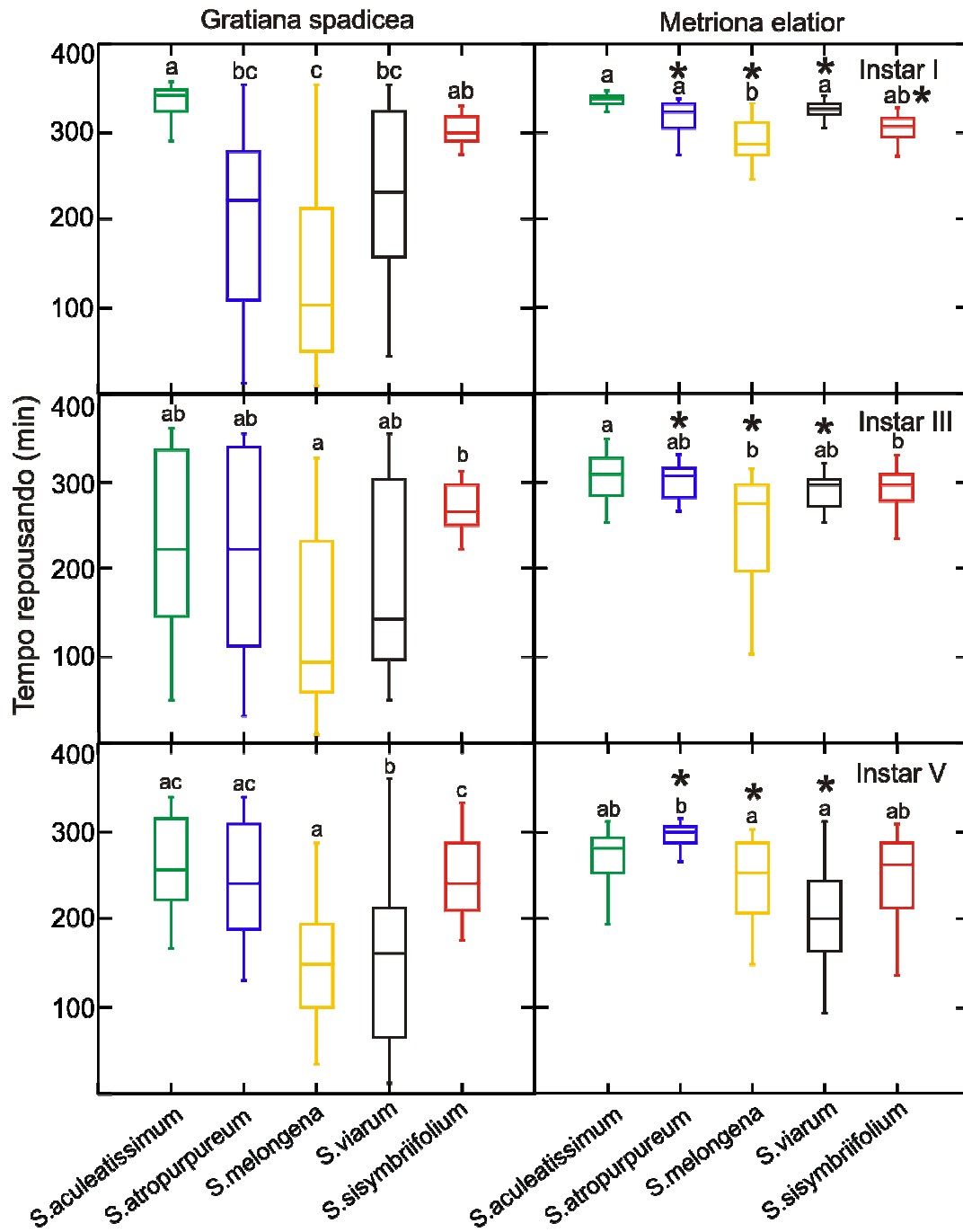
No primeiro instar, as larvas de *M. elatior* repousaram mais tempo que *G. spadicea* em todas as plantas avaliadas, exceto *S. aculeatissimum*. No terceiro e quinto instar repousaram mais em *S. atropurpureum*, *S. melongena* e *S. viarum*. Em geral, para *G. spadicea* o tempo em repouso foi menor em *S. melongena* e *S. viarum* e para *M. elatior* mais tempo repousando em *S. aculeatissimum*, no segundo instar e, em *S. atropurpureum*, no quinto (Figura 2).



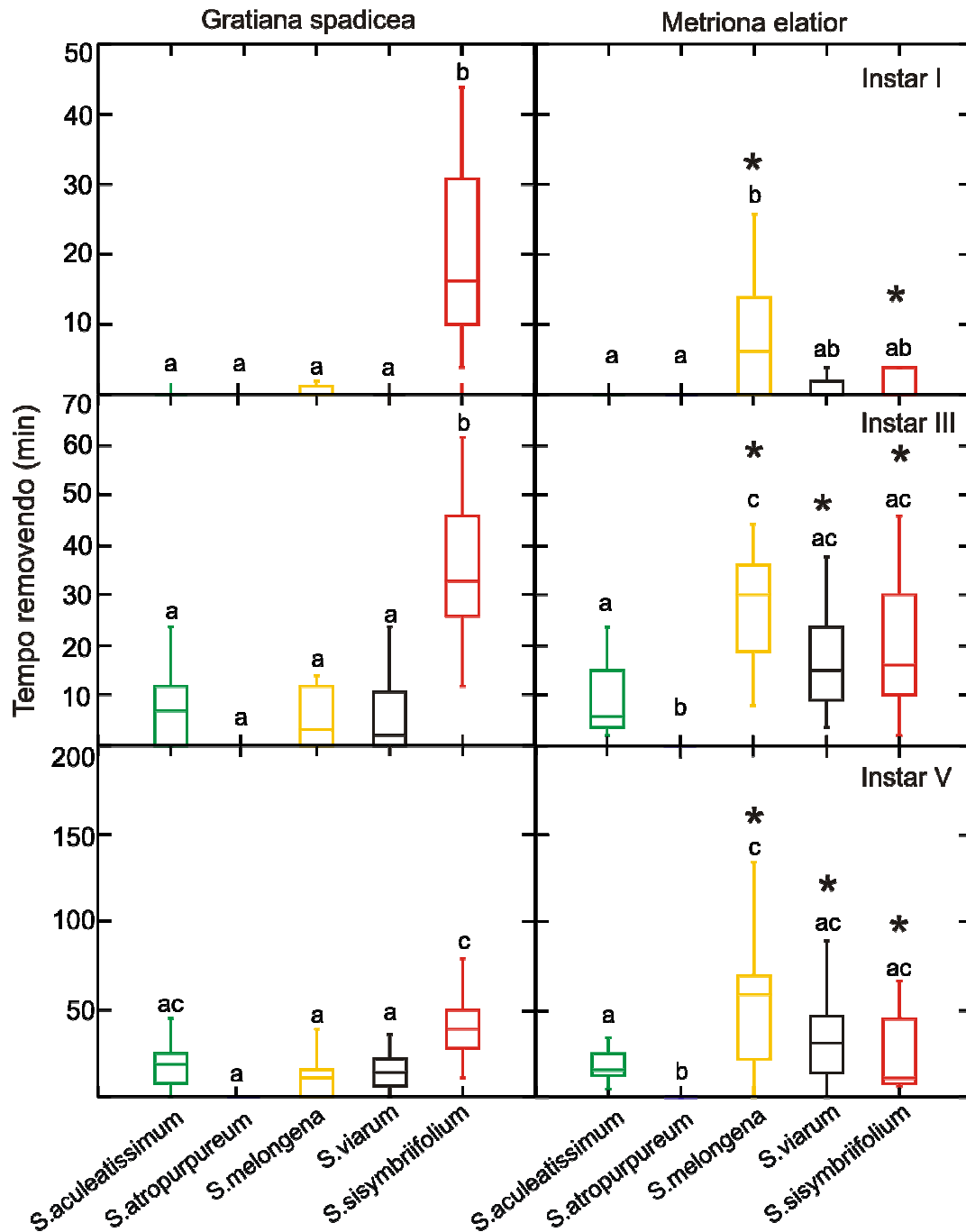
**Figura 1.** Vista geral da superfície foliar da face abaxial das espécies de planta hospedeiras avaliadas. *Solanum aculeatissimum* (A), *Solanum atropurpureum* (B), *Solanum melongena* (C), *Solanum viarum* (D) e *Solanum sisymbriifolium* (E). Tricomas: **st**, estrelado; **tc**, tector uni ou pluricelular; **gl**, glandular longo; **gc**, glandular curto. Barras = 500, 500, 500, 500 e 200  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

**Tabela 1.** Número de tricomas (média  $\pm$  erro padrão) para 1mm<sup>2</sup> de área da superfície abaxial das plantas hospedeiras (n = 10 folhas por planta para cada espécie de *Solanum*).

Planta	Número de tricomas		Referência
	Simples	Estrelados	
<i>S. aculeatissimum</i>	9,04 $\pm$ 1,55	5,50 $\pm$ 0,63	
<i>S. atropurpureum</i>	2,16 $\pm$ 0,25	1,00 $\pm$ 0,33	
<i>S. melongena</i>	-----	22,68 $\pm$ 1,35	
<i>S. sisymbriifolium</i>	2,30 $\pm$ 0,44	6,85 $\pm$ 0,57	Boligon <i>et al.</i> (2009)
<i>S. viarum</i>	136,50 $\pm$ 2.26	4,56 $\pm$ 0.22	Medeiros <i>et al.</i> (2004)

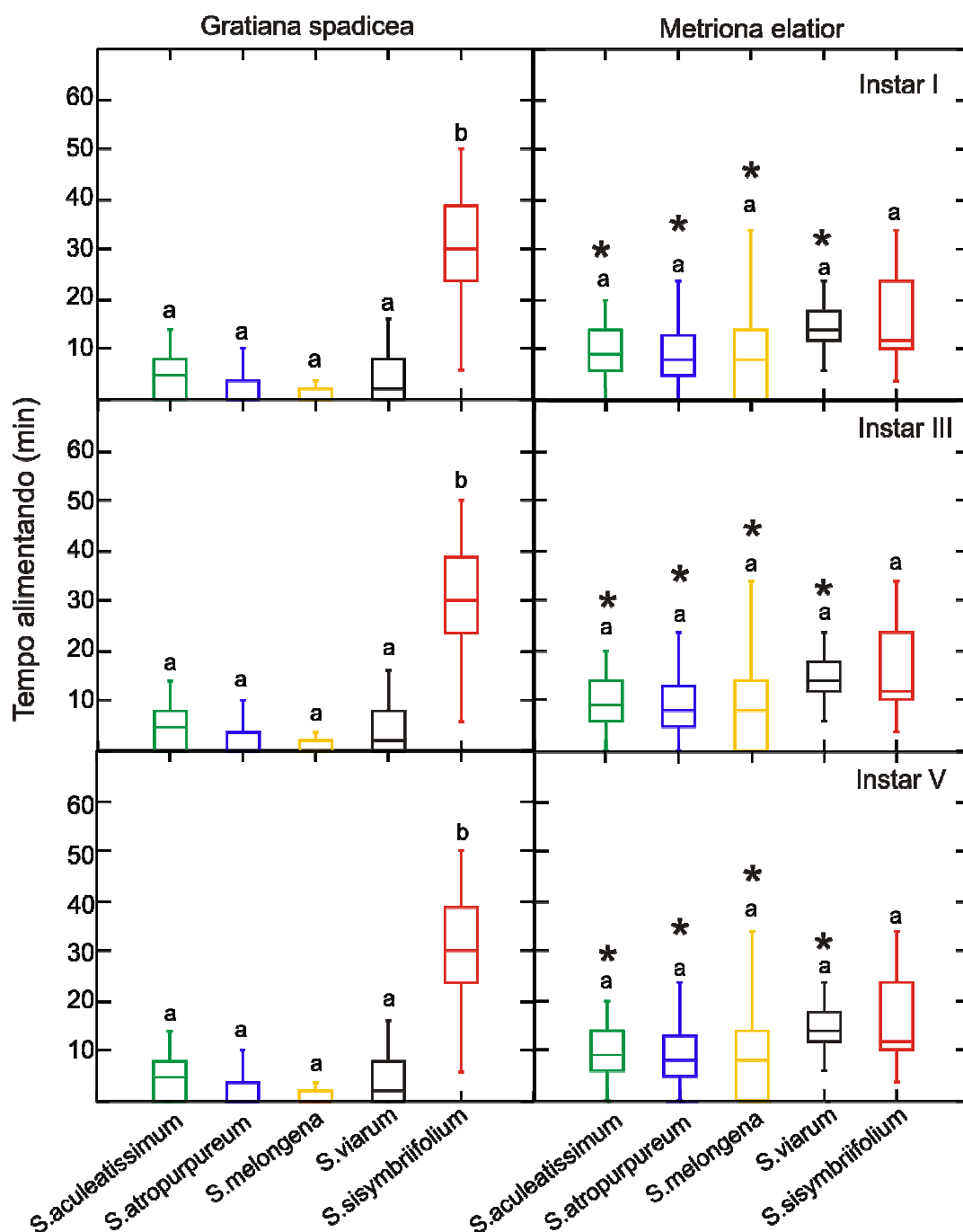


**Figura 2.** Medianas e respectivos quartis do tempo repousando no I, III e V ínstares larvais de *Gratiانا spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn). Asteriscos representam diferença significativa entre as espécies de Cassidinae para cada planta (teste de Mann-Whitney U); alfa = 0,05.

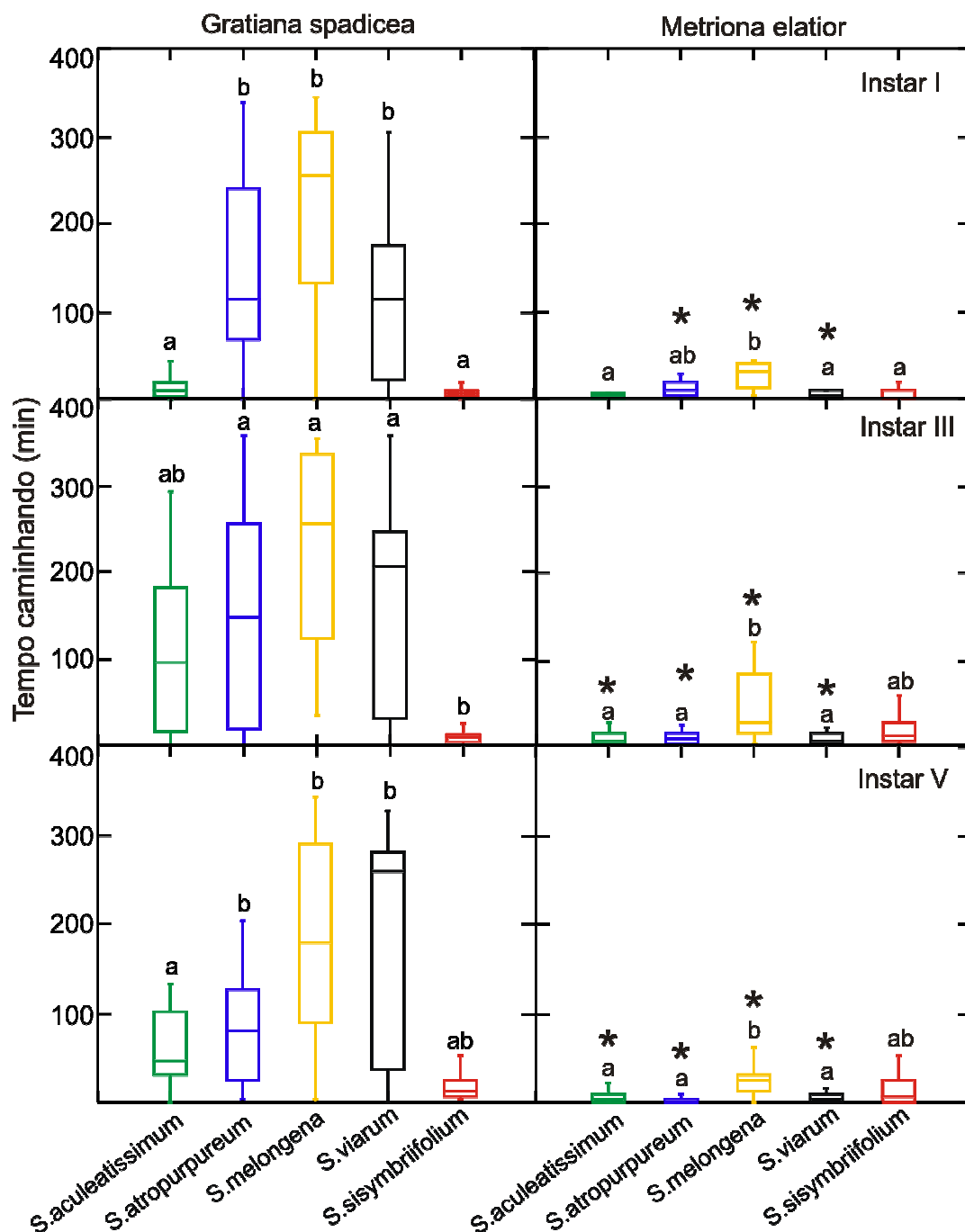


**Figura 3.** Medianas e respectivos quartis do tempo removendo tricomas no I, III e V ínstars larvais de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn). Asteriscos representam diferença significativa entre as espécies de Cassidinae para cada planta (teste de Mann-Whitney U); alfa = 0,05.

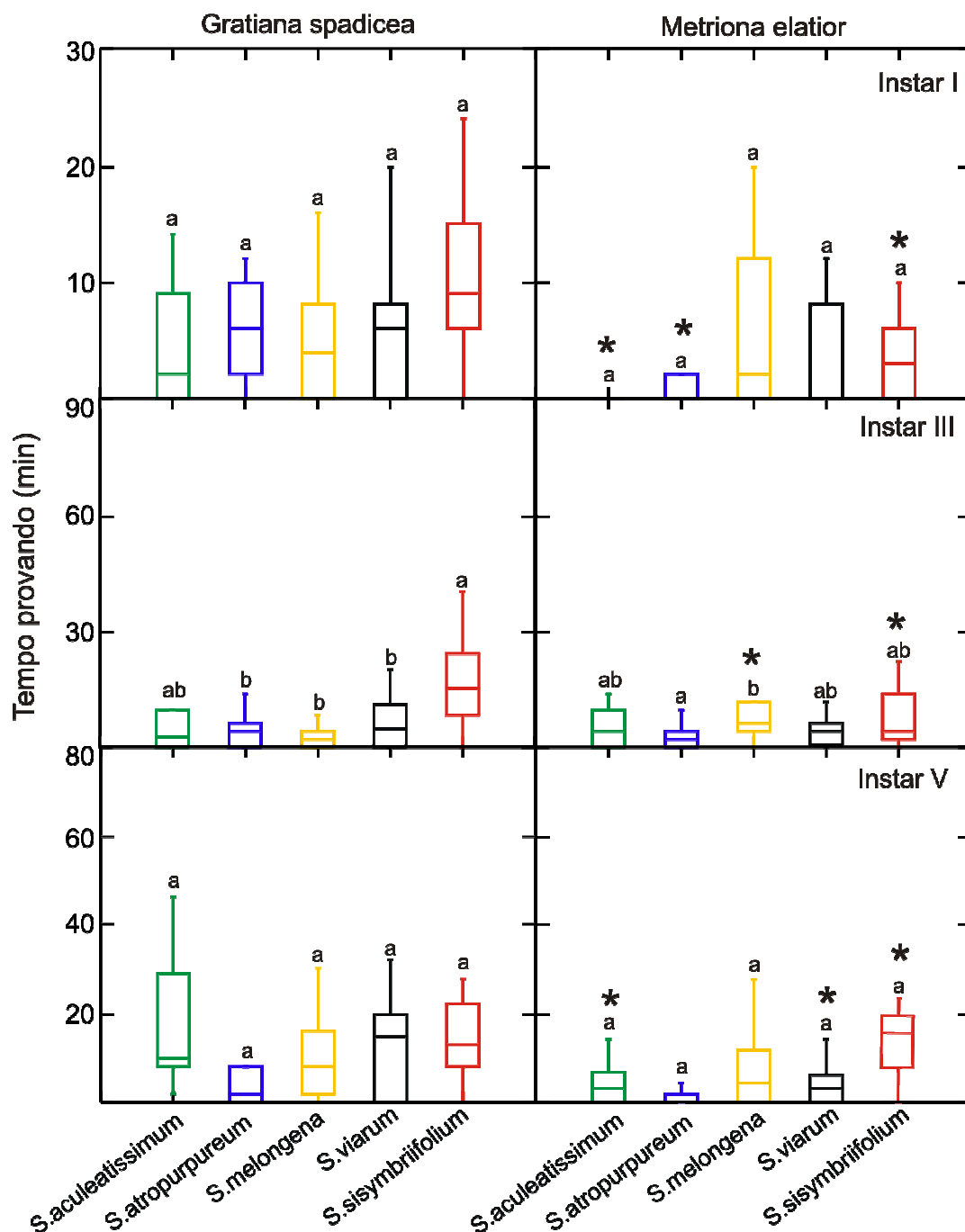




**Figura 4.** Medianas e respectivos quartis do tempo se alimentando no I, III e V ínstares larvais de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn). Asteriscos representam diferença significativa entre as espécies de Cassidinae para cada planta (teste de Mann-Whitney U); alfa = 0,05.



**Figura 5.** Medianas e respectivos quartis do tempo caminhando no I, III e V ínstares larvais de *Gratiiana spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn). Asteriscos representam diferença significativa entre as espécies de Cassidinae para cada planta (teste de Mann-Whitney U); alfa = 0,05.



**Figura 6.** Medianas e respectivos quartis do tempo provando no I, III e V ínstares larvais de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* quando observadas em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferenças entre as plantas para cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn). Asteriscos representam diferença significativa entre as espécies de Cassidinae para cada planta (teste de Mann-Whitney U); alfa = 0,05.

O tempo removendo tricomas foi maior para larvas de *G. spadicea* em relação à *M. elatior* sobre a sua hospedeira, *S. sisymbriifolium*, o mesmo para as duas espécies em *S. aculeatissimum* e, maior para *M. elatior*, em *S. melongena* no primeiro instar e em *S. melongena* e *S. viarum*, nos demais. *G. spadicea* removeu mais tricomas em *S. sisymbriifolium* do que nas demais plantas, exceto no quinto instar em que o tempo nessa atividade foi igual em *S. aculeatissimum*. Em *S. atropurpureum* pouco tempo foi empregado na remoção de tricomas (Figura 3).

Quanto ao tempo gasto na alimentação, as larvas de *M. elatior* se alimentaram significativamente mais que as larvas de *G. spadicea* em todas as plantas exceto em *S. sisymbriifolium*, em todos os instares avaliados. Para *G. spadicea*, o tempo se alimentando em *S. sisymbriifolium* foi maior que nas demais plantas e, para *M. elatior*, não houve diferença entre as plantas (Figura 4).

As larvas de *G. spadicea* caminharam mais tempo que *M. elatior* em todas as plantas avaliadas, exceto sobre *S. sisymbriifolium*. Em *S. aculeatissimum* e *S. sisymbriifolium*, as larvas de *G. spadicea* passaram menos tempo caminhando do que nas outras plantas. *M. elatior* passou mais tempo caminhando em *S. melongena* do que nas demais plantas, principalmente no primeiro e quinto instares (Figura 5).

No primeiro e quinto instares, não houve diferença quanto ao tempo empregado na prova do alimento nas diferentes hospedeiras nem para *M. elatior* nem para *G. spadicea*. No entanto, *G. spadicea* gastou mais tempo provando em *S. sisymbriifolium* do que *M. elatior* em todos os instares e no terceiro instar, provou menos tempo que *M. elatior* em *S. melongena* (Figura 6).

O número de refeições foi maior para *M. elatior* do que *G. spadicea* em todas as plantas, exceto *S. sisymbriifolium*, quando foi menor. O tempo de duração de cada refeição foi maior para *M. elatior* em todas as plantas e o intervalo somente foi menor em *S. sisymbriifolium* para *G. spadicea* (Tabela 2).

As plantas que resultaram em maior número de refeições foram *S. sisymbriifolium* para *G. spadicea* e, *S. viarum* e *S. melongena*, para *M. elatior*. Não houve diferença na duração das refeições entre as plantas para *M. elatior*, para a qual os intervalos foram maiores em *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum* e *S. sisymbriifolium*. Para *G. spadicea*, a duração foi significativamente maior e os intervalos menores em *S. sisymbriifolium* (Tabela 2).

Para *G. spadicea*, ao longo da ontogênese, o tempo repousando diminuiu quando sobre folhas de *S. aculeatissimum*, *S. viarum* e *S. sisymbriifolium*. O tempo se alimentando aumentou em *S. atropurpureum* e *S. aculeatissimum*. E o tempo removendo tricomas aumentou em *S. melongena* e *S. aculeatissimum*. O tempo caminhando aumentou em *S. aculeatissimum* e o tempo provando aumentou somente em *S. viarum* (Tabela 3).

Ao longo da ontogênese de *M. elatior*, o tempo repousando diminuiu e o tempo se alimentando aumentou em todas as plantas observadas, exceto em *S. melongena*. Não houve alteração no tempo removendo tricomas para as larvas observadas em *S. atropurpureum* e o tempo caminhando diminuiu nessa planta. Nas demais espécies, o tempo removendo tricomas aumentou e o tempo caminhando se manteve o mesmo (Tabela 4).

**Tabela 2.** Uso temporal (média  $\pm$  erro padrão) no número, duração e intervalo das refeições realizadas pelas larvas de *Gratiana spadicea* e *Metriona elatior* durante 6 horas de observação em cinco espécies de *Solanum*. Letras diferentes significam diferenças entre as plantas em cada espécie de Cassidinae (teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn) e os valores com asterisco representam diferença entre as espécies de Cassidinae em cada planta (teste de Mann-Whitney *U*); alfa = 0,05.

Herbívoro	Planta	Refeições		
		Número(n)	Duração(min)	Intervalo(min)
<i>G. spadicea</i>	<i>S. aculeatissimum</i>	1,54 $\pm$ 0,22 a	5,48 $\pm$ 0,58 a	87,89 $\pm$ 11,02 a
	<i>S. atropurpureum</i>	0,92 $\pm$ 0,14 a	7,60 $\pm$ 0,84 a	94,21 $\pm$ 12,12 a
	<i>S. melongena</i>	0,29 $\pm$ 0,09 b	4,70 $\pm$ 0,56 a	87,50 $\pm$ 19,43 a
	<i>S. viarum</i>	0,84 $\pm$ 0,15 b	7,94 $\pm$ 1,08 a	105,40 $\pm$ 23,59 a
	<i>S. sisymbriifolium</i>	2,92 $\pm$ 0,18 c	11,26 $\pm$ 0,50 b	53,72 $\pm$ 4,53 b
<i>M. elatior</i>	<i>S. aculeatissimum</i>	2,64 $\pm$ 0,20 a*	14,97 $\pm$ 1,43 a*	98,72 $\pm$ 9,46 ab
	<i>S. atropurpureum</i>	2,29 $\pm$ 0,15 a*	12,79 $\pm$ 1,06 a*	120,90 $\pm$ 11,03 a
	<i>S. melongena</i>	3,29 $\pm$ 0,40 ab*	9,70 $\pm$ 0,74 a*	71,98 $\pm$ 8,36 b
	<i>S. viarum</i>	3,71 $\pm$ 0,26 b*	12,62 $\pm$ 1,03 a*	79,60 $\pm$ 9,25 b
	<i>S. sisymbriifolium</i>	2,76 $\pm$ 0,22 ab*	10,98 $\pm$ 0,83 a*	90,74 $\pm$ 13,41 ab*

**Tabela 3.** Regressões do tempo destinado a cada atividade das larvas de *Gratiana spadicea* em cinco espécies de *Solanum*, em relação ao I, III e V instares larvais. Valores em negrito identificam significância estatística; alfa = 0,05.

Planta	Atividade	Equação	r <sup>2</sup>	F	P
<i>S. aculeatissimum</i>	Repousando	y=-0,042x+2,540	0,168	7,68	<b>0,0086</b>
	Removendo	y=0,162x+0,492	0,333	7,47	<b>0,0154</b>
	Alimentando	y=0,102x+0,648	0,230	8,68	<b>0,0063</b>
	Caminhando	y=0,184x+0,976	0,280	12,43	<b>0,0013</b>
	Provando	y=0,053x+0,870	0,076	1,97	0,1736
<i>S. atropurpureum</i>	Repousando	y=0,029x+2,161	0,018	1,02	0,3165
	Removendo				
	Alimentando	y=0,125x+0,574	0,364	18,33	<b>0,0002</b>
	Caminhando	y=-0,048x+2,051	0,019	1,046	0,3110
	Provando	y=0,035x+0,860	0,017	0,65	0,4262
<i>S. melongena</i>	Repousando	y=0,027x+1,921	0,014	0,60	0,4429
	Removendo	y=0,099x+0,707	0,206	5,44	<b>0,0298</b>
	Alimentando	y=0,001x+0,759	0,000	0,003	0,9562
	Caminhando	y=-0,049x+2,342	0,037	1,71	0,1982
	Provando	y=0,052x+0,790	0,044	1,46	0,2360
<i>S. viarum</i>	Repousando	y=-0,078x+2,383	0,116	7,47	<b>0,0084</b>
	Removendo	y=0,103x+0,637	0,122	4,04	0,0537
	Alimentando	y=0,071x+0,845	0,079	2,15	0,1554
	Caminhando	y=0,056x+1,876	0,031	1,76	0,1902
	Provando	y=0,099x+0,748	0,166	8,58	<b>0,0054</b>
<i>S. sisymbriifolium</i>	Repousando	y=-0,019x+2,487	0,256	19,99	<b>&lt;0,0001</b>
	Removendo	y=0,086x+1,154	0,216	15,97	<b>0,0002</b>
	Alimentando	y=0,025x+1,364	0,028	1,73	0,1936
	Caminhando	y=0,069x+0,762	0,088	5,01	<b>0,0294</b>
	Provando	y=0,037x+0,977	0,051	2,86	0,0966

**Tabela 4.** Regressões do tempo destinada a cada atividade das larvas de *Mettriona elatior* em cinco espécies de *Solanum*, em relação ao I, III e V ínstares larvais. Valores em negrito identificam significância estatística; alfa = 0,05.

Planta	Atividade	Equação	r <sup>2</sup>	F	P
<i>S. aculeatissimum</i>	Repousando	y=-0,026x+2,555	0,310	22,91	<b>&lt;0,0001</b>
	Removendo	y=0,161x+0,380	0,208	9,71	<b>&lt;0,0001</b>
	Alimentando	y=0,178x+0,845	0,564	64,66	<b>&lt;0,0001</b>
	Caminhando	y=0,046x+0,563	0,031	0,89	0,3520
	Provando	y=0,014x+0,053	0,002	0,07	0,7917
<i>S. atropurpureum</i>	Repousando	y=-0,013x+2,533	0,287	22,90	<b>&lt;0,0001</b>
	Removendo	y=0,058x+0,706	0,049	0,16	0,7183
	Alimentando	y=0,175x+0,832	0,504	56,93	<b>&lt;0,0001</b>
	Caminhando	y=-0,096x+1,238	0,112	4,94	<b>0,0321</b>
	Provando	y=-0,012x+0,732	0,003	0,09	0,7721
<i>S. melongena</i>	Repousando	y=-0,004x+2,313	0,000	0,02	0,8918
	Removendo	y=0,147x+0,934	0,378	22,56	<b>&lt;0,0001</b>
	Alimentando	y=0,131x+0,963	0,313	16,83	<b>0,0002</b>
	Caminhando	y=-0,039x+1,570	0,016	0,64	0,4282
	Provando	y=-0,041x+1,058	0,029	0,92	0,3439
<i>S. viarum</i>	Repousando	y=-0,035x+2,557	0,461	42,81	<b>&lt;0,0001</b>
	Removendo	y=0,175x+0,584	0,369	21,09	<b>&lt;0,0001</b>
	Alimentando	y=0,154x+1,053	0,626	83,76	<b>&lt;0,0001</b>
	Caminhando	y=-0,005x+0,719	0,000	0,29	0,8662
	Provando	y=-0,030x+0,905	0,020	0,59	0,4505
<i>S. sisymbriifolium</i>	Repousando	y=-0,023x+2,525	0,172	9,33	<b>0,0038</b>
	Removendo	y=0,105x+0,766	0,139	5,52	<b>0,0247</b>
	Alimentando	y=0,111x+1,055	0,237	13,67	<b>0,0006</b>
	Caminhando	y=0,050x+0,952	0,024	0,69	0,4141
	Provando	y=0,052x+0,735	0,029	0,75	0,3942



#### 2.4. Discussão

Os resultados mostraram claramente que os diferentes graus de especialização de *G. spadicea* e *M. elatior* têm pronunciada influência no comportamento das larvas, quando em diferentes plantas hospedeiras. As plantas hospedeiras utilizadas contribuíram para diferenças no emprego do tempo em diferentes atividades das larvas. *M. elatior* apresentou relativa plasticidade comportamental nas espécies de *Solanum* testadas. Entretanto, as larvas de *G. spadicea* apresentaram respostas comportamentais divergentes quando sobre outras plantas que não são sua hospedeira usual.

Os insetos herbívoros considerados especialistas tendem a apresentar um comportamento restrito e influenciado por características de sua planta hospedeira (MEDEIROS & MOREIRA 2002, BERNAYS *et al.* 2004a). Isto foi observado no presente estudo para as larvas de *G. spadicea* que apresentaram poucos eventos de alimentação nas demais espécies de *Solanum* em relação ao observado para *S. sisymbriifolium*. Tal fato está relacionado à monofagia desta espécie e seus baixos índices de sobrevivência e consumo foliar, em outras plantas (MEDEIROS & MOREIRA 2008). Avaliamos essa resposta como não adaptativa a qualquer outra hospedeira alternativa, dentre as que lhe foram oferecidas, associadas a variações no tempo dispendido. Em *S. sisymbriifolium*, as larvas caminharam por menos tempo do que nas demais plantas, o que deve estar relacionado ao fato de estarem já na sua fonte de alimento e não ter necessidade de buscar novos sítios de alimentação.

Os tipos de tricomas encontrados por nós são os mesmos noticiados por MENTZ *et al.* (2000) e a densidade de tricomas apresentou bastante variação

entre as plantas desde superfícies densamente pilosas (*S. melongena* e *S. viarum*) a folhas praticamente glabras (*S. atropurpureum*). Para *M. elatior*, as larvas gastaram o mesmo tempo removendo tricomas em todas as plantas exceto *S. atropurpureum*, o que está relacionado à baixa densidade destas estruturas na superfície foliar, visto que a ausência de barreiras físicas pode aumentar a probabilidade da alimentação imediata (SHELOMI *et al.* 2010), sem interferir no tempo de alimentação, mas aumentando o tempo disponível para o repouso. Em contrapartida, sobre *S. melongena* foi observado um aumento no tempo removendo tricomas e um decréscimo em repouso. Padrão similar pode ser observado em *S. viarum* e *S. sisymbriifolium*. Sendo assim, podemos inferir que o tempo a mais gasto na remoção dos tricomas pode ser compensado diminuindo o tempo em repouso, mas não por um maior tempo se alimentando. O maior tempo removendo tricomas em *S. sisymbriifolium* também é resultante da estreita adaptação de *G. spadicea* a esta planta (MEDEIROS & MOREIRA 2002, 2005; BOLIGON *et al.* 2009), ao contrário das demais. Resta elucidar as causas para isso, se associadas aos tricomas em si, nas espécies aonde a densidade destes foi expressiva. BOLIGON (2007) observou que o maior tempo gasto na remoção de tricomas influenciou em um menor tempo de alimentação de *G. spadicea* em *S. sisymbriifolium* com diferentes densidades de tricomas. Neste caso, a compensação ocorre no aumento do tempo de alimentação, pois o tempo em repouso foi o mesmo nos dois tratamentos, o que pode ser uma adaptação deste especialista aos tricomas presentes na sua hospedeira.

O fato de *M. elatior* remover tricomas por mais tempo que *G. spadicea* pode representar uma vantagem para aquela espécie, nas demais plantas exceto *S. sisymbriifolium*. Remover eficientemente os tricomas aumenta as

chances de alimentação, apesar de representar um custo energético. Este pode ser superado pelo maior tempo de alimentação e pela diminuição no tempo destinado a caminhada, ambos detectados neste estudo.

As larvas de *G. spadicea* caminharam mais que *M. elatior* quando em outras plantas, o que provavelmente está relacionado à busca por um melhor sítio de alimentação, visto que estão sobre folhas que não lhes são atrativas (BERNAYS 1998). Ainda, *M. elatior* repousou mais tempo que *G. spadicea* nas demais plantas, exceto em *S. aculeatissimum* e *S. sisymbriifolium*, corroborando o encontrado por BERNAYS *et al.* (2004b) que especialistas quando sobre a sua hospedeira repousam mais tempo em comparação aos generalistas.

O tempo provando foi bastante variável entre as plantas nas duas espécies de Cassidinae, destacando-se que sobre *S. sisymbriifolium*, *G. spadicea* provou mais tempo que *M. elatior*. Isto indica que mesmo sendo monófaga e estando sobre a sua hospedeira, esta espécie entra em contato com a hospedeira sem aparente ingestão, provavelmente em busca do local apropriado para remoção de tricomas e posterior ingestão mesófilo.

Ainda comparando *M. elatior* e *G. spadicea* em *S. sisymbriifolium*, a duração das refeições de *G. spadicea* foi maior e o tempo para processar o alimento é menor que *M. elatior*, apesar de ambos apresentarem o mesmo número de refeições sobre esta planta, o que pode conferir vantagem para *G. spadicea*. A alimentação de curta duração (e.g., menos que uma hora se alimentando separada por cerca de 30 minutos a 2 horas de repouso) provavelmente reflete o tempo necessário para digerir e absorver uma porção supostamente ótima do alimento ingerido (SLANSKY 1993).

O consumo de alimento pode mudar com a idade dentro e entre os ínstaes, provavelmente refletindo mudanças fisiológicas durante o desenvolvimento (BROWNE 1995). Para *G. spadicea*, pode-se observar um aumento no tempo empreendido na remoção de tricomas quando sobre *S. aculeatissimum* e *S. melongena*, além do já registrado para *S. sisymbriifolium* (BOLIGON 2007). Isto indica que o aumento de tamanho possibilita uma remoção mais representativa destas estruturas. O tempo dedicado à alimentação aumenta em *S. atropurpureum* e *S. aculeatissimum*, indicando que em ínstaes maiores, as larvas podem adquirir a habilidade em se alimentar mais nessas hospedeiras, contrapondo o encontrado para *S. sisymbriifolium*, onde o tempo de alimentação permaneceu o mesmo (BOLIGON 2007), o que foi justificado pela provável ingestão de maiores pedaços/fragmentos do alimento (SLANSKY 1993, HOCHULI 2001).

As larvas de *M. elatior* repousaram menos tempo ao longo da ontogênese, exceto sobre *S. melongena*, provavelmente devido a altíssima quantidade de tricomas a serem removidos previamente à alimentação nesta planta. Apesar de o tempo na remoção de tricomas ter aumentado em todas as plantas, exceto para *S. atropurpureum* (baixa densidade de tricomas), houve um maior comprometimento, desde o primeiro instar, do tempo nessa atividade quando sobre *S. melongena*, o que pode ter afetado características básicas do desenvolvimento, conforme será discutido no Capítulo II.

Houve aumento do tempo empregado pelas larvas de *M. elatior* na alimentação em todas as plantas observadas, o que pode ser esperado para um herbívoro que apresenta menor especificidade alimentar e provavelmente menor eficiência no processamento do alimento (BERNAYS *et al.* 2004b),

relacionado então com a necessidade de maior tempo para ingestão do tecido foliar, consumindo maior quantidade de tecido foliar ao longo da ontogênese para sustentar o crescimento do inseto (BROWNE 1995).

De uma maneira geral, há uma prevalência da especialização de herbívoros como uma estratégia ecológica-evolutiva principalmente no que se refere a questões de eficiência, na escolha da hospedeira em ambiente natural (EGAN & FUNK 2006, WEE & SINGER 2007). Tal eficiência seria associada a um maior valor adaptativo sobre generalistas que, por sua vez, promovem a evolução da especialização ecológica através da seleção natural (BERNAYS & GRAHAM 1988, BERNAYS 2001).

Um determinado herbívoro pode evoluir a fim de se alimentar em novas plantas (BERNAYS 1998) e *M. elatior* apresentou características que demonstram plasticidade no comportamento alimentar. Assim, poderá se alimentar de outras espécies de *Solanum* que variam bastante em características físicas, o que pode representar estratégia exitosa no que tange a maximizar a eficiência de forrageio. Em contrapartida, a monofagia de *G. spadicea* também reflete no emprego do tempo nas demais plantas que foi testada, principalmente em relação ao maior tempo caminhando e menor tempo repousando e se alimentando, em comparação a *M. elatior*.

Ser especialista mostrou-se vantajoso em relação a *G. spadicea* quanto ao tempo de ingestão e processamento do alimento (intervalo entre as refeições) quando na sua planta hospedeira, comparado à menor especificidade de *M. elatior* na mesma planta. Entretanto, as larvas de *M. elatior* apresentaram-se mais plásticas e não restritivas quanto às demais plantas hospedeiras resultando padrões de utilização similares, variando

supostamente de acordo com restrições alimentares impostos pela superfície foliar e mesófilo, o que resta a ser elucidado.

## 2.5. Referências

- BERNAYS, E.A. 1998. Evolution of feeding behavior in insect herbivores. **BioScience** **48** (1): 35-44.
- BERNAYS, E.A. 2001. Neural limitations in phytophagous insects: implications for diet breadth and evolution of host affiliation. **Annual Review of Entomology** **46**: 703-727.
- BERNAYS, E.A. & M. GRAHAM. 1988. On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. **Ecology** **69** (4): 886-892.
- BERNAYS, E.A.; M.S. SINGER & D. RODRIGUES. 2004a. Trenching behavior by caterpillars of the *Euphorbia* specialist, *Pygarctia roseicapitis*: a field study. **Journal of Insect Behavior** **17** (1): 41-52.
- BERNAYS, E.A.; M.S. SINGER & D. RODRIGUES. 2004b. Foraging in nature: foraging efficiency and attentiveness in caterpillars with different diet breadths. **Ecological Entomology** **29** (4): 389-397.
- BOLIGON, D.S. 2007. **Variação nos tricomas de *Solanum sisymbriifolium* (Solanaceae) e herbivoria por larvas de *Gratiana spadicea* (Coleoptera, Chrysomelidae)**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- BOLIGON, D.S.; L. MEDEIROS; R.M.S. ISAIAS & G.R.P. MOREIRA. 2009. Constraints on larval feeding morphology and selective removal of host-plant trichomes by a monophagous Cassidinae beetle , p. 15-30. *In*: P. Jolivet, J. Santiago-Blay & M. Schmitt (Eds.). **Research on Chrysomelidae**, vol. 2. Leiden, Koninklijke Brill, 299p.
- BROWNE, L.B. 1995. Ontogenetic changes in feeding behavior, p. 307-342. *In*: R.F. Chapman & G. de Boer (Eds.). **Regulatory mechanisms in insect**

- feeding**. New York, Chapman & Hall, 398p.
- EGAN, S. P.& D.J. FUNK. 2006. Individual advantages to ecological specialization: insights on cognitive constraints from three conspecific taxa. **Proceedings of The Royal Society B 273**: 843-848.
- ELPINO-CAMPOS, A. 2011. Feeding behavior of *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae) larvae on passion vines. **Acta ethologica**. DOI: 10.1007/s10211-011-0115-8.
- FARRELL, B.D. & C. MITTER. 1994. Adaptive radiations in insects and plants: Time and opportunity. **American Zoologist 34**:57-69.
- FUTUYMA, D.J. 2000. Some current approaches to the evolution of plant-herbivore interactions. **Plant Species Biology 15**: 1-9.
- HILL, M.P. & P.E. HULLEY.1996. Suitability of *Metriona elatior* (Klug) (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) as a biological control agent for *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae). **African Entomology 4**, 117-123.
- HOCHULI, D. 1996. The ecology of plant/insect interactions: implications of digestive strategy for feeding by phytophagous insects. **Oikos 75**(1): 133-141.
- HOCHULI, D. 2001. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behavior, morphology and host use? **Austral Ecology 26**: 563-570.
- HSIAO, T.H. 1986. Specificity of certain chrysomelid beetles for Solanaceae, p. 346-363. *In*: W.G. Dàrcy (Ed.). **Solanaceae: biology and systematics**. New York, Columbia University Press. 603p.
- JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, London: MacGraw-Hill Book Co., 523p.
- JOLIVET, J. 1988. Food habitats and food selection of Chrysomelidae. Bionomic and evolutionary perspectives, p. 1-24. *In*: P. Jolivet, J.A. Santiago-Blay & T. Hsiao (Eds.). **Biology of Chrysomelidae**. Dordrecht, Kluwer Academic

Publishers, 608p.

- LIMA, A.M.A.; G.A. DA SILVA; C.R. GONÇALVES; D.M. GALVÃO; A.J.L. GONÇALVES; J. GOMES; M. DO N. SILVA; L. DE SIMONI. 1968. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores** t. 1, pt. 2. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Departamento de Defesa e Inspeção Agropecuária, 906p.
- LIT, M.C. & E.N. BERNARDO. 1990. Mechanism of resistance of eggplant (*Solanum melongena* Linn.) to the cotton leafhopper, *Amrasca bicuttula* (Ishida) II. Morphological and biochemical factors associated with resistance. **Philippine Journal of Crop Science** 15(2): 79-84.
- MEDAL, J.C.; R.A. PITELLI; A. SANTANA; D. GANDOLFO; R. GRAVENA & D.H. HABECK. 1999. Host specificity of *Metriona elatior*, a potential biological control agent of tropical soda apple, *Solanum viarum*, in the USA. **BioControl** 44, 421-436.
- MEDEIROS, L.; D.N. FERRO & A. MAFRA-NETO. 1996. Association of chrysomelid beetles with solanaceous plants in the south of Brazil, p. 339-363. *In*: P.H.A. Jolivet & M.L. Cox (Eds.). **Chrysomelidae biology**, vol. 2. Dordrecht, SPB Academic Publishing, 462p.
- MEDEIROS, L.; D.S. BOLIGON & G.R.P. MOREIRA. 2004. Morphological and behavioral adaptations to movement on different leaf surfaces: Studies with Cassidinae larvae, p. 291-303. *In*: P. Jolivet, J.A. Santiago-Blay & M. Schmitt (Eds.). **New developments in the biology of Chrysomelidae**. Dordrecht, SPB Academic Publishing, 804p.
- MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA. 2002. Moving on hairy surfaces: modifications of *Gratiana spadicea* larval legs to attach on its host plant *Solanum sisymbriifolium*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 102 (3): 295-305.
- MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA. 2003. Leaf selection and daily variation on feeding and oviposition of *Gratiana spadicea* (Klug) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae). **Revista Brasileira de Zoociências** 5 (2): 153-



160.

- MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA. 2005. Larval feeding behavior of *Gratianaspadicea* (Klug) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae) on its host plant, *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae): interaction with trichomes. **The Coleopterist's Bulletin** **59** (2): 339-350.
- MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA. 2008. Performance of *Gratiana spadicea* (Cassidinae) on five sympatric hosts and non-host plants in south Brazil. p. 210-224. *In*: P. Jolivet, J.A. Santiago-Blay & M. Schmitt (Eds.). **Research on Chrysomelidae**. Brill SPB Academic Publishing, Leiden, 432p.
- MENTZ, L.A., P.L. OLIVEIRA & M.V. SILVA. 2000. Tipologia dos tricomas das espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae) na Região Sul do Brasil. **Iheringia, Série Botânica** **54**: 75-106.
- MOTULSKY, H.M. & A. CHRISTOPOULOS. 2003. **Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting**. San Diego, GraphPad Software Inc, 351p.
- SHELOMI, M.; L.E. PERKINS; B.W. CRIBB & M.P. ZALUCKI. 2010. Effects of leaf surfaces on first-instar *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) behavior. **Australian Journal of Entomology** **49**: 289-295.
- SLANSKY, F.Jr. 1993. Nutritional ecology: the fundamental quest for nutrients. *In*: N.E. Stamp & T. Casey (Eds.). **Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging**. New York, Chapman & Hall, 587p.
- WEE, B. & M.C. SINGER. 2007. Variation among individual butterflies along a generalist-specialist axis: no support for the "neural constraint" hypothesis. **Ecological Entomology** **32**: 257-261.

**3. Capítulo II: Performance e preferência alimentar de larvas de *Metrioria elatior* (Coleoptera, Chrysomelidae) em hospedeiras do gênero *Solanum* (Solanaceae).**

A ser submetido para Environmental Entomology

**Resumo.** Larvas e adultos de *Metrioria elatior* (Klug, 1829) (Coleoptera: Chrysomelidae) são consideradas oligófagas por se alimentarem em algumas espécies de *Solanum* Linnaeus. Sabe-se que essas plantas apresentam particularidades que interferem no comportamento das larvas e determinam variações fenotípicas na forma e tamanho dos adultos. Usualmente em tais situações, há conseqüências para a performance que pode estar ou não associada à preferência alimentar. Diante disso, neste estudo, a performance de *M. elatior* em seis plantas do gênero *Solanum* foi verificada, bem como a preferência alimentar das larvas e preferência de oviposição. A maior performance foi detectada para *Solanum aculeatissimum* Jacquin, *Solanum atropurpureum* Shrank e *Solanum viarum* Dunal em relação a *Solanum melongena* Linnaeus, *Solanum guaraniticum* Hassl e *Solanum sisymbriifolium* Lamarck. Em testes sem chance de escolha, as larvas de primeiro e quinto instares consumiram menor área foliar em *S. guaraniticum* em comparação as demais plantas. Nos testes de escolha múltipla, não houve escolha pelas larvas de primeiro instar, entretanto, quando criadas sobre folhas de *S. aculeatissimum* e *S. atropurpureum*, as larvas de quinto instar consumiram maior área foliar destas plantas em relação às demais. As fêmeas ovipositaram maior porcentagem de ovos em *S. atropurpureum* que é uma das plantas que

garante maior performance e consumo foliar. Os resultados apresentados indicaram que os fatores que atuam interferindo na performance de *M. elatior* em diferentes espécies de *Solanum*, também atuam regulando a preferência, exceto para *S. viarum* que garante alta performance, mas baixa preferência pelas larvas e pelas fêmeas, juntamente com as demais plantas.

**Palavras-chave.** Oligófago, sobrevivência, escolha, larvas, adultos.

### 3.1. Introdução

A performance de insetos herbívoros é uma questão central para estudos de interações entre insetos e plantas (THOMPSON 1988c, CRAIG & ITAMI 2008). Fatores ambientais (THOMPSON 1988a), tipo de dieta (RODRIGUES *et al.* 2007) e fatores relacionados a características físicas (HADDAD & HICKS 2000) e químicas (BERNAYS & GRAHAM 1988) das plantas estão relacionados à sobrevivência e/ou tamanho, indicadores de maior ou menor performance numa dada hospedeira.

A variedade de plantas hospedeiras pode ser limitada por fatores morfológicos, fisiológicos e ecológicos dessa interação, e a escolha por parte do herbívoro leva em conta a sua especificidade e preferência. Ainda, a preferência alimentar por larvas e a escolha de oviposição pelos adultos sofrem pressões seletivas distintas, entretanto, espera-se que tenham correlação positiva com a performance devido as implicações desta relação para interações ecológicas e evolutivas (THOMPSON 1988b, SCHEIRS *et al.* 2000, BRUYN *et al.* 2002, SCHEIRS & BRUYN 2002).

*Metriona elatior* (Klug 1829) (Coleoptera: Chrysomelidae) apresenta hábito alimentar oligófago, havendo registros de ocorrência (alimentação e oviposição) em algumas plantas do gênero *Solanum* Linnaeus dentre elas, *Solanum viarum* Dunal (MEDAL *et al.* 1999), *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (HILL & HULLEY 1996), *Solanum atropurpureum* Shrank, *Solanum aculeatissimum* Jacquin (LIMA *et al.* 1968) e a cultivada *Solanum melongena* Linnaeus (HILL & HULLEY 1996, MEDAL *et al.* 1999), todas elas ocorrendo em simpatria no sul do Brasil (MENTZ & OLIVEIRA 2004). HILL & HULLEY (1996) observaram que *M. elatior* desenvolve-se de forma satisfatória em *S.*

*sisymbriifolium* (75% de sobrevivência até estágio de pupa), *S. aculeatissimum* (65%) e a cultivada *S. melongena* (45%). Ainda, MEDAL *et al.* (2002) indicaram *M. elatior* como agente de controle biológico de *S. viarum*, devido ao grande dano foliar e preferência alimentar das larvas nesta planta, além do tempo de desenvolvimento (ovo – adulto) ser mais rápido nesta em relação a outras plantas (incluindo *S. melongena* e *S. sisymbriifolium*).

Diferenças comportamentais detectadas no Capítulo I para as larvas de *M. elatior* quando em diferentes plantas hospedeiras, nos levam a crer que mecanismos pré-ingestivos (barreiras localizadas na superfície foliar) atuam nesta interação. E a ocorrência em várias espécies do gênero *Solanum* com conseqüências na sobrevivência e tempo de desenvolvimento indicam que podem haver barreiras pós-ingestivas atuando durante a digestão e processamento da dieta, levando a conseqüências para os adultos (Capítulo III).

Diante da variedade de hospedeiras já citadas para *M. elatior*, selecionamos as ocorrentes no sul do Brasil e conduzimos experimentos com vistas a comparar a performance e detectar se há preferência alimentar das larvas de primeiro e quinto instar. Em adição, verificar se as fêmeas apresentam preferência por diferentes hospedeiras quanto à oviposição. Espera-se que as plantas responsáveis por maior performance sejam àquelas preferidas pelas larvas na alimentação, bem como pelas fêmeas na oviposição.

### 3.2. Material e Métodos

#### 3.2.1. Plantas

Mudas de *S. atropurpureum*, *S. sisymbriifolium* e *S. viarum* foram

coletadas nas proximidades do Departamento de Zoologia, no Campus do Vale, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Mudas de *S. aculeatissimum* foram coletadas no município de Ijuí (RS) e de *S. melongena* foram adquiridas no comércio de Porto Alegre. Apesar de não haver registro da ocorrência de *M. elatior* sobre *Solanum guaraniticum* Hassl, esta foi inserida para realização dos experimentos, visto que a planta ocorre em abundância e em simpatria com as demais. Mudas desta espécie também foram coletadas nas imediações do Campus do Vale. Todas as plantas utilizadas foram cultivadas em vasos contendo solo do local e foram regadas duas vezes por semana e adubadas na ocasião do plantio com adubo composto por esterco bovino. Os vasos foram mantidos em telado existente (sombrite 50%) no Campus do Vale / UFRGS.

### 3.2.2. Insetos

Adultos de *M. elatior* foram coletados nas proximidades do Campus do Vale da UFRGS, levados ao laboratório e mantidos em câmara climatizada ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ , 14 horas luz/dia). Foram mantidos em potes plásticos e alimentados *ad libitum* com ramos de *S. viarum* oriundos do cultivo. Os ramos foram substituídos três vezes por semana e vistoriados para o recolhimento das ootecas, as quais eram acondicionadas em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido.

### 3.2.3. Performance larval

Para avaliar o efeito da planta hospedeira no desenvolvimento, foram utilizadas as ootecas de *M. elatior* oriundas da criação. Após a eclosão, as larvas ( $n = 40$  / espécie de planta) foram transferidas para folhas das diferentes

espécies de solanáceas: *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum*, *S. guaraniticum*, *S. melongena*, *S. sisymbriifolium* e *S. viarum*. Os insetos juntamente com as plantas foram mantidos individualizados em potes plásticos em câmara climatizada ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ , 14 horas luz/dia). O pecíolo das folhas foi envolvido por algodão umedecido com água destilada para mantêr a turgidez das folhas.

As larvas foram observadas diariamente e o alimento foi repostado a cada dois dias. Os parâmetros observados foram o tempo de desenvolvimento e a sobrevivência, além do tamanho das pupas e adultos, medidos com o auxílio de grade micrométrica acoplada a ocular de esteromicroscópio Leica® M125. Foram medidos o comprimento entre o início do pronoto e o fim do abdomen das pupas e, o comprimento entre o início do pronoto e fim dos élitros, dos adultos.

#### 3.2.4. Testes sem chance de escolha com larvas

Para verificar a influência da planta hospedeira no consumo, as larvas de primeiro e quinto instar de *M. elatior* foram submetidas a testes sem chance de escolha ( $n = 20$  larvas / planta). Foram utilizados dois discos foliares (área =  $63,61 \text{ mm}^2$  cada) para larvas de primeiro instar, e oito discos para larvas de quinto instar. Os discos foram colocados em uma placa de petri de plástico (5,6 cm de diâmetro) forrada com papel filtro umedecido. Os insetos testados foram colocados no centro das placas, as quais foram mantidas em câmara climatizada por 24 horas. Após foi medida a área foliar consumida de cada disco, com base na sobreposição desses sobre papel milimetrado.

#### 3.2.5. Testes de múltipla escolha com larvas

Para testar se há preferência das larvas de *M. elatior* em relação às seis plantas avaliadas, foram realizados testes de múltipla escolha que consistiam em oferecer dois e oito discos foliares (para primeiro e quinto instar respectivamente) de cada uma das plantas estudadas ao mesmo tempo. Os discos de cada planta foram colocados, alternados e eqüidistantes, em uma placa de petri de plástico (5,6 cm de diâmetro) forrada com papel filtro umedecido. Os insetos testados foram colocados no centro das placas, as quais foram mantidas em câmara climatizada por 24 horas e 6 horas para primeiro e quinto instar, respectivamente. Para o quinto instar, foram testadas larvas criadas em *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum* e *S. viarum* (n = 20 / planta) para avaliar a ocorrência de indução da preferência. Estas plantas foram escolhidas com base nos resultados obtidos para performance também avaliada neste capítulo. Após, foi medida a área foliar consumida de cada disco, com base na sobreposição sobre papel milimetrado.

#### 3.2.6. Testes de oviposição com múltipla escolha

Para verificar se as fêmeas apresentaram preferência de oviposição entre as plantas estudadas, foram submetidas a testes de múltipla escolha que consistiram em oferecer simultaneamente uma folha expandida (a partir do terceiro nó) de cada uma das plantas estudadas para fêmeas oriundas da criação em *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum* e *S. viarum*, por 24 horas consecutivas. Sem distinção, as fêmeas (n = 13) foram testadas até que foi observada a presença de uma ou mais ootecas e anotada em qual planta a mesma foi encontrada.

#### 3.2.7. Análise estatística

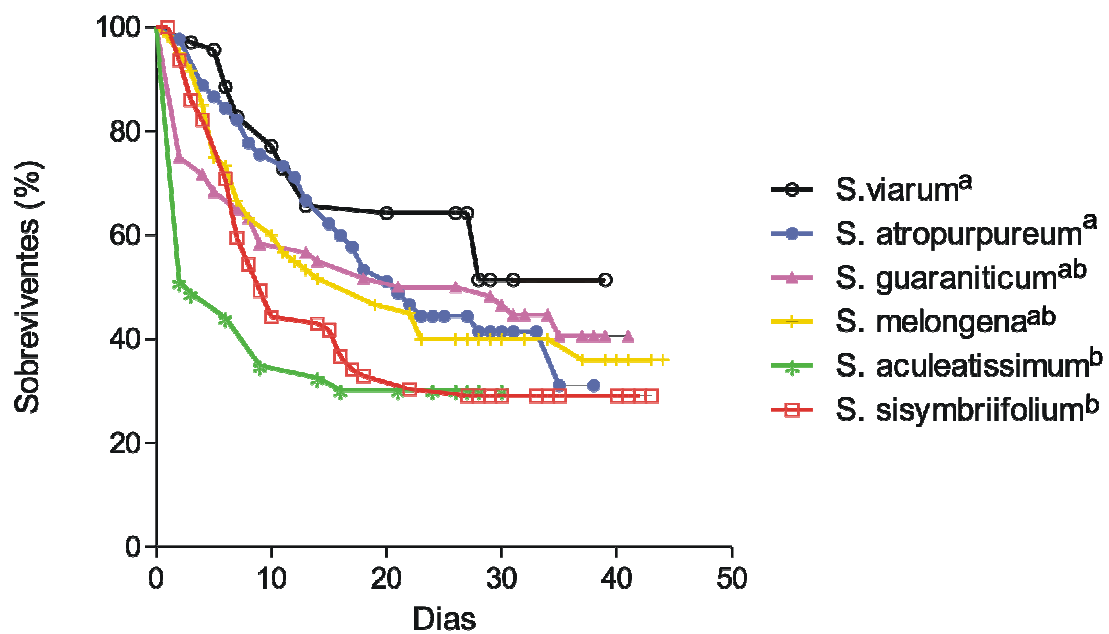


As curvas de sobrevivência das larvas em cada planta hospedeira foram comparadas através do teste de Logrank, seguido pela correção de Bonferroni (alfa = 0,003). Os dados de tempo de desenvolvimento (da eclosão até a emergência dos adultos), de tamanho e consumo foliar foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e quanto a homocedasticidade pelo teste de Bartlett. Dados que obedeceram a uma curva normal e homocedasticidade das variâncias foram comparados através de Análise de Variância, seguido do teste de comparações múltiplas de Tukey. Os dados referentes ao consumo não se ajustaram a uma distribuição normal e foram então comparados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguidos de testes múltiplos de Dunn. Para os testes de oviposição, foi realizado o teste de Qui-quadrado, seguido pela correção de Bonferroni (alfa = 0,003), para detectar diferenças quanto a frequência de oviposição das fêmeas nas espécies de *Solanum*. As análises foram realizadas no software GraphPad Prism (MOTULSKY & CHTISTOPOULOS 2003).

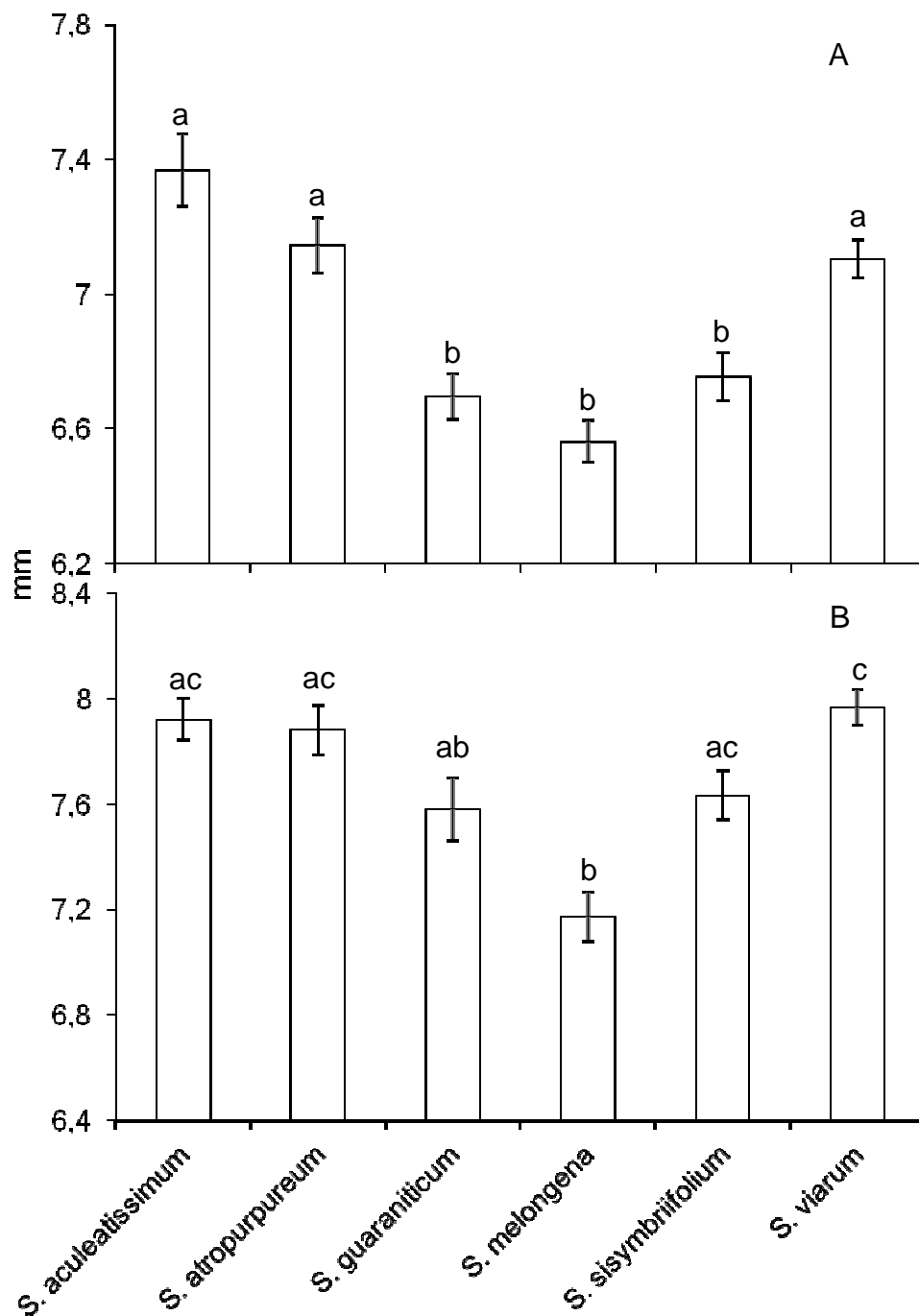
### 3.3. Resultados

A sobrevivência foi maior para as larvas mantidas em *S. viarum* e *S. atropurpureum* em relação a *S. aculeatissimum* e *S. sisymbriifolium* e em posição intermediária situaram-se as criadas em *S. guaraniticum* e *S. melongena* (Figura 1).

O tamanho das pupas foi menor para as oriundas da criação em *S. guaraniticum*, *S. melongena* e *S. sisymbriifolium* (Figura 2A). Quanto aos adultos, os oriundos de *S. guaraniticum* e *S. melongena* foram menores que os de *S. viarum*, que por sua vez foram semelhantes em tamanho aos criados em



**Figura 1.** Sobrevivência (%) de *Metriona elatior* (n = 40), da eclosão a emergência dos adultos, em seis espécies de *Solanum*. Plantas seguidas de letras iguais não diferem significativamente (teste de Logrank, com correção de Bonferroni, alfa = 0,003).



**Figura 2.** Tamanho (mm; médias  $\pm$  erro padrão) das pupas (A) e dos adultos (B) de *Metriona elatior* em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferença estatística entre as plantas (Anova, um fator,  $p < 0,0001$ ; testes múltiplos de Tukey;  $p < 0,05$  para pupas e  $p < 0,0001$  para adultos).

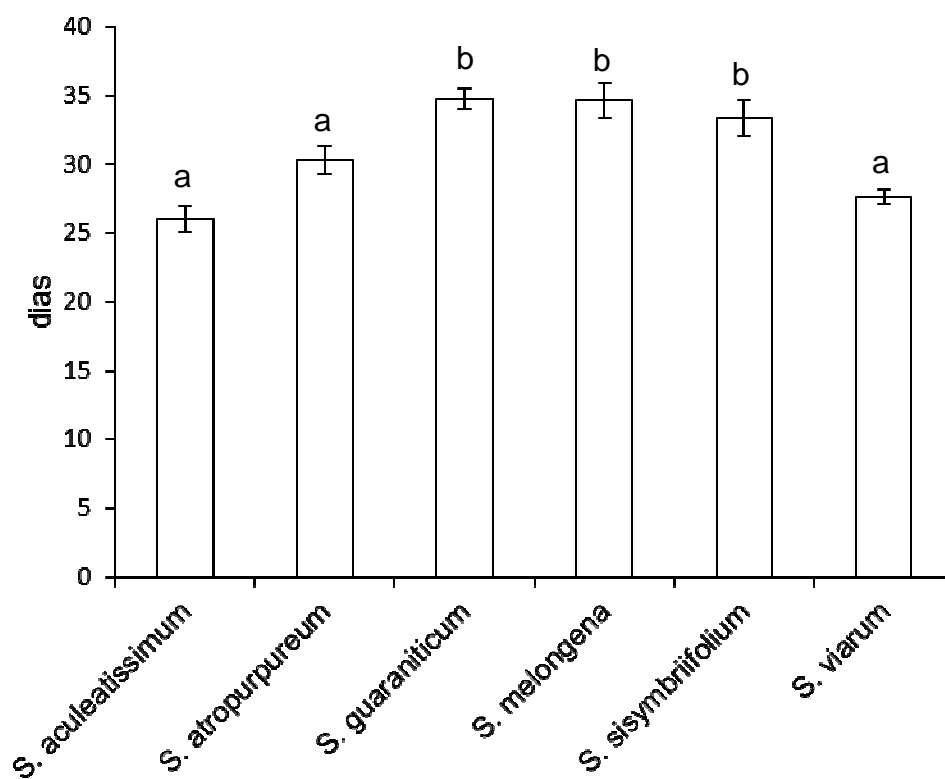
*S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum* e *S. sisymbriifolium* (Figura 2B).

O tempo de desenvolvimento foi mais longo para as larvas mantidas em *S. guaraniticum*, *S. melongena* e *S. sisymbriifolium*, em relação às larvas mantidas em *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum* e *S. viarum* (Figura 3).

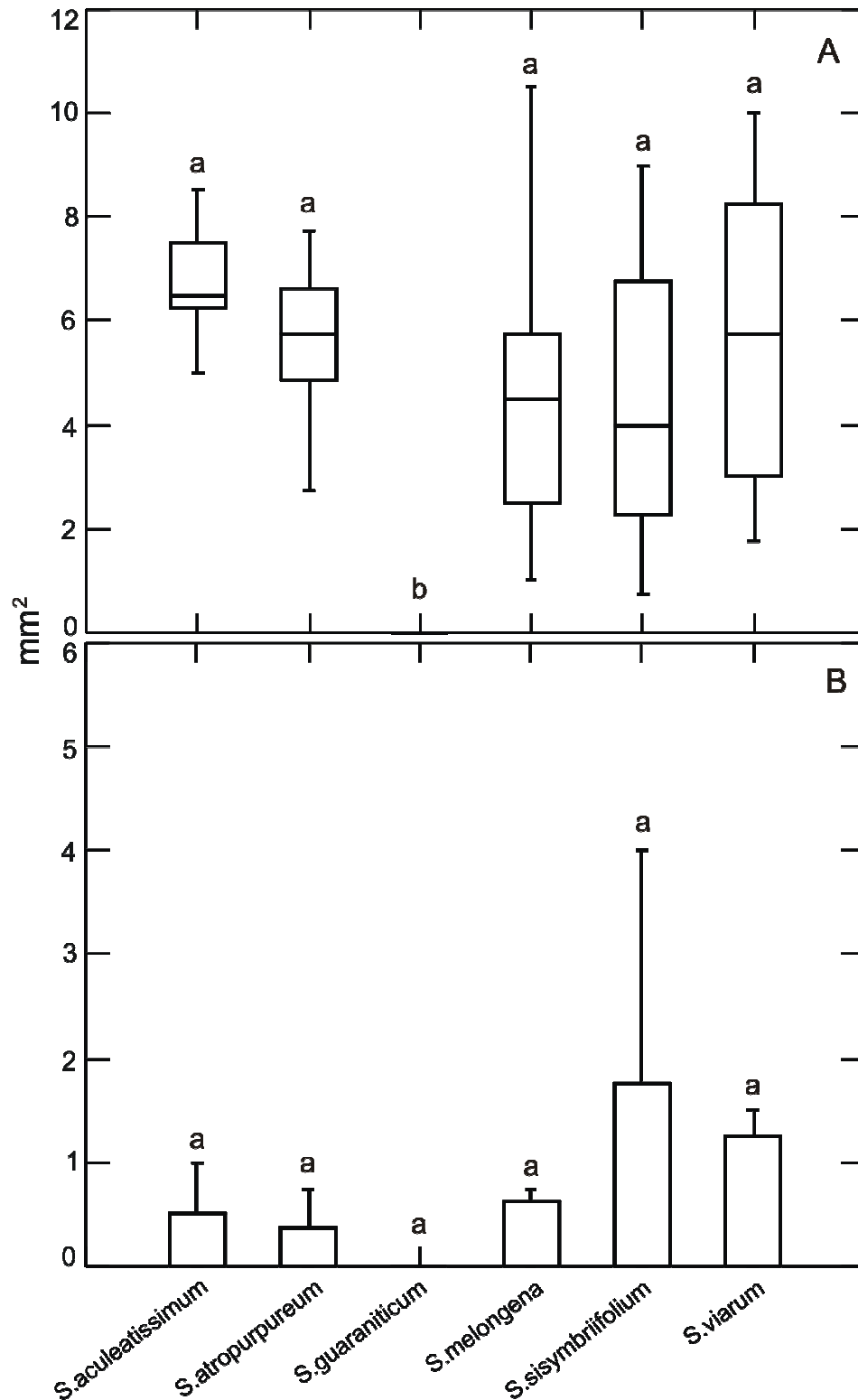
Nos testes sem chance de escolha para larvas de primeiro instar, o consumo foi significativamente menor em *S. guaraniticum* (Figura 4A). Nos testes de múltipla escolha não houve diferença significativa quanto ao consumo das larvas de primeiro instar (Figura 4B).

As larvas de quinto instar nos testes sem chance de escolha consumiram significativamente maior área foliar em *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum*, *S. melongena*, *S. sisymbriifolium* e *S. viarum* em relação a *S. guaraniticum*. Esta última não diferiu do consumo em *S. melongena* e *S. sisymbriifolium* (Figura 5).

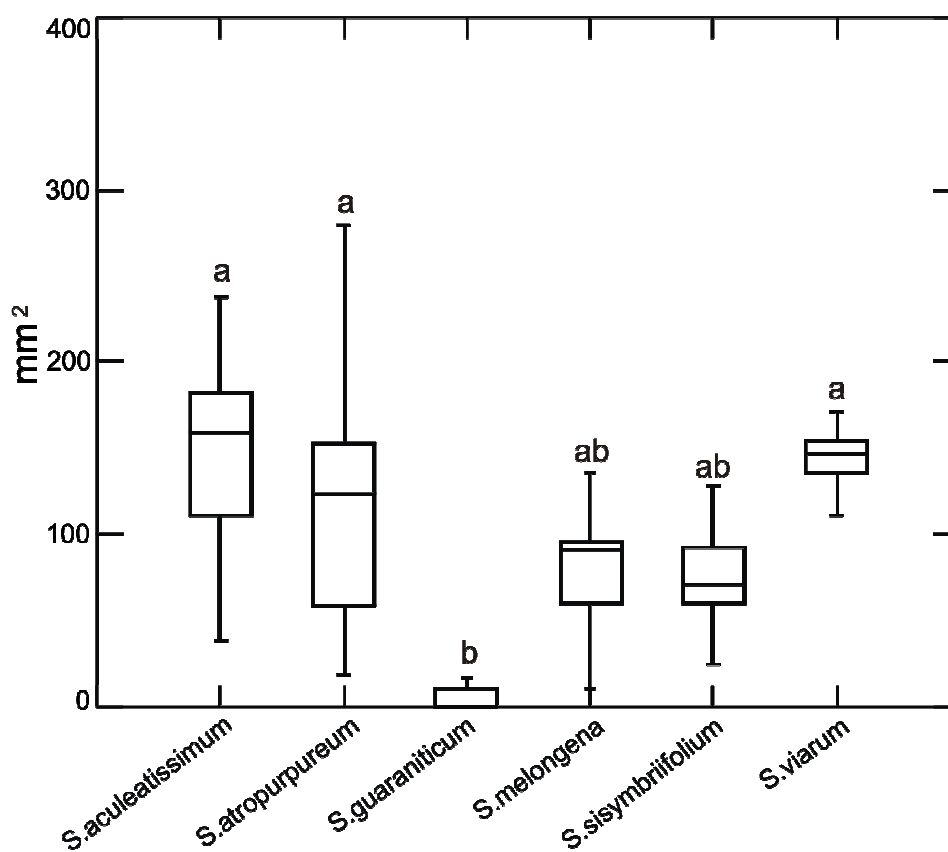
Não houve diferença entre a área foliar consumida de *S. aculeatissimum* e *S. atropurpureum* pelas larvas de quinto instar criadas em *S. aculeatissimum* e houve diferença entre *S. aculeatissimum* e as demais (Figura 6A). A área foliar consumida pelas larvas criadas em *S. atropurpureum* foi maior em *S. atropurpureum* em detrimento a *S. guaraniticum*, *S. sisymbriifolium* e *S. viarum*, e não diferiu da área consumida em *S. aculeatissimum* e *S. melongena* (Figura 6B). Quando as larvas foram criadas em *S. viarum*, o consumo foliar foi menor em *S. viarum*, *S. melongena* e *S. sisymbriifolium* em comparação a *S. aculeatissimum*, o qual não diferiu do consumo em *S. atropurpureum* e *S. guaraniticum* (Figura 6C).



**Figura 3.** Tempo de desenvolvimento (dias; média  $\pm$  erro padrão) de *Metrona elatior* em diferentes espécies de *Solanum*. Letras diferentes representam diferença estatística entre as plantas (Anova, um fator,  $p < 0,0001$ ; seguida de testes múltiplos de Tukey,  $p < 0,05$ ).



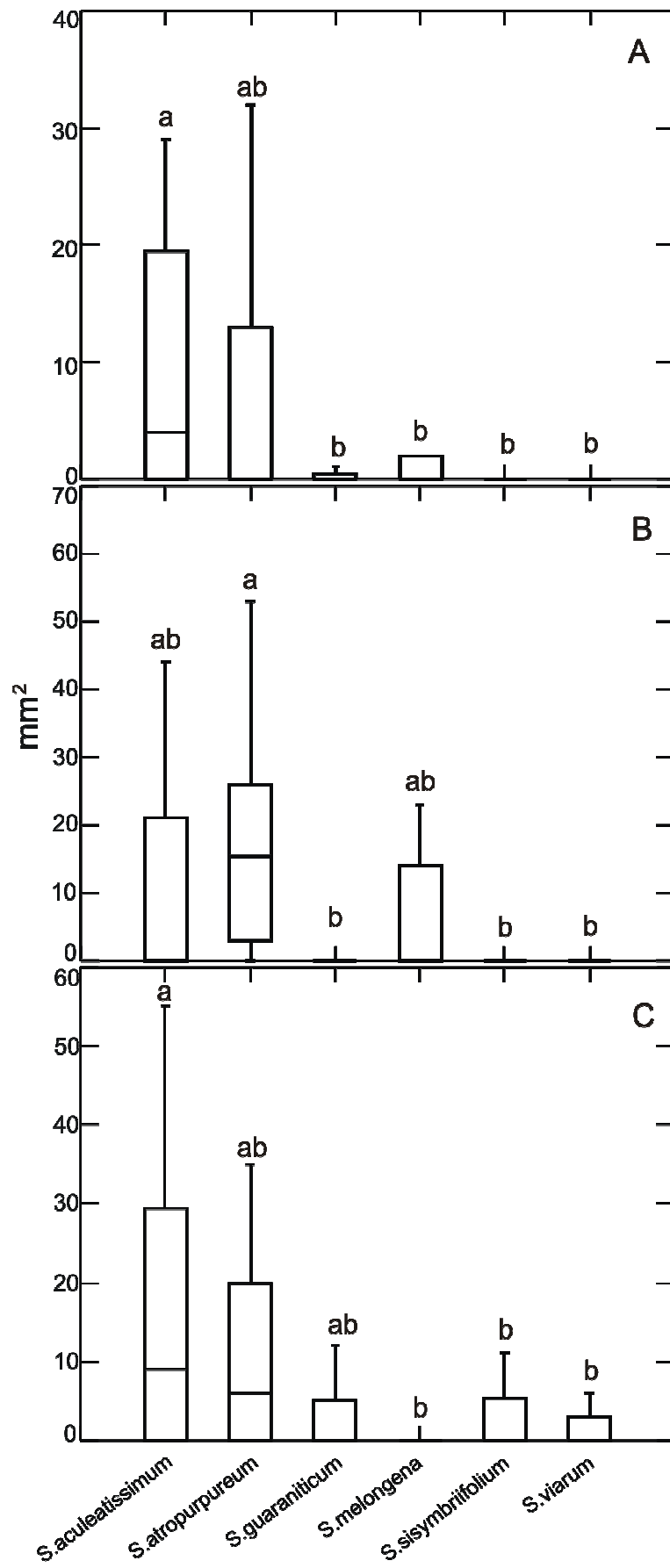
**Figura 4.** Área foliar ( $\text{mm}^2$ ; medianas e respectivos quartis) consumida pelas larvas de primeiro instar de *Metrona elatior* em seis espécies de *Solanum*, em testes sem (A) e com (B) chance de escolha (testes de Kruskal-Wallis;  $p < 0,0001$  e  $p = 0,0634$ , respectivamente; seguidos de testes múltiplos de Dunn,  $p < 0,05$ ).



**Figura 5.** Área foliar ( $\text{mm}^2$ ; medianas e respectivos quartis) consumida pelas larvas de quinto instar de *Metriona elatior* em seis espécies de *Solanum*, em testes sem chance de escolha (testes de Kruskal-Wallis,  $p < 0,0001$ ; seguido de testes múltiplos de Dunn,  $p < 0,05$ ).

**Figura 6.** Área foliar (mm<sup>2</sup>; medianas e respectivos quartis) consumida pelas larvas de quinto instar de *Metrona elatior*, mantidas em *Solanum aculeatissimum* (A), *Solanum atropurpureum* (B) e *Solanum viarum* (C), para testes com chance de escolha em seis espécies de *Solanum* (testes de Kruskal-Wallis,  $p < 0,0001$ ;  $p = 0,0001$  e  $p = 0,0003$ ; respectivamente e seguidos de testes múltiplos de Dunn,  $p < 0,05$ ).



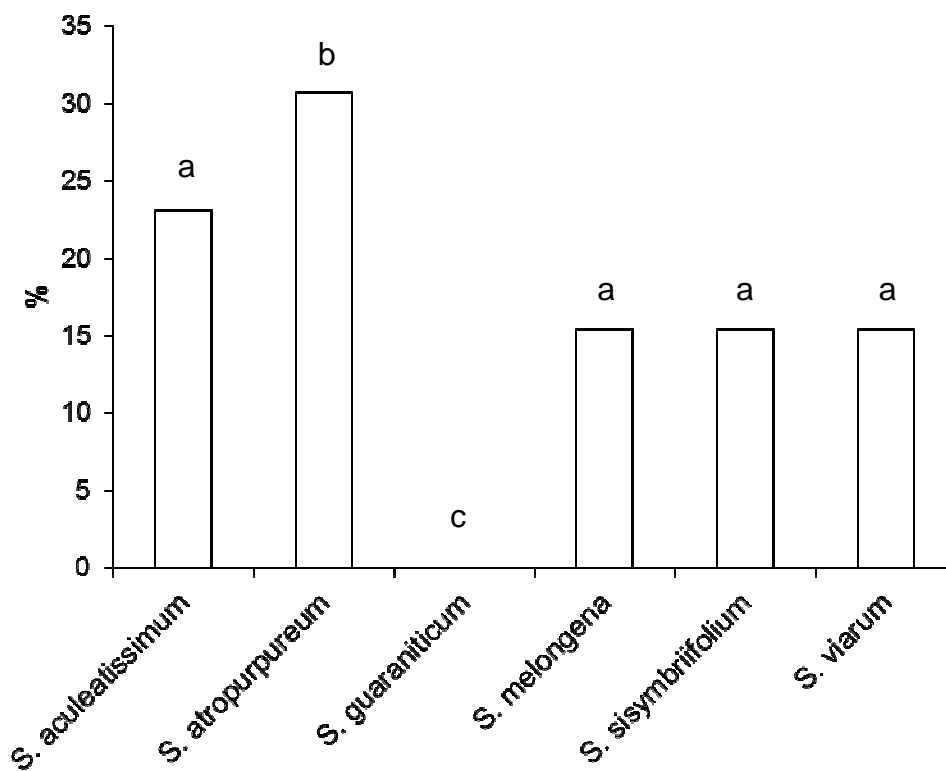


As fêmeas de *M. elatior* ovipositaram significativamente mais sobre *S. atropurpureum* em relação a *S. aculeatissimum*, *S. melongena*, *S. sisymbriifolium* e *S. viarum*, e todas diferiram de *S. guaraniticum*, na qual as fêmeas não ovipositaram (Figura 7).

### 3.4. Discussão

Os resultados indicaram que a performance de *M. elatior*, levando-se em conta o tamanho das pupas e adultos, o tempo de desenvolvimento e a sobrevivência é maior sobre plantas de *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum* e *S. viarum*. A sobrevivência, entretanto, foi menor em *S. aculeatissimum* em relação as outras duas plantas citadas. O tamanho é uma das mais importantes medidas de performance em qualquer organismo e pode ser considerada uma característica morfológica e de história de vida intimamente relacionada ao tempo de desenvolvimento e taxa de crescimento (NYLIN & GOTTHARD 1998). A mesma variação de tamanho será mostrada no Capítulo III, para os adultos obtidos nas mesmas plantas, através de análises do tamanho do centróide das asas posteriores, élitros e genitália dos machos.

Claramente há desvantagem na alimentação em *S. melongena*, *S. guaraniticum* e *S. sisymbriifolium*, a qual pode estar relacionada aos fatores pré-ingestivos abordados no Capítulo I, como a alta densidade de tricomas estrelados nestas plantas, também já relatada para *S. guaraniticum* (MEDEIROS & BOLIGON 2007), que interfere no emprego do tempo em diferentes atividades das larvas. Além disso, dentre fatores pós-ingestivos, a qualidade da planta hospedeira, em termos nutricionais, vem sendo relatada como um fator



**Figura 7.** Taxas de oviposição (%) das fêmeas de *Metriona elatior* em diferentes espécies de *Solanum* (testes de Qui-quadrado, com correção de Bonferroni, alfa = 0,003).

determinante para o desempenho de insetos herbívoros e evolução da especificidade de certos grupos (IKONEM 2002, SCHEIRS *et al.* 2003, SINGER *et al.* 2004). Ainda, cabe ressaltar, a proximidade filogenética das plantas que conferiram maior performance e a distância das mesmas àquelas que proporcionaram menor performance, que por sua vez são mais próximas entre si (LEVIN *et al.* 2006, MIZ *et al.* 2008, POCZAI *et al.* 2008).

O uso de várias plantas por um inseto pode resultar da diferença na preferência, que pode ser definida como o desvio de um comportamento ao acaso, não relacionado à variação das plantas (SINGER 2008). As larvas de primeiro instar de *M. elatior* não apresentaram preferência, pois apenas rejeitaram *S. guaraniticum*. Salientamos um consumo mais baixo nos testes de múltipla escolha, o que pode indicar que em meio a alternativas essas larvas acabam ingerindo menos tecido foliar. O primeiro instar larval é considerado o mais crítico para os insetos, tendo em vista principalmente o tamanho diminuto, que maximiza a efetividade das barreiras impostas pela planta hospedeira, muitas vezes impedindo a fixação, mobilidade e alimentação (JOHNSON & ZALUCKI 2005, CLARKE & ZALUCKI 2000, SHELOMI *et al.* 2010). A obtenção de adultos criados em *S. guaraniticum* e o fato de as larvas ingerirem pouco alimento nesta planta durante as 24 horas dos testes indicam que as larvas passam a se alimentar de fato nessa planta após este período.

Nos testes sem chance de escolha, as larvas de quinto instar não apresentaram preferência e, assim como as de primeiro instar, apresentaram um baixo consumo de *S. guaraniticum*. Um baixo consumo foliar representa um risco para as larvas de quinto instar, pois a necessidade de acumular energia para o estágio de pupa aumenta neste estágio (SLANSKY 1993, BROWNE 1995),

onde para os insetos em geral cerca de 60% do alimento consumido durante todo o estágio larval é ingerido no quinto instar (SCRIBER & SLANSKY 1981), o que é extensivo aos cassidíneos (MEDEIROS & MOREIRA 2003).

Apesar da necessidade de ingerir mais quantidade de alimento, o quinto instar também sofre influência da planta hospedeira. Os testes de múltipla escolha das larvas de quinto instar indicam não haver aprendizagem. Entretanto, a experiência anterior (do primeiro ao quarto instar) em *S. aculeatissimum* e *S. atropurpureum*, aparentemente, potencializou o consumo nestas duas plantas, o que não ocorreu para os indivíduos criados em *S. viarum*, que não apresentaram alto consumo nesta planta por ocasião dos testes de múltipla escolha. As plantas com maior consumo também foram aquelas responsáveis por maior performance, com exceção de *S. viarum*, que na ocasião de múltipla escolha teve baixo consumo. Neste caso, podemos especular que *S. viarum* não é atrativa para as larvas de *M. elatior*, o que pode estar relacionado à presença de deterrentes ou a alta densidade de tricomas simples. Entretanto, esses fatores não influenciam na performance, mas podem estar interferindo na preferência. Medidas como o tempo de desenvolvimento, tamanho e sobrevivência podem *per si* dirigir a evolução do uso da planta hospedeira (VAN NOUHUYS *et al.* 2003)

Além da performance e preferência das larvas, a escolha da planta hospedeira pelas fêmeas no ato de oviposição é crucial para o desenvolvimento de qualquer inseto herbívoro. As fêmeas de *M. elatior* apresentaram maior percentual de oviposição em uma das plantas que conferiram maior performance e maior consumo pelas larvas de quinto instar, *S. atropurpureum*. Eventualmente a escolha da fêmea pode não ser a melhor

para a sua prole (THOMPSON 1988b), como é o caso das fêmeas que ovipositaram em *S. melongena* e *S. sisymbriifolium*. Neste caso, pode estar agindo o fato de *M. elatior* ser oligófaga, e estar ocorrendo uma sobreposição de estímulos da planta hospedeira (BERNAYS & CHAPMAN 1994, SHOONHOVEN 2005) ou a performance e a preferência terem taxas evolutivas diferentes ou ainda a ausência de inimigos naturais (THOMPSON 1988b) nessas plantas, o que deve ser melhor explorado. Esses e outros fatores podem ter influenciado na escolha, que na maioria das vezes é baseada no reconhecimento de características morfológicas da planta e na concentração de substâncias químicas e nutrientes (BERNAYS & GRAHAM 1988, FERNANDEZ & HILKER 2007). Há estudos que demonstram que a preferência não visa somente a otimização da performance da prole, mas também a performance do adulto (SCHEIRS *et al.* 2000) e pode também variar de acordo com a área geográfica (FOX & MORROW. 1981), o que resta ser investigado.

Fica claro, diante dos resultados sobre a performance, consumo e preferência, o caráter oligófago de *M. elatior*. Os baixos índices de consumo foliar para *S. guaraniticum* podem justificar a falta de registros deste Cassidinae nesta planta. Entretanto, em condições de laboratório o desenvolvimento ocorre tanto nesta, quanto em outras hospedeiras preteridas (*S. melongena*, *S. sisymbriifolium*), mas com conseqüências para performance avaliadas aqui e para o fenótipo dos adultos, as quais serão abordadas no capítulo seguinte.

### 3.5. Referências

- BERNAYS, E.A. & M. GRAHAM. 1988. On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. **Ecology** **69** (4): 886-892.
- BERNAYS, E.A. & R.F. CHAPMAN. 1994. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York, Chapman & Hall, XIII+312p.
- BROWNE .1995. Ontogenetic changes in feeding behavior, p. 307-342. In: R.F. Chapman & G. de Boer (Eds.). **Regulatory mechanisms in insect feeding**. New York, Chapman & Hall, XII+398p.
- BRUYN, L.D.; J. SCHEIRS & R. VERHAGEN. 2002. Nutrient stress, host plant quality and herbivore performance of a leaf-mining fly on grass. **Oecologia** **130**(4): 594-599.
- CLARKE, A.R. & M.P. ZALUCKI. 2000. Foraging and vein-cutting behavior of *Eulpoea core corinna* (W.S. Macleay) (Lepidoptera: Nymphalidae) caterpillars feeding on latex-bearing leaves. **Australian Journal of Entomology** **39**: 283-290.
- CRAIG, T.P. & J.K. ITAMI. 2008. Evolution of preference and performance relationships, p. 20-28. In: K.J. Tilmon (Ed.). **Specialization, speciation and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects**. Los Angeles, University of California Press, XV+341p.
- FERNANDEZ, P. & M. HILKER. 2007. Host plant location by Chrysomelidae. **Basic and Applied Ecology** **8**(2): 97-116.
- FOX, L.R. & P.A. MORROW. 1981. Specialization: species property or local phenomenon? **Science** **211**(4485): 887-893.
- JOHNSON, M.L. & M.P. ZALUCKI. 2005. Foraging behavior of *Helicoverpa armigera* first instar larvae on crop plants of different developmental stages. **Journal of Applied Entomology** **129**(5): 239–245.
- HADDAD, N.M. & W.M. HICKS. 2000. Host pubescence and the behavior and performance of a butterfly, *Papilio troilus* (Lepidoptera). **Environmental**

**Entomology 29(2): 299-303.**

HILL, M.P. & P.E. HULLEY. 1996. Suitability of *Metriora elatior* (Klug) (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) as a biological control agent for *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae). **African Entomology 4(2): 117-123.**

IKONEN, A. 2002. Preferences of six leaf beetle species among qualitatively different leaf age classes of three salicaceous host species. **Chemoecology 12(1): 23-28.**

LEVIN, R.A.; N.R. MYERS & L. BOHS. 2006. Phylogenetic relationships among the "spiny solanums" (*Solanum* Subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). **American Journal of Botany 93(1): 157-169.**

LIMA, A.M.A.; G.A. DA SILVA; C.R. GONÇALVES; D.M. GALVÃO; A.J.L. GONÇALVES; J. GOMES; M. DO N. SILVA; L. DE SIMONI. 1968. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores** t. 1, pt. 2. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Departamento de Defesa e Inspeção Agropecuária, 906p.

MEDAL, J.C.; R.A. PITELLI; A. SANTANA; D. GANDOLFO; R. GRAVENA & D.H. HABECK. 1999. Host specificity of *Metriora elatior*, a potential biological control agent of tropical soda apple, *Solanum viarum*, in the USA. **BioControl 44(4): 421-436.**

MEDEIROS, L. & G.R.P. MOREIRA. 2003. Leaf selection and daily variation on feeding and oviposition of *Gratiana spadicea* (Klug) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae). **Revista Brasileira de Zociências 5 (2): 153-160.**

MEDEIROS L. & D.S. BOLIGON. 2007. Adaptations of two specialist herbivores to movement on the hairy leaf surface of their host, *Solanum guaraniticum* Hassl (Solanaceae). **Revista Brasileira de Entomologia 51(2): 210-216.**

MENTZ, L.A. & P.L. OLIVEIRA. 2004. ***Solanum* (Solanaceae) na região sul do Brasil.** Pesquisas / Instituto Anchieta de Pesquisas. São Leopoldo,



Unisinos, 327p.

- MIZ, R.B.; L.A. MENTZ & T.T. SOUZA-CHIES. 2008. Overview of the phylogenetic relationships of some southern Brazilian species from section *Torva* and related sections of "spiny *Solanum*" (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). **Genetica** **132**(2): 143-158.
- MOTULSKY, H.M. & A. CHRISTOPOULOS. 2003. **Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting**. San Diego, GraphPad Software Inc., 351p.
- NYLIN, S. & K. GOTTHARD. 1998. Plasticity in life history traits. **Annual Review of Entomology** **43**: 63-83.
- POCZAI, P.; J. TALLER & I. SZABÓ. 2008. Analysis of phylogenetic relationships in the genus *Solanum* (Solanaceae) as revealed by RAPD markers. **Plant Systematics and Evolution** **275**(1-2): 59-67.
- RODRIGUES, D.; L.S. DUARTE & G.R.P. MOREIRA. 2007. Performance consequences of food mixing in two passion vine leaf-footed bugs, *Holymenia clavigera* and *Anisoscelis foliacea marginella* (Hemiptera: Coreidae). **Brazilian Journal Biology** **67**(1): 631-637.
- SCHEIRS, J.; L.D. BRUYN & R. VERHAGEN. 2003. Host nutritive quality and host plant choice in two grass miners: primary roles for primary compounds? **Journal of Chemical Ecology** **29**(6): 1373-1389.
- SCHEIRS, J.; L.D. BRUYN & R. VERHAGEN. 2000. Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. **Proceedings of the Royal Society B** **267**(1457): 2065-2069.
- SCHOONHOVEN, L.M.; J.J.A. VAN LOON & M. DICKE. 2005. **Insect-plant Biology**, 2nd ed. New York, Oxford University Press, XVII+421.
- SCRIBER, J.M. & F. SLANSKY, Jr. 1981. The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology** **26**: 183-211.
- SHELOMI, M.; L.E. PERKINS; B.W. CRIBB & M.P. ZALUCKI. 2010. Effects of leaf

- surfaces on first-instar *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) behavior. **Australian Journal of Entomology** **49**: 289-295.
- SINGER, M.S.. 2008. Evolutionary ecology of polyphagy, p. 29-68. In: K.J. Tilmon (Ed.). **Specialization, speciation and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects**. Los Angeles, University of California Press, XV+341p.
- SINGER, M.S.; D. RODRIGUES; J.O. STIREMANN III & Y. CARRIÈRE. 2004. Roles of food quality and enemy-free space in host use by generalist insect herbivore. **Ecology** **85**(10): 2747-2753.
- SLANSKY, F.Jr. 1993. Nutritional ecology: the fundamental quest for nutrients. In: N.E. Stamp & T. Casey (Eds.). **Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging**. New York, Chapman & Hall, 587p.
- THOMPSON, J.N. 1988a. Coevolution and alternative hypotheses on insect/plant interactions. **Ecology** **69**(4): 893-895.
- THOMPSON, J.N. 1988b. Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **47**: 3-14.
- THOMPSON, J.N. 1988c. Variation in preference and specificity in monophagous and oligophagous swallowtail butterflies. **Evolution** **42**(1):118-128.
- VAN NOUHUYS, S.; M.C. SINGER & M. NIEMINEN. 2003. Spatial and temporal patterns of caterpillar performance and the suitability of two host plant species. **Ecological Entomology** **28**(2): 193-202

**4. Capítulo III: Mudanças na forma e no tamanho das asas e edeago de *Metriona elatior* (Coleoptera, Chrysomelidae, Cassidinae) criados em diferentes espécies de *Solanum***

A ser submetido para Proceedings of the Royal Society B

**Resumo.** A plasticidade fenotípica é um tema de grande relevância para a biologia evolutiva. Plasticidade fenotípica retrata a habilidade de um organismo alterar sua fisiologia e/ou morfologia em decorrência de sua integração com o ambiente. A morfometria geométrica, através de suas ferramentas, possibilita a análise de componentes relacionados à forma e ao tamanho de estruturas de maneira independente. *Metriona elatior* (Klug, 1829) (Coleoptera: Chrysomelidae) se alimenta de plantas do gênero *Solanum* (Linnaeus), e apresenta comportamento e performance diferenciados em hospedeiras diferentes as quais têm papel crucial em processos que levam a variação morfológica. Diante disso, avaliamos se diferentes tipos de alimentação durante o estágio larval influenciam na forma e tamanho das estruturas corporais dos adultos. Com o uso da morfometria geométrica foram realizadas análises uni (tamanho) e multivariadas (forma) baseadas em *landmarks* e *semi-landmarks* localizados nos élitros, asas posteriores e edeago de adultos de *M. elatior* criados em seis hospedeiras diferentes, *Solanum aculeatissimum* Jacquin, *Solanum atropurpureum* Shrank, *Solanum guraniticum* Hassl, *Solanum melongena* Linnaeus, *Solanum sisymbriifolium* Lamarck e *Solanum viarum* Dunal. Os resultados obtidos demonstram que os élitros e as asas posteriores apresentam assimetria na sua forma e machos e fêmeas apresentam

dimorfismo sexual na forma e tamanho do centróide. Os élitros e asas posteriores apresentaram diferença na forma e tamanho dependendo da planta hospedeira utilizada pelas larvas. O edeago apresentou diferenças no tamanho em machos oriundos de diferentes plantas hospedeiras, mas não na forma. Assim, a planta hospedeira é um fator ambiental que promove diferentes fenótipos de *M. elatior* atuando na modificação do tamanho e forma de suas asas e genitália dos machos, estruturas estas que são importantes evolutivamente tanto no contexto da seleção natural (vôo) quanto sexual (genitália).

**Palavras-chave.** planta hospedeira, morfometria geométrica, plasticidade fenotípica, dimorfismo sexual, assimetria

#### 4.1. Introdução

Análises morfométricas têm revelado que o desenvolvimento regula complexas interações entre fatores genéticos e ambientais, afetando a forma dos organismos (KLINGENBERG 2010). A evolução resultante de mudanças nessas interações favorece supostamente a forma que confere maior valor adaptativo (MOCZEC 2009, KLINGENBERG 2010). A variação induzida por estímulos ambientais, como mudança na dieta, pode ser de grande importância evolutiva alterando o processo de desenvolvimento causando o surgimento de diferença na forma adulta (WEST-EBERHARD 1989). Para insetos herbívoros, a habilidade em se alimentar com sucesso em muitas plantas hospedeiras pode influenciar inúmeras características da sua história de vida e estar relacionada a eventos relativos à plasticidade fenotípica (NYLIN & JANZ 2009), que contempla a capacidade de um único genótipo exibir uma variedade de fenótipos em resposta a variação no ambiente.

Assim, MOZAFFARIAN *et al.* (2007) compararam o tamanho e a forma das asas de adultos de *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller, 1839) (Lepidoptera, Pyralidae) oriundos de quatro plantas hospedeiras e encontraram variações na forma em consequência do crescimento alométrico das estruturas avaliadas, o que pode estar relacionado às diferenças no conteúdo nutricional das plantas. SOTO *et al.* (2008) não evidenciaram mudanças quanto à forma das asas de adultos de *Drosophila* Fallén, 1823 obtidos em hospedeiras primárias e secundárias, mas obtiveram diferenças quanto ao tamanho. Ainda, JORGE *et al.* (2011) demonstraram diferenças em tamanho e forma da asa anterior direita de *Heliconius erato* (Linnaeus, 1764) (Lepidoptera) quando as mesmas foram criadas em diferentes plantas hospedeiras no sul e sudeste do Brasil. Também

foram detectadas diferenças na forma entre machos e fêmeas e no tamanho do centróide entre os indivíduos de diferentes localidades, reforçando o papel do tipo de alimentação na forte plasticidade fenotípica desta característica.

A análise da forma através da morfometria geométrica faz uso de dados de coordenadas bidimensionais (*landmarks* e *semi-landmarks*) para descrever o tamanho e forma ao mesmo tempo, ao invés de utilizar distâncias, áreas ou ângulos (ROHLF & MARCUS 1993). As propriedades matemáticas e estatísticas correspondentes têm sido avaliadas como superiores e os gráficos mais legíveis e de melhor interpretação para a biologia aplicada (SCHAEFER & BOOKSTEIN 2009); tais características aliadas ao significado biológico da forma de estruturas funcionais justificam a utilização desta ferramenta para avaliar o efeito da planta hospedeira na forma das asas e genitália de insetos.

*Mettriona elatior* (Klug, 1829) se alimenta de várias espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae), dentre elas, *Solanum viarum* Dunal (MEDAL *et al.* 1999), *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (HILL & HULLEY 1996), *Solanum atropurpureum* Shrank, *Solanum aculetissimum* Jacquin (LIMA *et al.* 1968) e a cultivada *Solanum melongena* Linnaeus (HILL & HULLEY 1996, MEDAL *et al.* 1999). Todas as plantas citadas são encontradas no sul do Brasil e foram utilizadas também na obtenção de dados sobre performance deste herbívoro (Capítulo II).

O número variável de hospedeiras para este coleóptero, bem como diferenças comportamentais e na performance já demonstradas (Capítulo II e III) nos indicaram explorar possíveis conseqüências morfológicas da alimentação larval em diferentes plantas hospedeiras. Analisamos a existência de modificações na forma e tamanho das asas e genitália dos machos em

adultos oriundos de plantas nas quais apresentam diferente performance e comportamento. Valendo-se da morfometria geométrica também verificamos variações na forma e tamanho dos sexos e entre lado direito e esquerdo do corpo (assimetria direcional) no intuito de conhecer melhor estas características no sistema estudado.

## 4.2. Material e Métodos

### 4.2.1. Criação e preparação dos insetos.

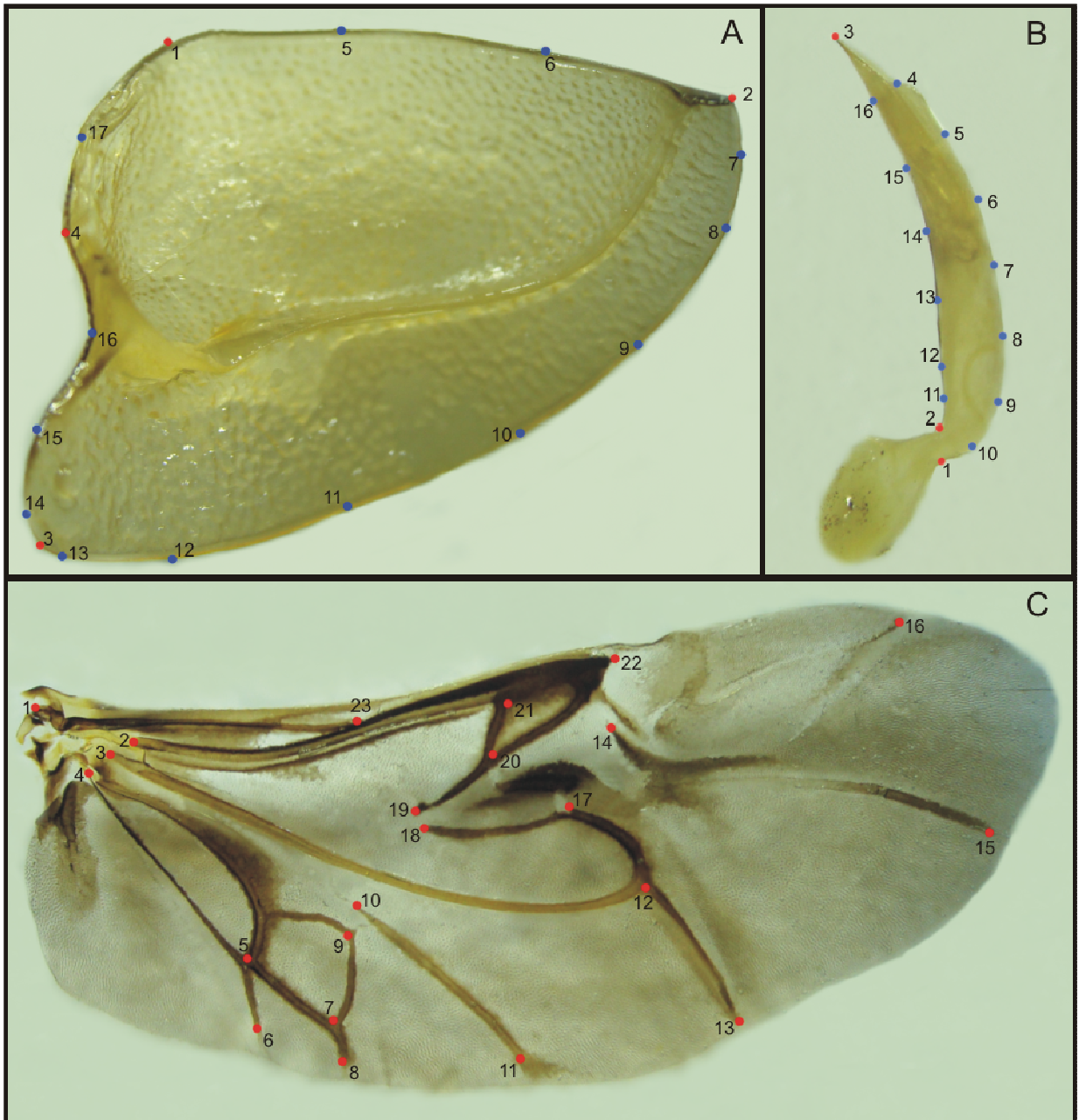
Adultos de *M. elatior* foram coletados no campo em folhas de *S. atropurpureum*, *S. sisymbriifolium* e *S. viarum* e mantidos no laboratório em câmara climatizada ( $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ; L14:D10), localizada no Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil. Todos os adultos foram mantidos em folhas de *S. viarum* e as ootecas obtidas foram colocadas em placas de Petri cobertas com papel filtro umedecido. As larvas recém-eclodidas foram transferidas para potes de plástico (3.5 X 11 X 11cm) e alimentadas até o empupamento com folhas de diferentes plantas hospedeiras: *S. aculeatissimum* (n = 12 adultos), *S. atropurpureum* (n = 14), *S. melongena* (n = 18), *S. sisymbriifolium* (n = 23) e *S. viarum* (n = 23). Apesar de não haver registro da ocorrência, foram incluídos indivíduos criados em *Solanum guaraniticum* Hassl (n = 23). As plantas utilizadas para a alimentação das larvas foram cultivadas em telado de sombrite 50% localizada no Campus do Vale da UFRGS. Após a emergência dos adultos, os indivíduos foram mortos por congelamento e fixados em fluido de Dietrich. As asas posteriores foram removidas e reidratadas em uma

seqüência de etanol, água e glicerina e então montadas em lâminas semi-permanentes e fotografadas com câmera Sony® Cyber-shot DSC-H10 acoplada a estereomicroscópio Leica® M125. Os élitros e edeago foram submetidos aos mesmos passos de hidratação exceto a montagem em lamina e fotografados em posição padronizada. As asas posteriores e élitros foram fotografados em sua face ventral com aumento de 20X e o edeago em vista lateral com aumento de 40X.

#### 4.2.2. Morfometria geométrica

As análises correspondentes foram desenvolvidas na State University of New York, Stony Brook. Nos élitros, foram digitalizados quatro *landmarks* e 12 *semi-landmarks* no contorno (Figura 1A). No edeago, foram digitalizados três *landmarks* e 13 *semi-landmarks* (Figura 1B). Nas asas posteriores, foram digitalizados 23 *landmarks*, localizados nas intersecções e extremidades das veias (Figura 1C). A descrição dos *landmarks* está contida na tabela 1, seguindo-se a nomenclatura utilizada por CHABOO (2007). As digitalizações foram feitas usando-se o software TPSDig, versão 2.16 (ROHLF 2010a). Para a análise com *semi-landmarks*, foi criado um arquivo no qual são dadas as coordenadas que representam o contorno através do software TPSUtil, versão 1.46 (ROHLF 2010b).





**Figura 1.** Landmarks (vermelho) e semi-landmarks (azul) localizados na vista ventral dos élitros (A), vista lateral do edeago (B) e vista dorsal das asas posteriores (C) de *Metriona elatior*.

**Tabela 1.** Descrição dos landmarks exibidos na Figura 1.

Estrutura	Número	Posição
	1	Extremidade proximal da veia subcostal (Sc)
	2	Extremidade proximal da veia radial(R)
	3	Extremidade proximal da veia cubital anterior (CuA)
	4	Intersecção da extremidade proximal da veia anal anterior (AA) com a extremidade proximal da veia cubital anterior (CuA)
	5	Intersecção da veia anal anterior 3+4 (AA3+4) com a veia anal anterior (AA)
	6	Extremidade distal da veia anal anterior 3+4 (AA3+4)
	7	Intersecção da extremidade proximal da veia cubital anterior 3+4 (CuA3+4) e veia anal anterior 1+2 (AA1+2)
	8	Extremidade distal da veia cubital anal 3+4 e veia anal anterior 1+2 (CuA3+4+AA1+2)
	9	Intersecção da veia cubital anterior 1+2 (CuA1+2) e veia média posterior(mp3)
Asa posterior	10	Extremidade proximal da veia mediana posterior 3 (mp3)
	11	Extremidade distal da veia mediana posterior 3 (mp3)
	12	Extremidade proximal da veia mediana espúria (mspr)
	13	Extremidade distal da veia mediana espúria (mspr)
	14	Extremidade proximal da veia radial posterior 2 (RP2)
	15	Extremidade distal da veia radial posterior 2 (RP2)
	16	Extremidade distal da veia radial posterior 1 (RP1)
	17	Protuberância da veia radial posterior media posterior 2 (rp-mp2)
	18	Extremidade da veia radial posterior media posterior 2 (rp-mp2)
	19	Extremidade proximal da veia radial 3 (r3)
	20	Intersecção da veia radial 3 (r3) com a radial anterior 3+4(RA3+4)
	21	Intersecção da veia radial (R) com a radial anterior 3+4 (RA3+4)
	22	Extremidade distal da veia radial (R)
	23	Intersecção da veia subcostal (Sc) com a veia radial (R)
Élitro	1	Ângulo entre a margem da sutura e margem basal
	2	Ângulo apical
	3	Ângulo anterolateral
	4	Processo basal
Edeago	1	Depressão na base ventral
	2	Base dorsal
	3	Extremidade distal

Para avaliar a necessidade de analisar as estruturas localizadas no lado direito e esquerdo do corpo, foi conduzido um teste de assimetria, ocasião em que as coordenadas obtidas para os élitros e asas posteriores dos indivíduos foram espelhadas para um lado do corpo e a imagem resultante alinhada aos landmarks correspondentes de ambos os lados. Após, foram escalonadas, superimpostas e rotadas pela sobreposição de Procrustes (GPA) (BOOKSTEIN 1991). Finalmente, a assimetria foi medida através do desvio entre os pares correspondentes de *landmarks* através da análise de variância (ANOVA) da variação obtida para cada planta hospedeira (KLINGENBERG & MCINTYRE 1998, KLINGENBERG *et al.* 2002). Todos os passos desta análise foram realizados no software MorphoJ® (KLINGENBERG 2011).

Para testar se a criação em diferentes plantas hospedeiras pode trazer conseqüências ao tamanho do centróide (raiz quadrada da soma do quadrado das distâncias de cada *landmark* até o ponto médio de todos os *landmarks*), esta medida foi calculada no TPSRelw, versão 1.45 (ROHLF 2007). Os valores correspondentes foram logaritimizados e submetidos a uma ANOVA de dois fatores (planta e sexo). Comprovada a existência de diferença, foram comparados os intervalos de confiança dentro de cada fator (SOKAL & ROHLF 1996).

As coordenadas relacionadas aos marcos que definem a forma foram sobrepostas através do método de Procrustes e as diferenças entre indivíduos nas coordenadas correspondentes aos *landmarks* e *semi-landmarks* foram utilizadas para as comparações multivariadas acerca da variação na forma. Para os élitros e edeago, utilizamos o método de “*sliding*” para os *semi-landmarks*, que se estende do procedimento da sobreposição de Procrustes

adicionando um passo no qual os pontos referentes aos semi-landmarks são deslizados ao longo do contorno de um espécime de referência (BOOKSTEIN 1997).

Uma análise de componentes principais (PCA) dos dados referentes a localização dos *landmarks* e *semi-landmarks* foi realizada para detectar a porcentagem de variação da forma explicada pelos eixos (componentes principais). Os valores dos componentes principais foram calculados para cada estrutura corporal, lado do corpo e sexo. As deformações encontradas ao longo destes eixos foram visualizadas pela criação de um *grid* de deformação para a forma de cada indivíduo em um modelo que minimiza a energia (*bending energy*) necessária para deformar uma fina placa de metal (*i.e. thin plate spline*) através do software TPSRelw, versão 1.45 (ROHLF 2007).

Para testar diferenças na forma, foi realizada análise de variância multivariada (MANOVA) para o número total de dimensões de variação,  $2p-4$ , onde  $p$  é o número total de *landmarks* e *semi-landmarks*. Para as análises de contorno o número de dimensões foi  $2p-13$  para os élitros e  $2p-15$  para o edeago. O número de dimensões é uma escolha arbitrária no caso dos *semi-landmarks*, portanto, utilizamos aquele que engloba o mínimo de 95% da variação (F.J. Rohlf, State University of New York, Stony Brook, comunicação pessoal).

Com vistas a maximizar a variação na forma originada em diferentes plantas hospedeiras e, entre os sexos, foi conduzida uma análise canônica e, em seguida, foi testada a validação cruzada, que estima uma porcentagem de classificação imparcial dos indivíduos no qual um indivíduo é retirado e realocado de acordo com o resultado anterior e a porcentagem de realocação

no grupo correto é quantificada.

As análises estatísticas uni- e multivariadas foram realizadas no software Matlab®, versão 7.1 es0.0.499.

#### 4.3. Resultados

Foram encontrados valores significativos de assimetria nas asas posteriores e élitros. Para as asas posteriores, os valores foram significativos para adultos obtidos em *S. atropurpureum*, *S. sisymbriifolium* e *S. viarum*. Para os élitros, as diferenças foram significativas para os adultos oriundos de todas as plantas testadas (Tabela 2). Em virtude deste resultado, exibimos os resultados das demais análises para as estruturas do lado direito e esquerdo do corpo no intuito de não mascarar possíveis resultados distintos.

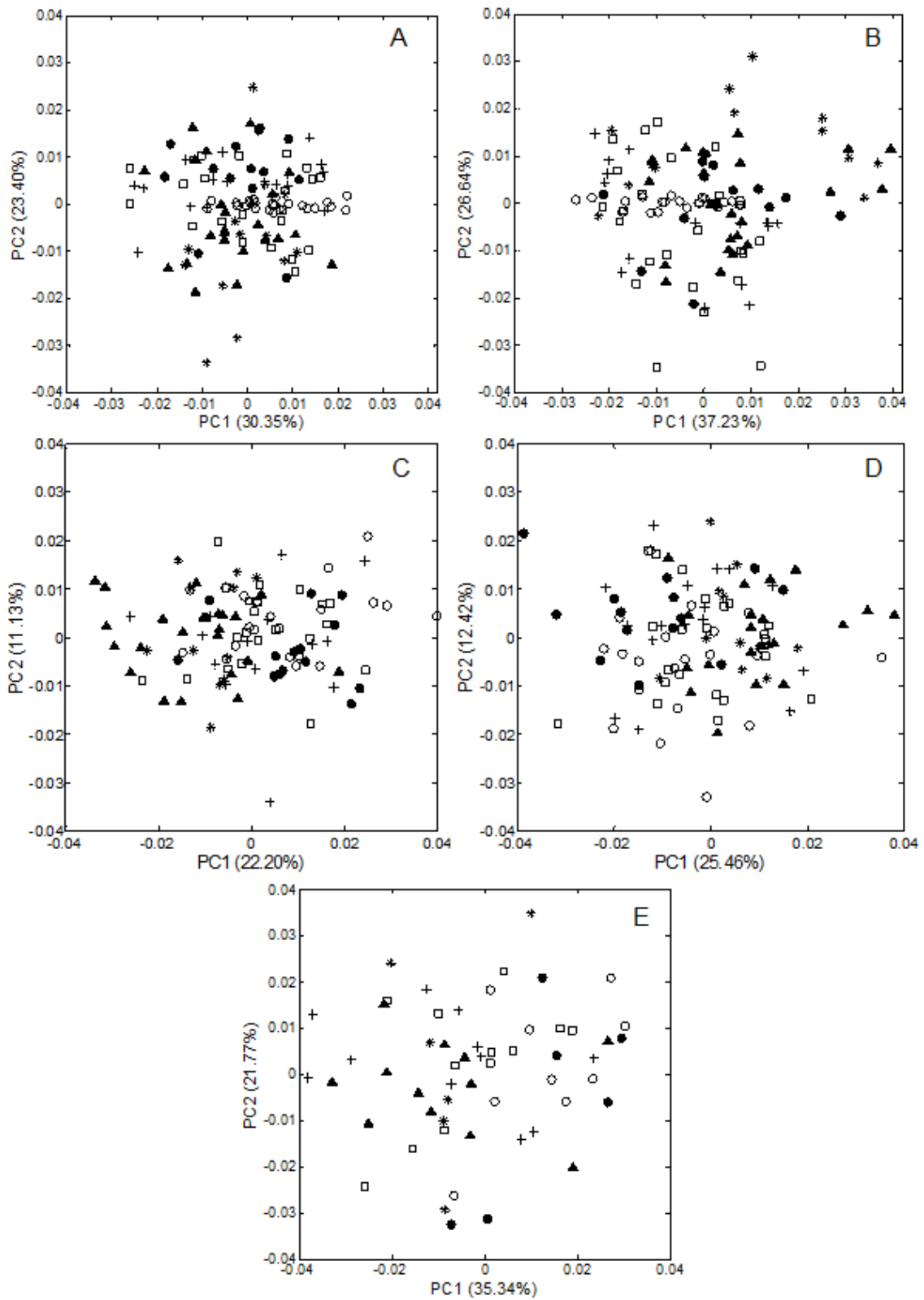
Os resultados do PCA mostram os dois eixos de maior variação da forma. Para o élitro direito os dois primeiros componentes principais explicaram 53,75% da variação (PC1 30,35% e PC2 23,40%). Para o élitro esquerdo, 63,87% da variação esteve contida neste intervalo (PC1 37,23% e PC2 26,64%). Para as asas posteriores, a porcentagem da variação explicada por esta análise para a asa posterior direita foi 33,43% (PC1 22,30% e PC2 11,13%) e, de 37,88%, para asa posterior esquerda (PC1 25,46% e PC2 12,42%). Para o edeago, 57,11% da variação na forma foi explicada pelos dois primeiros componentes principais (PC1 35,34% e PC2 21,77%) (Figura 2). As deformações encontradas no primeiro componente principal estão ilustradas na figura 3.

**Tabela 2.** Anova de procrustes sobre a forma das asas posteriores e élitros direito e esquerdo de *Metrioma elatior* criados em diferentes plantas hospedeiras. Esta análise assume que os landmarks têm variação isotrópica. Os valores de P em negrito enfatizam os efeitos significativos.

Planta	Estrutura	<i>g.l.</i> *	SQ**	MQ**	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>S. aculeatissimum</i>	Asa posterior	42	0,0007	0,000016	1,29	0,1087
	Élitro	30	0,01375	0,000458	48,68	<b>&lt;,0001</b>
<i>S. atropurpureum</i>	Asa posterior	42	0,00061	0,000014	2,91	<b>0,0007</b>
	Élitro	30	0,01039	0,000347	43,35	<b>&lt;,0001</b>
<i>S. guaraniticum</i>	Asa posterior	42	0,00058	0,000013	1,27	0,1207
	Élitro	30	0,01591	0,000530	59,82	<b>&lt;,0001</b>
<i>S. melongena</i>	Asa posterior	42	0,00054	0,000012	0,89	0,6658
	Élitro	30	0,03844	0,001281	76,51	<b>&lt;,0001</b>
<i>S. sisymbriifolium</i>	Asa posterior	42	0,00071	0,000017	1,85	<b>0,0010</b>
	Élitro	30	0,01948	0,000649	183,66	<b>&lt;,0001</b>
<i>S. viarum</i>	Asa posterior	42	0,0017	0,000040	3,43	<b>&lt;,0001</b>
	Élitro	30	0,02638	0,000879	103,97	<b>&lt;,0001</b>

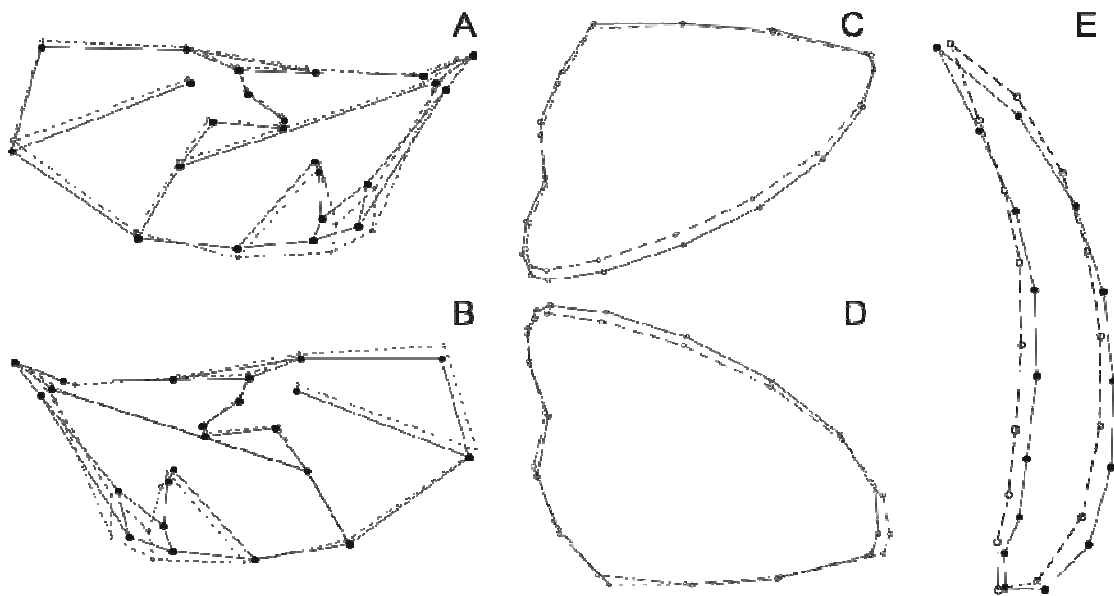
\**g.l.*: 2p-4

\*\*SQ e MQ: soma e média dos quadrados na unidade das dimensões das distâncias de Procrustes



**Figura 2.** Dois primeiros componentes principais sobre os resíduos da forma de *Metriona elatior* criados em diferentes plantas hospedeiras para élitro direito (A) e esquerdo (B), asa posterior direita (C) e esquerda (D) e edeago (E). Os símbolos indicam adultos oriundos de *Solanum aculeatissimum* (\*), *Solanum atropurpureum* (●), *Solanum guaraniticum* (▲), *Solanum melongena* (+), *Solanum sisymbriifolium* (□) e *Solanum viarum* (○).





**Figura 3.** Deformações ao longo do primeiro componente principal na asa posterior direita (A), esquerda (B), élitro direito (C) e esquerdo (D) e edeago (E) de *Metriona elatior* criados em diferentes plantas hospedeiras. A linha contínua representa os escores positivos e a linha descontinua representa os escores negativos.

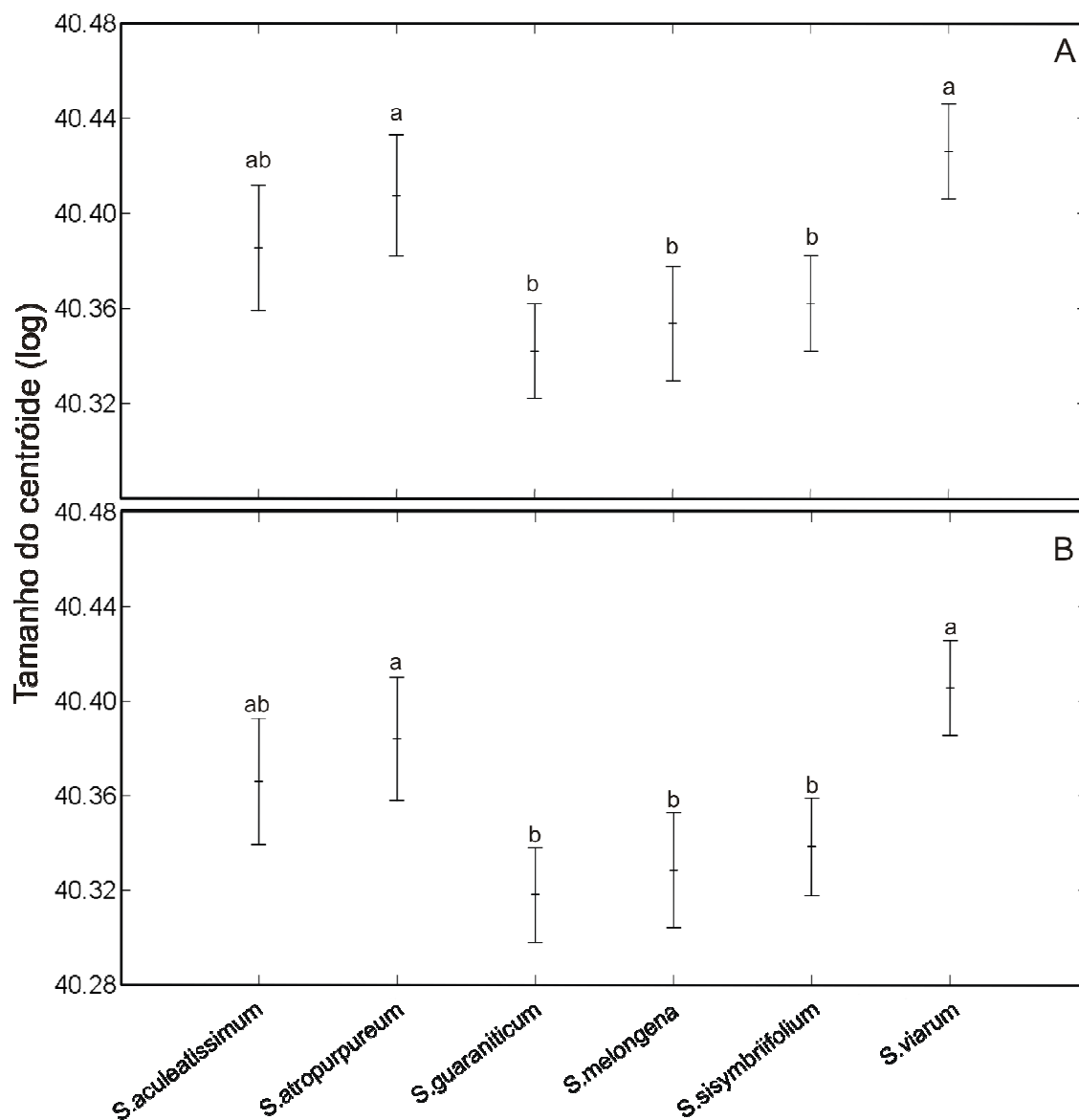
Foram obtidas diferenças quanto ao tamanho do centróide nos élitros, nas asas posteriores e no edeago de *M. elatior* criados nas diferentes plantas hospedeiras, bem como entre machos e fêmeas para os élitros e asas posteriores. Não houve interação entre os fatores planta e sexo (Tabela 3); então, foi considerada a variação obtida dentro de cada fator. Para os élitros (Figura 4) e asas posteriores (Figura 5), o tamanho do centróide foi maior nos indivíduos criados em *S. viarum* e *S. atropurpureum* em relação aos criados em *S. guaraniticum*, *S. melongena* e *S. sisymbriifolium*. Aqueles oriundos de *S. aculeatissimum* foram maiores que os de *S. guaraniticum*. Para o edeago, o tamanho foi maior em *S. viarum* em relação a *S. guaraniticum* e *S. melongena*. Entre as demais plantas não houve diferença (Figura 6). O tamanho do centróide foi maior para fêmeas em relação aos machos em todas as estruturas analisadas (Figura 7).

Os resultados da MANOVA indicaram a existência de diferenças na forma dos élitros e asas posteriores de adultos criados em plantas hospedeiras e entre os sexos, mas não houve interação entre estes fatores. Para o edeago, não houve efeito significativo das plantas na forma (Tabela 4).

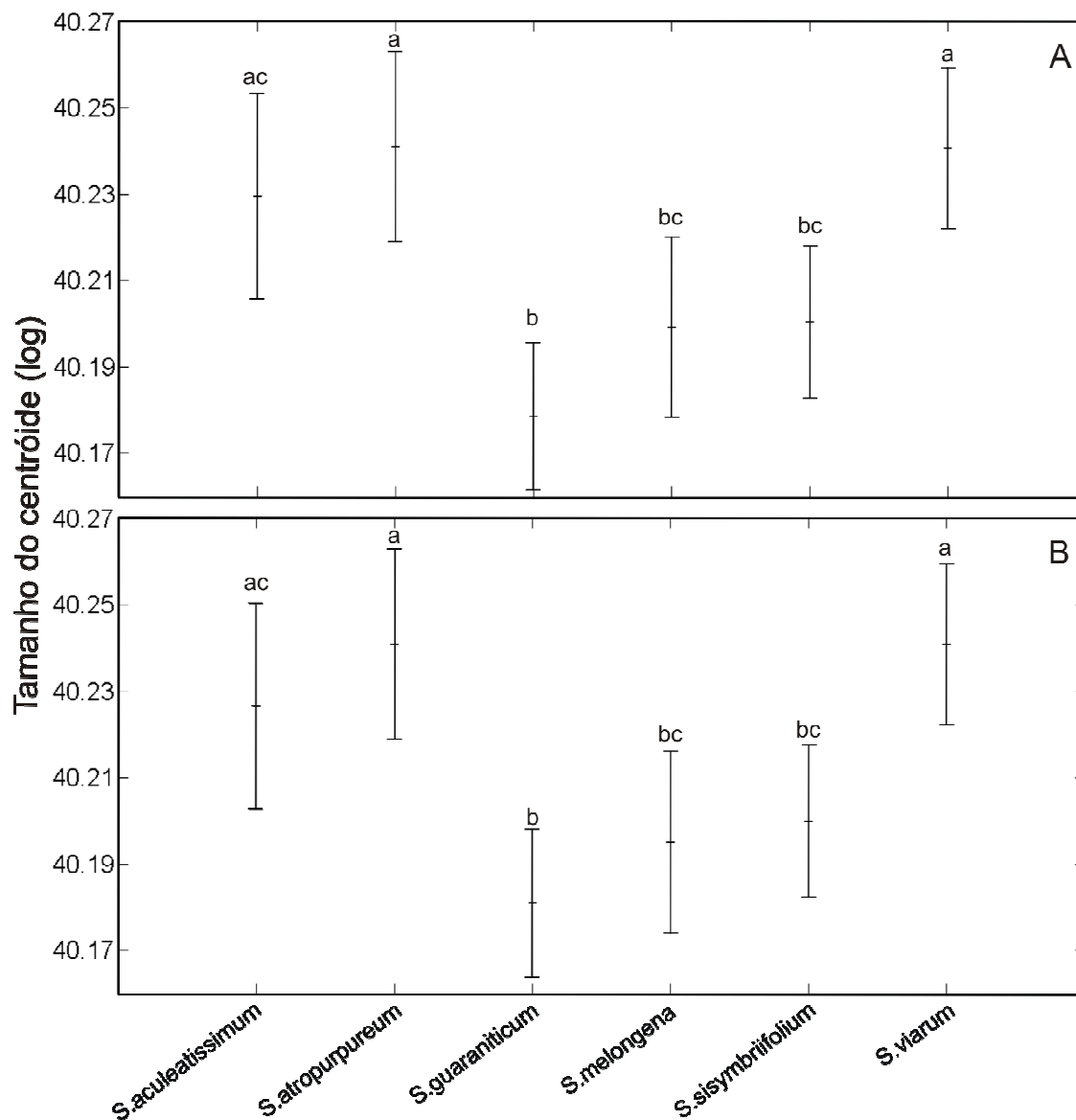
A forma das asas posteriores e élitros diferiu entre machos e fêmeas, onde mais de 50% da variação na forma explicada pela primeira variável canônica. Cerca de 90% da variação dos élitros e 60% da variação das asas posteriores foram explicadas pela soma da primeira variável canônica (CV1) e segunda (CV2) (Figura 8). De acordo com as médias da análise canônica das asas posteriores, os indivíduos criados em *S. viarum*, *S. atropurpureum* e *S. aculeatissimum* situam-se mais distantes dos oriundos

**Tabela 3.** Análise de variância do tamanho do centróide testado para efeito da planta hospedeira e sexo nos élitros, edeago e asas posteriores de *Metriona elatior*. Os valores de *P* em negrito indicam os efeitos significativos.

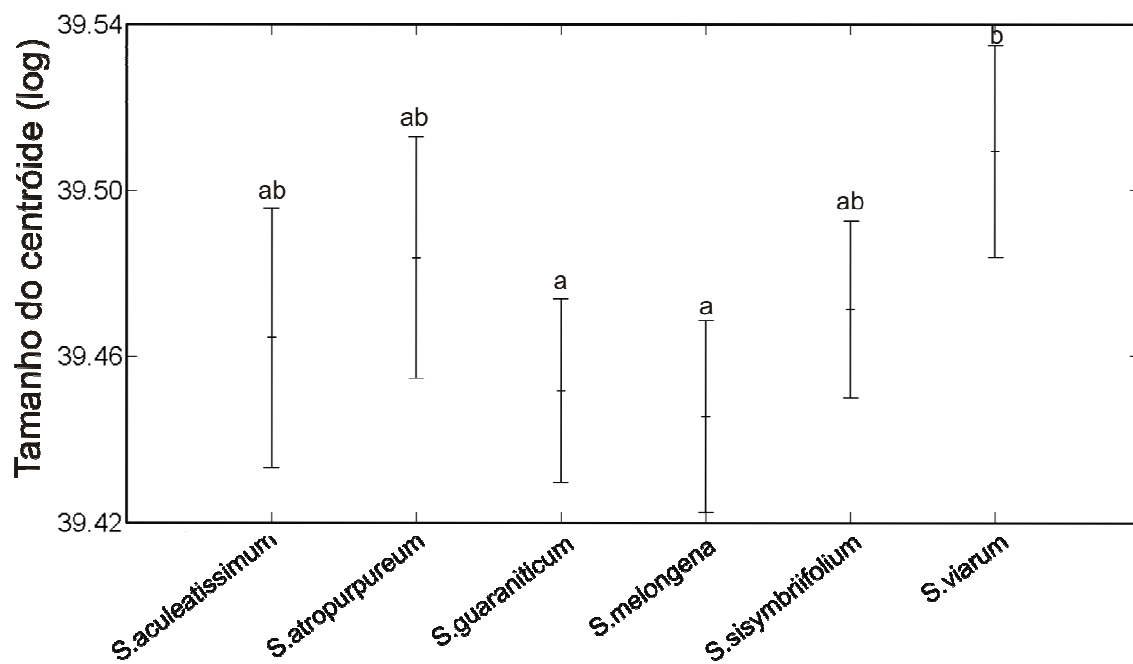
Estrutura	Fator	<i>g.l.</i>	SQ	MQ	<i>F</i>	<i>P</i>
Élitro direito	Planta	5	0,10956	0,02191	9,41	<b>&lt;0,0001</b>
	Sexo	1	0,06534	0,06534	28,06	<b>&lt;0,0001</b>
	Planta*Sexo	5	0,01423	0,00285	1,22	0,304
	Erro	101	0,23518	0,00233		
Élitro esquerdo	Planta	5	0,11983	0,02397	9,95	<b>&lt;0,0001</b>
	Sexo	1	0,06453	0,06453	26,78	<b>&lt;0,0001</b>
	Planta*Sexo	5	0,0064	0,00124	0,51	0,764
	Erro	101	0,24332	0,00241		
Edeago	Planta	5	0,02605	0,00521	3,4	<b>0,009</b>
	Erro	52	0,07965	0,00153		
Asa posterior direita	Planta	5	0,06189	0,01238	7,19	<b>&lt;0,0001</b>
	Sexo	1	0,11383	0,11383	66,11	<b>&lt;0,0001</b>
	Planta*Sexo	5	0,00752	0,0015	0,87	0,502
	Erro	95	0,16357	0,00172		
Asa posterior esquerda	Planta	5	0,05934	0,01187	6,88	<b>&lt;0,0001</b>
	Sexo	1	0,09594	0,09594	55,58	<b>&lt;0,0001</b>
	Planta*Sexo	5	0,00639	0,00128	0,74	0,595
	Erro	95	0,16398	0,00173		



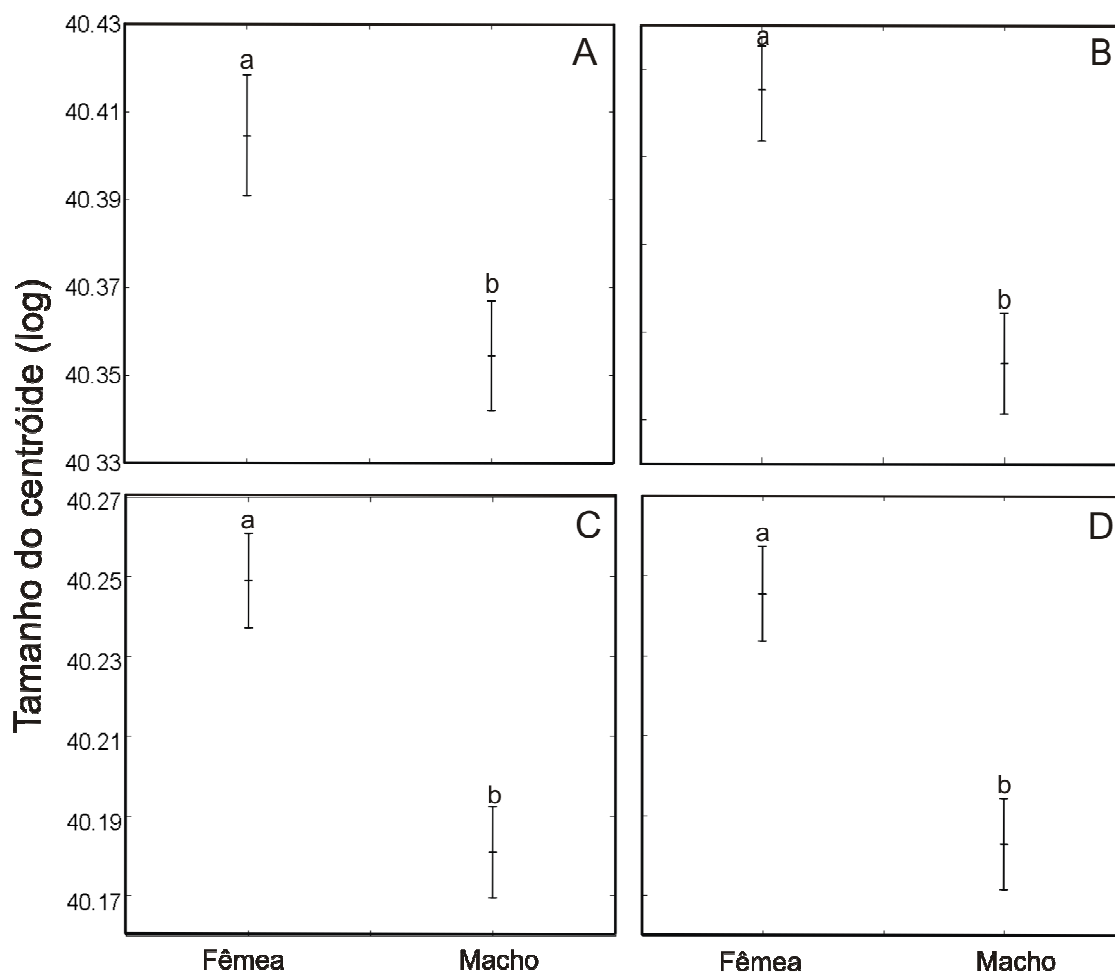
**Figura 4.** Comparação dos intervalos de confiança de 95% para as médias do logaritmo do tamanho do centróide do élitro direito (A) e esquerdo (B) de *Metriona elatior* oriundos de hospedeiras diferentes. As médias nas quais os intervalos não se sobrepõem estão indicadas por letras diferentes que representam diferença estatística; alfa = 0,05.



**Figura 5.** Comparação dos intervalos de confiança de 95% para as médias do logaritmo do tamanho do centróide da asa posterior direita (A) e esquerda (B) de *Metriona elator* oriundos de hospedeiras diferentes. As médias nas quais os intervalos não se sobrepõem estão indicadas por letras diferentes que representam diferença estatística; alfa = 0,05.



**Figura 6.** Comparação dos intervalos de confiança de 95% para as médias do logaritmo do tamanho do centróide do edeago de *Metriona elatior* oriundos de hospedeiras diferentes. As médias nas quais os intervalos não se sobrepõem estão indicadas por letras diferentes que representam diferença estatística; alfa = 0,05.

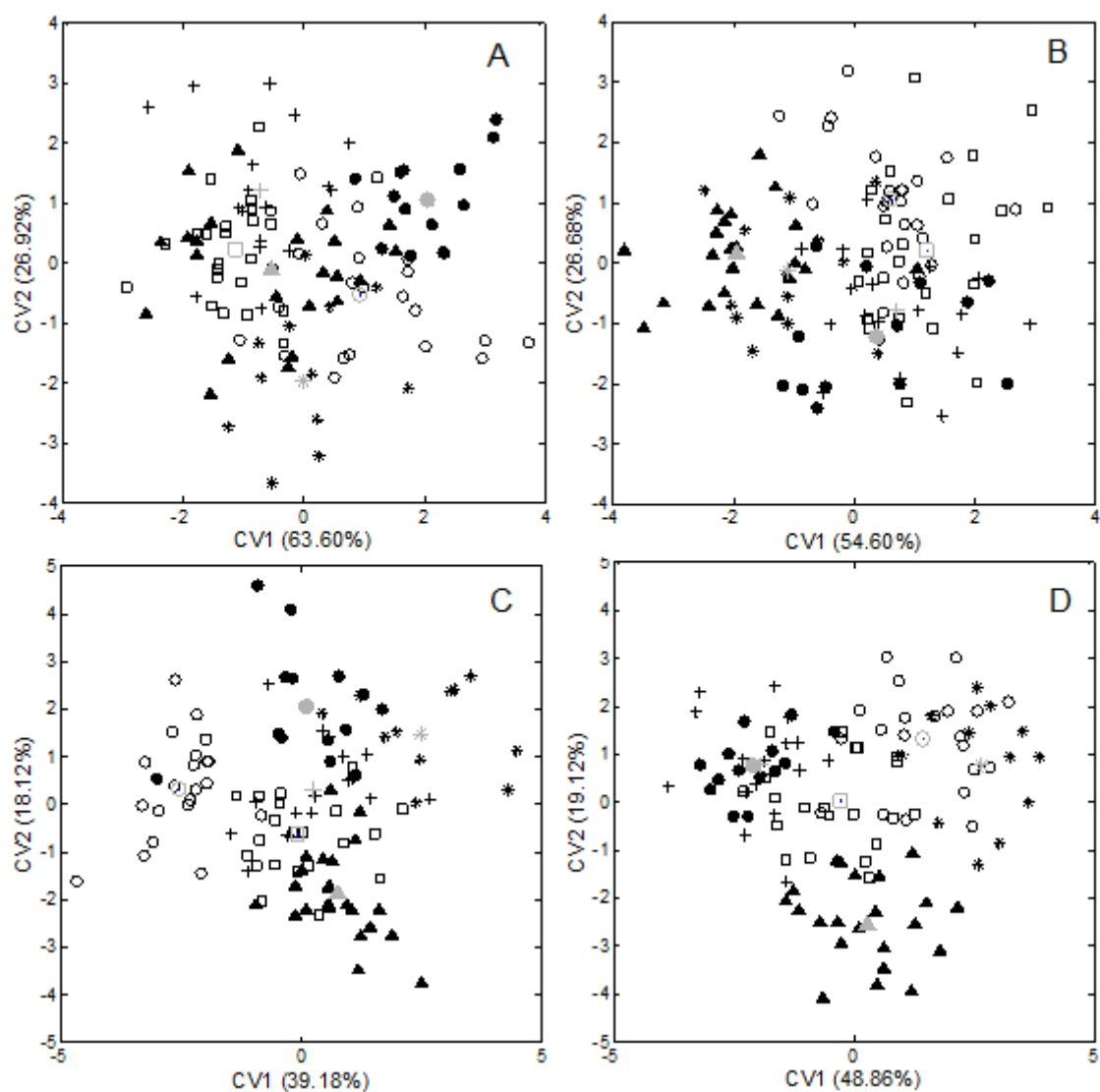


**Figura 7.** Comparação dos intervalos de confiança de 95% para as médias do logaritmo do tamanho do centróide do élitro direito (A) e esquerdo (B) e asa posterior direita (C) e esquerda (D) de *Metriona elatior*. As médias nas quais os intervalos não se sobrepõem estão indicadas por letras diferentes que representam diferença estatística; alfa = 0,05.

**Tabela 4.** Análise de variância multivariada das variáveis de forma testadas para efeito da planta hospedeira e sexo nos élitros, edeago e asas posteriores de *Metriona elatior*. Os valores de *P* em negrito indicam os efeitos significativos.

Estrutura	Fator	<i>g.l.</i>	Wilks' $\lambda$	<i>F</i>	<i>g.l.</i> num.	<i>g.l.</i> den.	<i>P</i>
Élitro direito	Planta	5	0,0866	2,4783	105	400	<b>&lt;0,0001</b>
	Sexo	1	0,2832	9,7627	21	81	<b>&lt;0,0001</b>
	Planta*Sexo	5	0,3658	0,8716	105	400	0,8004
Élitro esquerdo	Planta	5	0,1000	2,2958	105	400	<b>&lt;0,0001</b>
	Sexo	1	0,3387	7,5309	21	81	<b>&lt;0,0001</b>
	Planta*Sexo	5	0,1807	1,5991	105	400	0,071
Edeago	Planta	5	0,0911	1,3405	85	178	0,0501
Asa posterior direita	Planta	5	0,0139	1,7777	210	273	<b>&lt;0,0001</b>
	Sexo	1	0,0436	28,203	42	54	<b>&lt;0,0001</b>
	Planta*Sexo	5	0,2174	0,4685	210	273	1
Asa posterior esquerda	Planta	5	0,0130	1,8195	210	273	<b>&lt;0,0001</b>
	Sexo	1	0,2047	4,9953	42	54	<b>&lt;0,0001</b>
	Planta*Sexo	5	0,0398	1,1900	210	273	0,0885





**Figura 8.** Análise canônica da variação da forma do élitro direito (A), élitro esquerdo (B), asa posterior direita (C) e asa posterior esquerda (D) de *Metriona elatior* criados em diferentes plantas hospedeiras. Os símbolos indicam adultos oriundos de *Solanum aculeatissimum* (\*), *Solanum atropurpureum* (●), *Solanum guaraniticum* (▲), *Solanum melongena* (+), *Solanum sisymbriifolium* (□) e *Solanum viarum* (○). Os símbolos maiores e em cinza representam as médias.

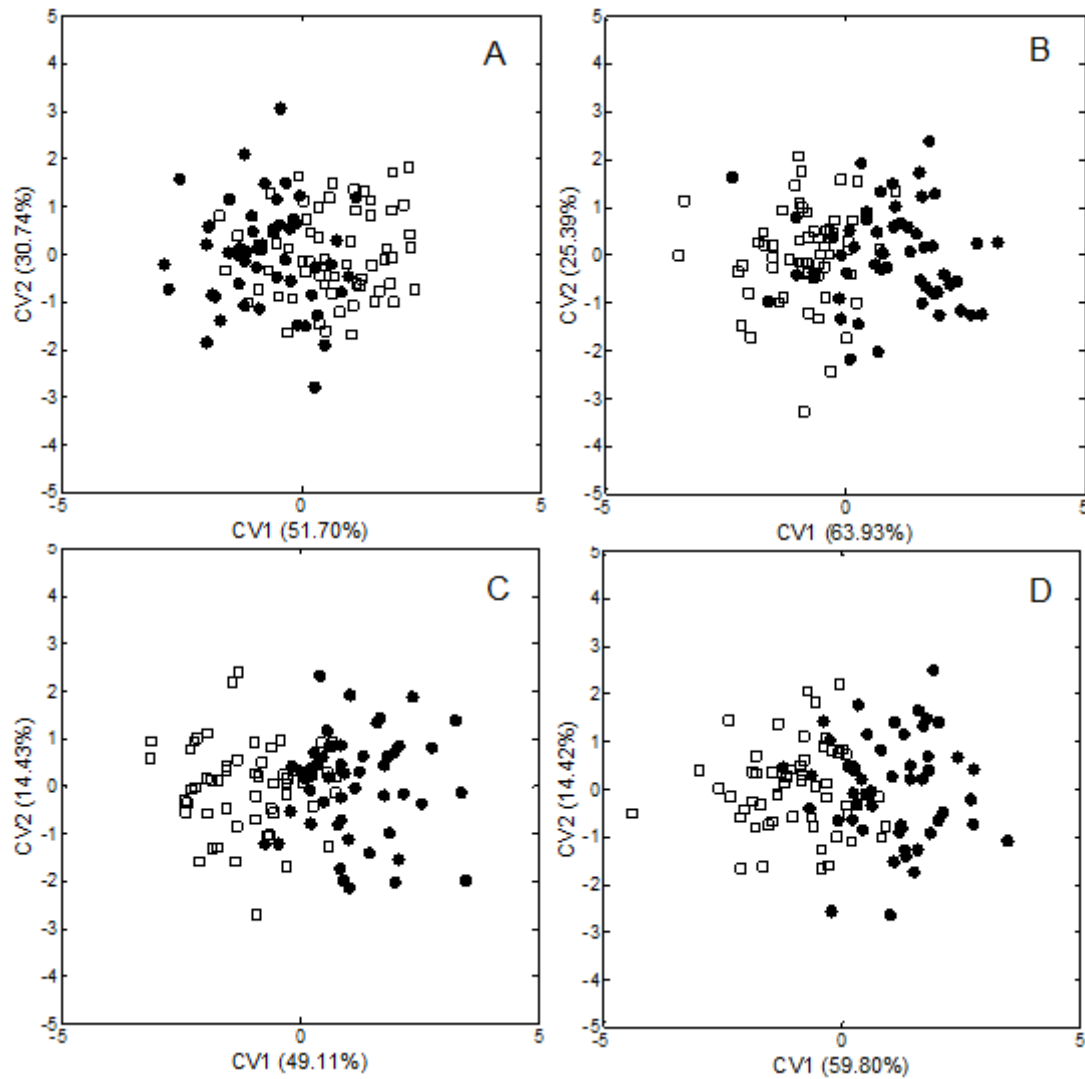
de *S. melongena*, *S. sisymbriifolium* e *S. guaraniticum*, que se aproximam entre si. Para a asa posterior esquerda, as médias dos indivíduos de *S. atropurpureum* aparecem mais próximas dos de *S. melongena*. Para os élitros, a média da análise canônica dos adultos oriundos de *S. viarum* situa-se distante daquela dos adultos de *S. guaraniticum* principalmente e, os de *S. atropurpureum*, próximos dos de *S. melongena* e *S. sisymbriifolium* (Figura 8).

Também foi observado dimorfismo sexual quanto a forma dos élitros e asas posteriores. A primeira variável canônica representa 51,70% e 63,93% da variação para o élitro direito e esquerdo, respectivamente, e 49,11% e 59,80% para a asa posterior direita e esquerda, respectivamente (Figura 9).

A validação cruzada entre indivíduos criados em cada planta hospedeira gerou taxas de discriminação variando de razoáveis a baixas. Para as asas posteriores direita e esquerda, respectivamente, as maiores porcentagens foram para *S. atropurpureum* (35,71% e 50%), *S. guaraniticum* (56,52% e 47,83%), *S. sisymbriifolium* (31,82% e 36,36%) e *S. viarum* (50% e 30%). Para os élitros direito e esquerdo, obteve-se uma porcentagem de classificação correta maior em *S. aculeatissimum* (53,85% e 46,15%), seguida de *S. sisymbriifolium* (47,83% e 34,78%) e *S. viarum* (39,13% e 34,78%). Em *S. guaraniticum* (39,13% e 29,41%) e *S. melongena* (17,65% e 17,65%) existe uma maior porcentagem de classificação errada dos indivíduos (Tabela 5).

#### 4.4. Discussão

A plasticidade e o ambiente desempenham papéis fundamentais na evolução da variação fenotípica e na seleção desta variação. Uma determinada



**Figura 9.** Análise canônica da variação da forma do élitro direito (A), élitro esquerdo (B), asa posterior direita (C) e asa posterior esquerda (D) de *Metriona elatior* para fêmeas (●) e machos (□).

**Tabela 5.** Porcentagem de classificação correta da planta hospedeira na qual as larvas de *Mettriona elatior* foram criadas, com base nas variáveis de forma resultantes da análise canônica segundo o procedimento de validação cruzada. As linhas mostram a porcentagem de indivíduos criados em cada uma das plantas hospedeiras e as colunas mostram os indivíduos classificados em cada planta. As classificações corretas estão em negrito.

	S. <i>aculeatissimum</i>	S. <i>atropurpureum</i>	S. <i>guaraniticum</i>	S. <i>melongena</i>	S. <i>sisymbriifolium</i>	S. <i>viarum</i>
Élitro direito						
<i>S. aculeatissimum</i>	<b>53,85</b>	7,69	15,38	7,69	7,69	7,69
<i>S. atropurpureum</i>	0	<b>78,57</b>	0	7,14	0	14,29
<i>S. guaraniticum</i>	21,74	13,04	<b>17,39</b>	17,39	17,39	13,04
<i>S. melongena</i>	0	5,88	35,29	<b>17,65</b>	29,41	11,76
<i>S. sisymbriifolium</i>	0	4,35	17,39	30,43	<b>39,13</b>	0
<i>S. viarum</i>	4,35	21,74	4,35	4,35	26,09	<b>39,13</b>
Élitro esquerdo						
<i>S. aculeatissimum</i>	<b>46,15</b>	7,69	23,08	7,69	0	15,38
<i>S. atropurpureum</i>	14,29	<b>28,57</b>	7,14	21,43	21,43	7,14
<i>S. guaraniticum</i>	34,78	8,70	<b>39,13</b>	4,35	4,35	8,70
<i>S. melongena</i>	11,76	17,65	5,88	<b>29,41</b>	23,53	11,76
<i>S. sisymbriifolium</i>	8,70	13,04	0	26,09	<b>34,78</b>	17,39
<i>S. viarum</i>	8,70	13,04	8,70	8,70	26,09	<b>34,78</b>
Asa posterior direita						
<i>S. aculeatissimum</i>	<b>25,00</b>	25,00	8,33	16,67	8,33	16,67
<i>S. atropurpureum</i>	14,29	<b>35,71</b>	0	35,71	7,14	7,14
<i>S. guaraniticum</i>	4,35	4,35	<b>56,52</b>	21,74	8,70	4,35
<i>S. melongena</i>	12,50	18,75	6,25	<b>18,75</b>	31,25	12,50
<i>S. sisymbriifolium</i>	4,55	13,64	18,18	18,18	<b>31,82</b>	13,64
<i>S. viarum</i>	0	15,00	10,00	5,00	20,00	<b>50,00</b>
Asa posterior esquerda						
<i>S. aculeatissimum</i>	<b>41,67</b>	8,33	25,00	0	8,33	16,67
<i>S. atropurpureum</i>	7,14	<b>50,00</b>	0	21,43	21,43	0
<i>S. guaraniticum</i>	8,70	8,70	<b>47,83</b>	4,35	26,09	4,35
<i>S. melongena</i>	0	18,75	12,50	<b>37,50</b>	18,75	12,50
<i>S. sisymbriifolium</i>	9,09	9,09	13,64	18,18	<b>36,36</b>	13,64
<i>S. viarum</i>	10,00	15,00	15,00	5,00	25,00	<b>30,00</b>

mudança ambiental como a presença de uma nova planta hospedeira no lugar da usual ou mesmo como uma alternativa pode gerar fenótipos alternativos que podem ser mantidos ou eliminados por seleção (WEST-EBERHARD 2003, FUTUYMA 1986). *M. elatior* apresentou fenótipos modificados para a forma e tamanho dos élitros e asas posteriores, e tamanho da genitália masculina quando alimentadas de hospedeiras diferentes.

Os élitros direito e esquerdo de *M. elatior* apresentaram assimetria direcional em todas as plantas testadas, o que pode representar uma finalidade adaptativa desta característica, a qual deve ser testada e que, de acordo com nosso conhecimento ainda não foi noticiada, exceto que há uma leve divergência na trajetória da região apical dos élitros encontradas em algumas famílias de Coleoptera (CROWSON 1981, KENNER 2008). Nesses insetos, o primeiro par de asas é diferenciado em élitros que tem a função protetora, encobrindo as asas posteriores e os espiráculos abdominais (CROWSON 1981), sendo que em alguns Cassidinae as margens são expandidas (CHABOO 2007). As asas posteriores são as grandes responsáveis pelo vôo nesta ordem e a assimetria foi observada nos adultos oriundos de *S. atropurpureum*, *S. sisymbriifolium* e *S. viarum*. A apresentação de estruturas simétricas é o fenótipo ideal para os organismos, visto que a simetria mantém o corpo em um equilíbrio estável; entretanto, a assimetria não necessariamente resulta em uma instabilidade, às vezes a norma pode ser contrária, ou seja, a assimetria (MOLLER & SWADDLE 1997). A assimetria direcional, avaliada neste trabalho, não vem sendo relatada como um eventual acidente durante a morfogênese e conseqüentemente instabilidade no desenvolvimento. Juntamente com a antissimetria tem sido interpretada em termos de assimetria adaptativa e

funcional (PÉLABON & HANSEN 2008). KLINGENBERG *et al.* (1998), por exemplo, encontrou uma assimetria direcional na forma das asas em três gêneros de Diptera e sugeriu que essa característica deve ser conservada evolutivamente e que provavelmente seja insuficiente para afetar a eficiência do voo.

As porcentagens explicadas pelos componentes principais e variáveis canônicas de maior variação da forma das asas posteriores não seguem o padrão observado para os élitros. O mesmo ocorre para os dados da validação cruzada, o que parece razoável, à medida que ao longo da evolução dos Coleoptera padrões diferenciados de seleção atuaram sobre estas estruturas, contribuindo para o estabelecimento de funções distintas desempenhadas por elas (CROWSON 1981, FÉDRIGO & WRAY 2009). Análises acerca da forma das asas posteriores de coleópteros Scarabaeinae, com enfoque filogenético, sugerem que as características das asas refletem a morfologia do corpo como um todo e que forças seletivas externas podem influenciar o desenvolvimento das asas em insetos (BAI *et al.* 2011).

Machos e fêmeas de *M. elatior* apresentaram dimorfismo quanto ao tamanho do centróide e forma dos élitros e asas posteriores. O dimorfismo sexual de tamanho é um fenômeno não raro entre animais e bastante conhecido para os insetos em direção e magnitude (STILLWELL *et al.* 2010). Em Coleoptera geralmente o macho é menor que a fêmea (BUZZI 2005) e, para Cassidinae, as fêmeas são de 10 a 20% maiores que os machos (JOLIVET 1999, CHABOO 2007). Comumente, os sexos respondem diferentemente a variações ambientais (BLANCKENHORN *et al.* 2006), mas esta tendência não foi encontrada por nós, visto que nas análises de variância uni- (tamanho do centróide) e multivariadas (forma) não houve interação entre os fatores sexo e

planta hospedeira. Para *M. elatior*, ambos os sexos responderam na mesma intensidade em relação ao tamanho e forma quando os imaturos foram criados em plantas hospedeiras distintas.

As plantas que conferiram maior performance, *S. aculeatissimum*, *S. atropurpureum* e *S. viarum* (Capítulo II) também conferiram maior tamanho do centróide para asas posteriores e élitros, corroborando as medidas do tamanho do corpo dos adultos e das pupas (Capítulo II). O tamanho é característica fundamental para os organismos e a origem de tamanhos diferentes implica no valor adaptativo, mecanismos comportamentais e fisiológicos (BLANCKENHORN 2009). A forma das asas posteriores dos adultos criados em *S. viarum* difere em relação aqueles oriundos de outras plantas, aproximando-se daquela originada quando alimentados por *S. aculeatissimum* na asa posterior esquerda, mas diferente das originadas por *S. atropurpureum*, *S. guaraniticum*, *S. melongenae* e *S. sisymbriifolium*. Para os élitros, os grupos com diferentes formas não são muito claramente distintos, apesar dos eixos de variação serem explicados em maior grau. As diferenças entre os padrões para asa direita e esquerda devem-se principalmente à assimetria encontrada. É de se supor que a forma encontrada para *S. viarum* e *S. aculeatissimum* é aquela que garante uma maior performance a *M. elatior*, o que foi abordado no Capítulo II e pode estar associada a características das plantas hospedeiras.

Miz *et al.* (2008) realizaram uma revisão sobre as relações filogenéticas de algumas espécies de *Solanum* do sul do Brasil, onde as plantas utilizadas no presente estudo estão organizadas em duas seções do subgênero *Leptostemonum*: 1) *Acanthophora*, que contém *S. atropurpureum* em, um clado irmão que abrange *S. aculeatissimum* e *S. viarum*, as quais são espécies

irmãs, e 2) Torva, a qual pertence *S. guaraniticum* e está estreitamente relacionada a *S. melongena* e *S. sisymbriifolium*, que pertencem a outra sessão potencialmente um grupo irmão da seção Torva (LEVIN *et al.* 2006, POCZAI *et al.* 2008). Esses dados complementam os resultados aqui obtidos no sentido de que aproximam quanto ao tamanho (centróide) e forma das asas posteriores e élitros os indivíduos criados em plantas mais próximas filogeneticamente.

Quanto às deformações encontradas na análise de componentes principais do edeago podemos observar certa variação na forma, mas não relacionada com a planta hospedeira durante o estágio larval. Entretanto, o tamanho do centróide do edeago foi diferente quando machos oriundos de *S. viarum* foram comparados aos machos de hospedeiras menos usuais, tais como *S. melongena* e *S. guaraniticum*. EBERHARD *et al.* (1998) encontraram valores baixos relacionados à alometria da genitália, associada à seleção sexual, em comparação a outras estruturas corporais medidas sujeitas principalmente a seleção natural (cabeça, tórax, pernas), sugerindo um baixo potencial para variação desta característica. No entanto, os autores salientam que os baixos valores alométricos e divergência rápida não são fenômenos incompatíveis, sugerindo que medidas concentradas em aspectos específicos de uma espécie podem revelar diferentes alometrias; ou seja, taxas de crescimento em diferentes proporções. Nós confirmamos que variando a dieta, o tamanho do edeago em *M. elatior* se altera no curto espaço de tempo de apenas uma geração.

Para um inseto herbívoro imaturo a planta hospedeira é fundamental durante o seu desenvolvimento em termos de acesso ao alimento e nutrição. Para os adultos de *M. elatior*, o que é consumido pelos imaturos traz



conseqüências para o tamanho e a forma de estruturas corporais. Esta variação fenotípica induzida pelo ambiente (tipo de alimento) assume cada vez mais um papel importante nas teorias evolutivas principalmente enfatizando a rápida adaptação dos indivíduos dentro do seu curto tempo de vida, não somente ao longo de gerações. A importância desses processos deve ser levada em conta principalmente no sentido de medir conseqüências na história de vida e possível manutenção das características adquiridas em futuras gerações. Ou seja, resta saber em que grau tais características são herdadas e/ou associadas à plasticidade fenotípica correspondente (WEST-EBERHARD 2003, FRANKINO & RAFF 2004).

#### 4.5. Referências

- BAI, M.; E. MCCULLOUGH; K. SONG, W. LIU AND X. YANG. 2011. Evolutionary constraints in hind wing shape in chinese dung beetles (Coleoptera: Scarabaeinae). **Public Library of Science One** 6(6): 1-12.
- BLANCKENHORN, W.U.; R.C. STILLWELL; K.A. YOUNG; C.W. FOX & K.G. ASHTON. 2006. When Rensh meets Bergmann: does sexual size dimorphism change systematically with latitude? **Evolution** 60(10): 2004-2011.
- BLANCKENHORN, W.U. 2009. Causes and consequences of phenotypic plasticity in body size: the case of the yellow dung fly *Scathophaga stercoraria* (Diptera: Scathophagidae), p. 369-422. In: D.W. Whitman & T.N. Ananthakrishnan (Eds.). **Phenotypic Plasticity of Insects. Mechanisms and Consequences**. Enfield, Science Publishers, X+894p.
- BOOKSTEIN FL. 1991. **Morphometric tools for landmark data**. Cambridge, Cambridge University Press, 435p.
- BOOKSTEIN, F.L. 1997. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. **Medical Image Analysis** 1(3): 225–243.

- BUZZI, Z.J. 2005. **Entomologia Didática**, 4th ed. Curitiba, Editora UFPR, 347p.
- CHABOO, C.S. 2007. Biology and phylogeny of the Cassidinae Gyllenhal *sensu lato* (Tortoise and Leaf-mining beetles) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Bulletin of the American Museum of Natural History** **305**: 1-250.
- CROWSON, R.A. 1981. **The biology of the Coleoptera**. London, Academic Press Inc., XII+802p.
- EBERHARD, W.G.; B.A. HUBER; R.L.S. RODRIGUEZ; R.D. BRICENO; I. SALAS & V. RODRIGUEZ. 1998. One size fits all? Relationships between the size and degree of variation in genitalia and other body parts in twenty species of insects and spiders. **Evolution** **52**(2): 415-431.
- FÉDRIGO, O. & G.A. WRAY. 2009. Developmental evolution: how beetles evolved their shields. **Current Biology** **20**(2): 64-66.
- FRANKINO, W.A. & E.A. RAFF. 2004. Evolutionary Importance and Pattern of Phenotypic Plasticity, p. 64-81. In: T.J. DeWitt & S. M. Scheiner (Eds.). **Phenotypic Plasticity: Functional and Conceptual Approaches**. New York, Oxford University Press, VII+247p.
- FUTUYMA, D.J. 1986. **Evolutionary Biology**, 2nd ed. Sunderland, Sinauer Associates, VII+631p.
- HILL, M.P. & P.E. HULLEY. 1996. Suitability of *Metritona elatior* (Klug) (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) as a biological control agent for *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae). **African Entomology** **4**: 117-123.
- JOLIVET, P. 1999. Sexual behavior among Chrysomelidae, p. 391–409. In: M.L. Cox (Ed.). **Advances in Chrysomelidae Biology**, vol. 1. Leiden, Backhuys Publishers, XII+691p.
- JORGE, L.R.; CORDEIRO-ESTRELA, P.; KLACZKO, L.B.; MOREIRA, G.R.P. & A.V.L. FREITAS. 2011. Host-plant dependent wing phenotypic variation in the neotropical butterfly *Heliconius erato*. **Biological Journal of the Linnean Society** **102**(4): 765–774.

- KENNER, R.D. 2008. Asymmetry of the sutural margins of elytra: implications for the generic classification of Halipidae (Coleoptera). **The Coleopterists Bulletin** **62**(4): 461-473.
- KLINGENBERG, C.P. 2010. Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. **Nature Reviews Genetics** **11**(9): 623–635
- KLINGENBERG, C.P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. **Molecular Ecology Resources** **11**(2): 353-357.
- KLINGENBERG, C.P. & G.S. MCINTYRE. 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. **Evolution** **52**(5): 1363–1375.
- KLINGENBERG, C.P.; M. BARLUENGA & A. MEYER. 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. **Evolution** **56**(10): 1909–1920.
- KLINGENBERG, C.P.; G.S. MCINTYRE & S.D. ZAKLAN. 1998. Left-right asymmetry of fly wings and the evolution of body axes. **Proceedings of the Royal Society B** **265**(1402): 1255-1259.
- LEVIN, R.A.; N.R. MYERS & L. BOHS. 2006. Phylogenetic relationships among the “spiny solanums” (*Solanum* Subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). **American Journal of Botany** **93**(1): 157-169
- LIMA, A.M.A.; G.A. DA SILVA; C.R. GONÇALVES; D.M. GALVÃO; A.J.L. GONÇALVES; J. GOMES; M. DO N. SILVA; L. DE SIMONI. 1968. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores** t. 1, pt. 2. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Departamento de Defesa e Inspeção Agropecuária, 906p.
- MEDAL, J.C.; R.A. PITELLI; A. SANTANA; D. GANDOLFO; R. GRAVENA & D.H. HABECK. 1999. Host specificity of *Metritona elatior*, a potential biological control agent of tropical soda apple, *Solanum viarum*, in the USA. **BioControl** **44**(4): 421-436.

- MIZ, R.B.; L.A. MENTZ & T.T. SOUZA-CHIES. 2008. Overview of the phylogenetic relationships of some southern Brazilian species from section *Torva* and related sections of "spiny *Solanum*" (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). **Genetica** **132**(2): 143-158.
- MOLLER, A.P. & J.P. SWADDLE. 1997. **Asymmetry, Developmental Stability, and Evolution**. New York, Oxford University Press, XI+291p.
- MOCZEC, A.P. 2009. Phenotypic plasticity and the origins of diversity: a case study on horned beetles, p. 81-134. In: D.W. Whitman & T.N. Ananthakrishnan (Eds.). In: **Phenotypic Plasticity of Insects. Mechanisms and Consequences**. Enfield, Science Publishers, X+894p.
- MOZAFFARIAN, F.; A. SARAFRAZI & G.N. GANBALANI. 2007. Host plant-associated population variation in the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Iran: A geometric morphometric analysis suggests a nutritional basis. **Journal of Insect Science** **7**(2): 1-11.
- NYLIN, S. & N. JANZ. 2009. Butterfly host plant range: an example of plasticity as a promoter of speciation? **Evolutionary Ecology** **23**(1): 137-146.
- PÉLABON, C. & T.F. HANSEN. 2008. On the adaptive accuracy of directional asymmetry in insect wing size. **Evolution** **62**(11): 2855-2867.
- POCZAI, P.; J. TALLER & I. SZABÓ. 2008. Analysis of phylogenetic relationships in the genus *Solanum* (Solanaceae) as revealed by RAPD markers. **Plant Systematics and Evolution** **275**(1-2): 59-67.
- ROHLF, F.J. 2007. **TPSRelative warps 1.45**. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, NY
- ROHLF, F.J. 2010. **TPSDig 2.16**. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, NY
- ROHLF, F.J. 2010. **TPSUtil 1.46**. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, NY.
- ROHLF, F.J. & L.F. MARCUS 1993. A revolution in morphometrics. **Trends in**

**Ecology and Evolution** 8(4): 128-132.

SCHAEFER, K. & F.L. BOOKSTEIN. 2009. Does geometric morphometrics serve the needs of plasticity research? **Journal of biosciences** 34(4): 589-599.

SOKAL, R.R. & F.J. ROHLF.1996. Biometry. **The principles and practice of statistics in biological research**. 3 ed. New York, W. H. Freeman and Company, XVII+887p.

SOTO, I.M., E.R. HASSON& M.H. MANFRIN. 2008. Wing morphology is related to host plants in cactophilic *Drosophila gouveai* and *Drosophila antonietae* (Diptera, Drosophilidae). **Biological Journal of the Linnean Society** 95(4): 655-665.

STILLWELL, R. C., W. U. BLANCKENHORN, T. TEDER, G. DAVIDOWITZ & C. W. FOX. 2010. Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution. **Annual Review of Entomology** 55: 227-245

West-Eberhard, M.J. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. **Annual Review of Ecology and Systematics** 20: 249-278.

WEST-EBERHARD, M.J. 2003. **Developmental plasticity and evolution**. Oxford, Oxford University Press, XX+794p.

## 5. Considerações finais

O tempo empregado em diferentes atividades variou de acordo com a planta hospedeira e de acordo com o hábito alimentar de *G. spadicea* e *M. elatior*. As larvas de *M. elatior* (oligófaga) se alimentaram mais, caminharam mais e repousaram menos que as larvas de *G. spadicea* (monófaga) em todas as plantas exceto *S. sisymbriifolium*.

A remoção de tricomas implica em um gasto energético necessário antes da alimentação. Dentre as espécies de Cassidinae estudadas há uma variação no tempo empregado nessa atividade o que deve estar relacionado ao hábito monófago / oligófago. Além disso, há variação no tempo na remoção de tricomas entre as plantas que está relacionado ao fato das mesmas apresentarem diferentes densidades destes.

Os dados sobre a quantidade, duração e intervalos das refeições e sobre como o tempo é empregado ao longo do crescimento larval também indicam que a alta especificidade de *G. spadicea* parece ser vantajosa para esse organismo quando sobre *S. sisymbriifolium*. Entretanto, a plasticidade comportamental de *M. elatior* lhe confere maiores opções quanto ao número de hospedeiras, com alguns custos, medidos aqui pelo tempo na remoção de barreiras físicas (tricomas), mas não restringindo a sua ocorrência a uma única planta hospedeira.

Verificamos que a plasticidade detectada para *M. elatior* traz conseqüências em termos de performance (sobrevivência, tamanho e tempo de desenvolvimento) e preferência (consumo foliar e oviposição). A maior performance foi detectada para as larvas mantidas em *S. aculeatissimum*, *S.*

*atropurpureum* e *S. viarum*. Em testes sem chance de escolha, as larvas de primeiro instar consumiram menor área foliar em *S. guaraniticum* em detrimento as demais plantas e nos testes de escolha múltipla não houve preferência. Quando criadas sobre folhas de *S. aculeatissimum* e *S. atropurpureum*, as larvas de quinto instar consumiram maior área foliar destas plantas em relação às demais. As fêmeas ovipositaram em maior grau sobre *S. atropurpureum*, uma daquelas plantas em que a performance e o consumo foliar foram maiores, indicando que há uma correlação entre esses resultados; exceto em *S. viarum*, planta na qual a performance é alta, mas o consumo foliar e a escolha para oviposição pelas fêmeas não.

Ainda, detectamos que a alimentação em diferentes plantas hospedeiras por larvas de *M. elatior* leva a conseqüências diferentes para a forma e tamanho dos élitros e asas posteriores, e tamanho do edeago. Assim, a planta hospedeira é um fator ambiental que promove diferentes fenótipos (plasticidade fenotípica). Em adição, verificamos que os adultos apresentam assimetria na sua forma, e machos e fêmeas apresentam dimorfismo sexual na forma e tamanho do centróide.

Em suma, os atributos das plantas hospedeiras interferem no comportamento das larvas (barreiras pré-ingestivas) (Capítulo I) e influenciam na performance (barreiras pós-ingestivas) (Capítulo II) e podem trazer conseqüências para a forma e tamanho de estruturas corporais dos adultos, que são importantes evolutivamente no contexto da seleção natural (vôo) e sexual (genitália) (Capítulo III).

## **6. Anexos**

Normas da revista Zoologia, para a qual foi formatada a tese.



## Zoologia

Escopo. ZOOLOGIA, periódico científico da Sociedade Brasileira de Zoologia (SBZ), publica artigos originais em Zoologia, de autoria de membros e não-membros da Sociedade. Os manuscritos devem ter caráter científico. A priori não são aceitos para publicação: notas simples sobre ocorrência, novos registros (e.g. geográficos, hospedeiros), notas sobre distribuição, estudos de casos, lista de espécies e estudos similares meramente descritivos, a não ser que bem justificados pelos autores. Justificativas devem ser enviadas ao Editor-Chefe antes da submissão. Comunicações breves podem ser consideradas. Artigos de revisão somente quando solicitados. Os manuscritos são analisados por no mínimo dois revisores ad hoc e a decisão de aceite para publicação pauta-se nas recomendações dos editores de seção e revisores ad hoc.

Responsabilidade. Manuscritos são submetidos à ZOOLOGIA com o entendimento que: 1) todos os autores aprovaram a submissão; 2) os resultados ou opiniões contidas são originais; 3) o manuscrito não foi publicado anteriormente, não está sendo considerado para publicação por outra revista e não será enviado a outra revista, a menos que tenha sido rejeitado por ZOOLOGIA ou retirado do processo editorial por notificação por escrito do Editor-Chefe; 4) foram preparados de acordo com as Instruções aos Autores; 5) se aceito para publicação e publicado, o artigo ou parte deste, não será publicado em outro lugar a menos que haja consentimento por escrito do Editor-Chefe; 6) a reprodução e uso de artigos publicados em ZOOLOGIA é permitido para comprovados fins educacionais e não-comerciais. Todos os demais usos requerem consentimento e taxas serão aplicadas quando apropriado; 7) os custos para publicação por páginas e de revisão de texto são aceitas pelos autores; 8) os autores são inteiramente responsáveis pelo conteúdo científico e gramatical do artigo; 9) os autores concordam com taxas adicionais associadas à revisão de língua inglesa, se considerada necessária.

Idioma. O manuscrito deve ser redigido exclusivamente em inglês. Para não causar atrasos na publicação, sugerimos que, antes de submetido, seja revisado preferencialmente por especialista da área que tenha o inglês como primeira língua. Após recomendação para publicação, será revisado pela editoria em língua inglesa e poderá ser solicitada revisão final de idioma.

Seções. Sistemática e evolução, Taxonomia e nomenclatura, Biogeografia, Morfologia e fisiologia, Biologia, Ecologia, Simbiose, Conservação, Comportamento, Genética, Zoologia aplicada, Aqüicultura e pesca.

Taxas. Membros da SBZ são isentos de taxas de publicação, no entanto, para não-membros é exigido pagamento por página publicada, conforme indicado em lista de preços publicadas no site da Sociedade ([www.sbzoologia.org.br](http://www.sbzoologia.org.br)).

Submissão. Somente serão aceitas submissões eletrônicas, através do seguinte endereço: <http://submission.scielo.br/index.php/rbzool/index>. Por meio desse sistema de submissão, você pode submeter o manuscrito e acompanhar o status do mesmo durante todo o processo editorial. Garantindo rapidez e segurança na submissão do seu manuscrito e agilizando o processo de avaliação. Caso encontre alguma dificuldade com o sistema, existem vários tutoriais no site da Sociedade Brasileira de Zoologia que poderão auxiliar os autores. O manuscrito deverá ser preparado de acordo com as Orientações aos Autores.

Ao encaminhar um manuscrito para a revista, os autores devem estar cientes de que, se aprovado para publicação, o copyright do artigo, incluindo os direitos de reprodução em todas as mídias e formatos, será concedido exclusivamente para a Sociedade Brasileira

de Zoologia. A revista não recusará as solicitações legítimas dos autores para reproduzir seus trabalhos.

Para mais informações sobre o formato e o estilo da revista, favor consultar um número recente da Revista ou o site da Revista em [www.sbzoologia.org.br](http://www.sbzoologia.org.br). Informações adicionais podem ser obtidas com a editoria científica através do e-mail [sbz@sbzoologia.org.br](mailto:sbz@sbzoologia.org.br).

Forma e preparação de manuscrito

#### ORIENTAÇÕES GERAIS

ZOOLOGIA, periódico científico da Sociedade Brasileira de Zoologia (SBZ), publica artigos originais em Zoologia, de autoria de sócios e não-sócios da Sociedade. Membros da SBZ podem publicar sem taxas, no entanto, para não-sócios é requerido o pagamento de taxa por página publicada, conforme indicado em lista atualizada disponível na página eletrônica da Sociedade (<http://www.sbzoologia.org.br>).

Manuscritos devem ser preparados somente em inglês. A submissão de manuscritos para ZOOLOGIA está disponível somente através do endereço <http://submission.scielo.br/index.php/rbzool/index>. O sistema de submissão é amigável e permite aos autores monitorar o trâmite de publicação. Caso encontre alguma dificuldade para utilização do sistema, existem vários tutoriais no site da SBZ que o auxiliarão. Todos os documentos devem ser preparados através de programa um editor de textos (preferencialmente MS Word ou compatível).

ZOOLOGIA não publicará notas simples de ocorrência, novos registros (e.g. geográfico, hospedeiro), nota de distribuição, estudos de caso, lista de espécies e estudos similares meramente descritivos, a não ser que bem justificados pelos autores. Justificativas devem ser enviadas ao Editor-Chefe antes da submissão.

#### RESPONSABILIDADE

Manuscritos são recebidos por ZOOLOGIA com o entendimento que:

- todos os autores aprovaram a submissão;
- os resultados ou idéias contidas são originais;
- o manuscrito não foi publicado anteriormente, não está sendo considerado para publicação por outra revista e não será enviado a outra revista, a menos que tenha sido rejeitado por ZOOLOGIA ou retirado do processo editorial por notificação por escrito do Editor-Chefe;
- foram preparados de acordo com estas Instruções aos Autores;
- se aceito para publicação e publicado, o artigo ou parte deste, não será publicado em outro lugar a menos que haja consentimento por escrito do Editor-Chefe;
- a reprodução e uso de artigos publicados em ZOOLOGIA é permitido para comprovados fins educacionais e não-comerciais. Todos os demais usos requerem consentimento e taxas serão aplicadas quando apropriado; – os custos para publicação por páginas e de revisão de texto são aceitos pelos autores;
- os autores são inteiramente responsáveis pelo conteúdo científico e gramatical do artigo;
- os autores concordam com possíveis taxas adicionais associadas à revisão de língua inglesa, se considerada necessária.

#### FORMAS DE PUBLICAÇÃO

Artigos: artigos originais em todas as áreas da Zoologia.

Comunicações Breves: esta forma de publicação representa sucinta e definitiva informação (opondo-se a resultados preliminares) que não proporcione sua inclusão em um típico, mais abrangente artigo. Uma técnica nova ou modificada pode ser

apresentada com uma nota de pesquisa somente se a técnica não utilizada em estudos em andamento. Geralmente, técnicas são incorporadas na seção Material e Métodos de um artigo formal.

Artigos de Revisão: somente são publicadas revisões sob convite. Revisões não solicitadas não devem ser submetidas, no entanto, tópicos podem ser sugeridos ao editor ou membros do corpo editorial.

Opinião: cartas ao editor, comentários sobre outras publicações ou opiniões, visões gerais e outros textos que caracterizem-se como opinião de um ou um grupo de cientistas.

Resenha de Livros: livros que possuam amplo interesse para os membros da Sociedade serão resenhados sob convite.

Biografias Curtas: biografia de importantes zoólogos com significativa contribuição para o conhecimento da Zoologia.

## MANUSCRITOS

O texto de ser justificado à esquerda e páginas e linhas devem ser numeradas. Utilize fonte Times New Roman tamanho 12. A primeira página deve incluir: 1) o título do artigo incluindo o nome(s) da(s) maior(es) categoria(s) taxonômica(s) do(s) animal(ais) tratado(s); 2) o nome(s) do(s) autor(es) com sua afiliação profissional, somente com o propósito de correspondências, afiliações adicionais devem ser incluídas na seção Agradecimentos; 3) nome do autor correspondente com endereço completo para correspondência, incluindo e-mail; 4) um resumo em inglês; 5) até cinco palavras-chave em inglês, listadas em ordem alfabética e diferentes daquelas utilizadas no título. A informação total dos itens 1 a 5 não devem exceder 3,500 caracteres incluindo espaços, exceto se autorizado pelo Editor-Chefe.

Citações bibliográficas devem ser digitadas em caixa alta reduzida (versalete), como indicado: Smith (1990), (Smith 1990), Smith (1990: 128), Smith (1990, 1995), Lent & Jurberg (1965), Guimarães et al. (1983). Artigos de um mesmo autor ou seqüências de citações devem ser em ordem cronológica.

Somente nomes de gêneros e espécies devem ser digitados em itálico. A primeira citação de um táxon animal ou vegetal deve ser acompanhado pelo nome do autor, data (de plantas se possível) e família, seguindo a padronização determinada pelo Código Internacional de Nomenclatura Zoológica.

O manuscrito de artigos científicos deve ser organizado como indicado abaixo. Outras seções e subdivisões são possíveis mas o Editor-Chefe e Corpo Editorial deverão aceitar o esquema proposto.

### Artigos e Revisões Solicitadas

Título. Evite verbosidades tais como "estudos preliminares sobre...", "aspectos de..." e "biologia ou ecologia de...". No título, não utilize citações de autor e data em nomes científicos. Quando nomes de táxons forem mencionados no título, deverão ser seguidos pela indicação de categorias superiores entre parênteses.

Resumo. O resumo deve ser relativo aos fatos (contraoando-se a indicativo) e deve delinear os objetivos, métodos usados, conclusões e significância do estudo. O texto do resumo não deve ser subdividido nem conter citações bibliográficas (exceções serão analisadas pelos editores). deve constituir-se em um único parágrafo.

Palavras-chave. Utilizar até cinco palavras-chave em inglês, dispostas em ordem alfabética, diferentes daquelas contidas no título e devem ser separadas por ponto e vírgula. Evite o uso de expressões compostas.

Introdução. A introdução deve estabelecer o contexto do documento expressando a área de interesse geral, apresentando resultados de outros que serão contestados ou

expandidos e descrevendo a questão específica a ser abordada. Explicações de trabalho anterior devem ser limitadas ao mínimo de elementos necessários para dar uma perspectiva adequada. A introdução não deve ser subdividida.

**Material e Métodos.** Esta seção deve ser curta e concisa. Deve fornecer informação suficiente que permita a repetição do estudo por outros. Técnicas padronizadas ou previamente publicadas podem ser referenciadas, mas não detalhadas. Se a seção Material e Métodos for curta, não deve ser subdividida. Evite extensiva divisão em parágrafos.

**Resultados.** Esta seção deve restringir-se concisamente sobre novas informações. Tabelas e figuras devem ser utilizados apropriadamente, mas as informações apresentadas nelas não devem ser repetidas no texto. Evite detalhamento de métodos e interpretação dos resultados nesta seção.

Trabalhos taxonômicos têm um estilo distinto que deve ser considerado na elaboração do manuscrito. Em artigos taxonômicos a seção Resultados é substituída pela seção denominada TAXONOMIA, iniciando na margem esquerda. A descrição ou redescrição de espécies é acompanhada por um resumo taxonômico. A seção resumo taxonômico compreende uma lista de sítios, localidade e espécimes depositados (com os respectivos números de depósito em coleções científicas). A citação apropriada segue a seqüência e o formato: País, Província ou Estado: Cidade ou Região (localidades menores, redondezas e outros, latitude, longitude, todos entre parênteses), número de espécimes, sexo (se aplicável), data de coleta, coletor seguido pela palavra leg., número de coleção. Este é um padrão geral que pode ser adaptado para diferentes situações e grupos. Inúmeros exemplos podem ser encontrados em fascículos anteriores de ZOOLOGIA. O resumo taxonômico é seguido pela seção comentários (Comentários). Os comentários substituem a discussão de outros tipos de artigos e fornecem comparações com taxa similares. São exigidos números de registro em coleções científicas para material-tipo (novos taxa) e para espécimes testemunha. Espécimes tipo, especialmente holótipos (sintipos, cótipos), não devem ser depositados em coleções particulares. Material fotográfico adequado deve ser depositado, se necessário. Para tecidos congelados também deve ser informado números de registro se depositados em um museu.

**Discussão.** Interpretação e explanação da relação entre resultados obtidos e o conhecimento atual deve existir na seção Discussão. Deve ser dada ênfase sobre novos achados importantes. Novas hipóteses devem ser claramente identificadas. Conclusões devem ser suportadas por fatos ou dados. Subdivisões são possíveis. Uma seção Conclusão não é permitida em Zoologia.

**Agradecimentos.** Devem ser concisos. A ética requer que colegas sejam consultados antes que seus nomes sejam citados pelo seu auxílio no estudo.

**Literatura Citada.** Citações são ordenadas alfabeticamente. Todas as referências citadas no texto devem ser incluídas na seção Literatura Citada e todos os itens nesta seção devem ser citados no texto. Citação de estudos não publicados ou relatórios não são permitidas. Volume e número de páginas devem estar disponíveis para periódicos. Cidade, editora e paginação total para livros. Resumos não sujeitos ao processo de avaliação por pares não devem ser citados. Trabalhos podem ser citados excepcionalmente como "no prelo" somente até o estágio de revisão de texto, quando a referência deverá ser completada ou suprimida caso não ainda tenha sido publicada. Se absolutamente necessário, um relato pode ser documentado no texto do manuscrito como "pers. comm.", alertando a pessoa citada que sua comunicação pessoal será transcrita em seu artigo. Comunicações pessoais não deverão ser incluídas na seção Literatura Citada. As referências citadas no texto devem ser listadas no final do

manuscrito, de acordo com os exemplos abaixo. O título de cada periódico deve ser completo e sem abreviações.

#### Periódicos

Sempre que disponível, inclua o DOI (Digital Object Identifier) como demonstrado abaixo.

GUEDES, D.; R.J. YOUNG & K.B. STRIER. 2008. Energetic costs of reproduction in female northern muriquis, *Brachyteles hypoxanthus* (Primates: Platyrrhini: Atelidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 25 (4): 587-593. doi: 10.1590/S0101-81752008000400002.

LENT, H. & J. JURBERG. 1980. Comentários sobre a genitália externa masculina em *Triatoma Laporte, 1832* (Hemiptera, Redu-viidae). *Revista Brasileira de Biologia* 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* 34 (1): 7-200.

#### Livros

HENNING, 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.

#### Páginas eletrônicas

MARINONI, L. 1997. *Sciomyzidae*. In: A. Solis (Ed.). *Las Familias de insectos de Costa Rica*. Available online at: <http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/texto630.html> [Accessed: date of access].

Ilustrações. Fotografias, desenhos, gráficos e mapas devem ser designados como figuras. Fotos devem ser nítidas e possuir bom contraste. Por favor, sempre que possível, organize os desenhos (incluindo gráficos, se for o caso) como pranchas de figuras ou fotos, considerando o tamanho da página da revista. O tamanho de uma ilustração, se necessário, deve ser indicado utilizando-se barras de escala verticais ou horizontais (nunca utilize aumento na legenda). Cada figura deve ser numerada com algarismos arábicos no canto inferior direito. Ao preparar as ilustrações, os autores devem ter em mente que o tamanho do espelho da revista é de 17,0 por 21,0 cm e da coluna é de 8,3 por 21,0 cm, devendo ser reservado espaço para legendas e também devendo haver proporcionalidade a estas dimensões. Figuras devem ser citadas no texto em seqüência numeral. Para propósitos de revisão, todas as figuras devem ser inseridas no final do texto, após a seção Literatura Citada ou após as tabelas caso existam. Os autores devem estar cientes que, se aceito para publicação em *ZOOLOGIA*, todas as figuras e gráficos deverão ser enviados ao editor com qualidade adequada (ver abaixo). Ilustrações devem ser salvas em formato TIF com modo de compressão LZW e enviados arquivos separados. A resolução final é de 600 dpi para ilustrações em preto e branco e de 300 dpi para as coloridas. Os arquivos de ilustrações devem ser inseridos no sistema de submissão como arquivos suplementares. O upload é limitado a 10 MB por arquivo. Figuras coloridas podem ser publicadas desde que o custo adicional seja assumido pelos autores. Alternativamente, os autores podem escolher por publicar ilustrações em preto e branco na versão impressa da revista e mantê-las em cores na versão eletrônica sem custo adicional. Independentemente da escolha, estas figuras devem ser incorporadas, em baixa resolução mas com boa qualidade, diretamente no manuscrito somente para os fins de revisão. Cada figura ou conjunto de figuras sob a mesma legenda (prancha), deve ser incluída no final do manuscrito, em páginas separadas. Legendas das figuras devem ser posicionadas logo após a seção Literatura

Citada. Use parágrafos separados para cada legenda de figura ou grupo de figuras. Observe publicações anteriores e siga o padrão adotado para legendas.

Tabelas. Tabelas devem ser geradas pela função de tabelas do processador de texto utilizado, são numeradas com algarismos romanos e devem ser inseridas após a lista de legendas de figuras. Não utilize marcas de parágrafo no interior das células da tabela. Legendas devem ser inseridas imediatamente antes de cada tabela.

#### Comunicações Breves

Manuscritos devem ser organizados de maneira similar aos artigos originais com as seguintes modificações.

Texto. O texto de um nota científica (i.e. Introdução + Material e Métodos + Discussão) é escrito diretamente, sem divisão em seções. Agradecimentos podem ser fornecidos, sem cabeçalho, como o último parágrafo do texto. A literatura deve ser citada no texto como descrito para artigos.

Literatura Citada, legendas de figuras, tabelas e figuras. Estes itens seguem a forma e seqüência descrita para artigos.

#### Opinião

Título. Basta fornecer um título para a opinião.

Text. Deve ser conciso, objetivo e sem figuras (a menos que seja absolutamente necessário).

Nome e endereço do autor. Esta informação segue o texto ou a seção Literatura Citada, caso esta exista. O nome do revisor deve estar em negrito.

#### Resenhas de Livros

Título. Fornecer o título do livro como indicado abaixo:

Toxoplasmosis of Animals and Man, by J.P. Dubey & C.P. Beattie. 1988. Boca Raton, CRC Press, 220p.

As palavras "edited by" são substituídas por "by" quando apropriado.

Texto. O texto geralmente não é subdividido. Caso seja necessário citar literatura, a seção Literatura Citada deverá ser incluída e seguir o mesmo estilo adotado para artigos. Figuras e tabelas não devem ser utilizadas.

Nome e endereço do autor. Esta informação segue o texto ou a seção literatura citada, caso presente. O nome do revisor deve ser digitado em negrito.

#### Biografias

Título. O título inicia-se com o nome da pessoa cuja biografia está sendo escrita, em negrito, seguido pela data de aniversário ou morte (se for o caso), entre parênteses. Por exemplo:

Lauro Travassos (1890-1970)

Texto. O texto usualmente não é subdividido. Caso seja necessário citar literatura, a seção Literatura Citada deverá ser incluída e seguir o mesmo estilo adotado para artigos. Figuras e tabelas não devem ser utilizadas.

Nome e endereço do autor. Esta informação segue o texto ou a seção literatura citada, caso presente. O nome do revisor deve ser digitado em negrito.

#### PROCEDIMENTOS

Manuscritos submetidos à ZOOLOGIA serão inicialmente avaliados pelos editores Chefe e Assistente quanto a adequação e para determinação da área específica. Um primeira avaliação da língua inglesa é efetuada neste momento. Manuscritos com

problemas serão retornados aos autores. Uma vez que a área específica seja determinada/confirmada, o manuscrito é enviado, pelo Editor-Chefe, ao Editor de Seção apropriado. O Editor de Seção encaminha o manuscrito para os Revisores, no mínimo dois. Cópias do manuscrito com os comentários dos revisores e a decisão do Editor de Seção, serão retornados para o Autor correspondente para avaliação. Os autores terão até 30 dias para responder ou cumprir a revisão e retornar a versão revisada do manuscrito para a seção adequada no sistema eletrônico de submissão. Uma vez aprovado, o manuscrito original, os comentários dos revisores, os comentários do Editor de Seção, juntamente com a versão corrigida e os respectivos arquivos de figuras, devidamente identificados, são retornados ao Editor-Chefe. Excepcionalmente, o Editor-Chefe pode, após consulta aos editores de seção, modificar a recomendação dos Revisores e Editor de Seção, com base em justificativa adequada. Alterações a posteriori ou adições poderão ser recusadas. Uma versão de revisão do manuscrito será enviada aos autores para apreciação final. Este representa o último momento para alterações substanciais, desde que devidamente justificadas. A próxima etapa é restrita a correções tipográficas e de formatação. Provas eletrônicas serão submetidas ao Autor correspondente para apreciação antes da publicação.

#### SEPARATAS

O Autor correspondente receberá arquivo eletrônico (no formato PDF) do artigo após sua publicação. Autores poderão imprimir o arquivo e distribuir cópias impressas de seu artigo conforme sua necessidade. Autores também poderão distribuir eletronicamente o arquivo para terceiros, da mesma maneira. Entretanto, solicitamos que os arquivos PDF não sejam distribuídos através de grupos de discussão ou sistemas de envio de mensagens em massa (não faça SPAM). É importante para a revista ZOOLOGIA que os usuários visitem a página eletrônica do periódico na Scientific Electronic Library Online (SciELO) e acessem os artigos publicados para fins estatísticos. Atuando desta maneira, você estará auxiliando o incremento dos índices de qualidade de ZOOLOGIA.

#### ESPÉCIMES TESTEMUNHA E TIPOS

Os manuscritos devem informar os museus ou instituições onde os espécimes (tipos ou testemunha) estão depositados e seus respectivos números de depósito.

#### Envio de manuscritos

Somente serão aceitas submissões eletrônicas, através do seguinte endereço: <http://submission.scielo.br/index.php/rbzool/index>.