



**DANIELA RODRIGUES**

**DESCRIÇÃO, TRAJETÓRIAS ONTOGENÉTICAS DE *Holymenia clavigera*  
(Herbst, 1784) E *Anisoscelis foliacea marginella* (Dallas, 1852)  
(HEMIPTERA: COREIDAE) E INTERAÇÃO COM TRÊS ESPÉCIES DE  
PASSIFLORACEAE**

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 Ciências.

Área de Concentração: Morfologia e Comportamento de Insetos  
Orientador: Prof. Dr. Gilson R. P. Moreira

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PORTO ALEGRE  
2003

DESCRIÇÃO, TRAJETÓRIAS ONTOGENÉTICAS DE *Holymeria clavigera*  
(Herbst, 1784) E *Anisoscelis foliacea marginella* (Dallas, 1852) (HEMIPTERA:  
COREIDAE) E INTERAÇÃO COM TRÊS ESPÉCIES DE PASSIFLORACEAE

**DANIELA RODRIGUES**

Aprovada em \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

---

Prof. Dr. Carlos R. Fonseca (UNISINOS)

---

Prof. Dr. Gilberto S. Albuquerque (UENF)

---

Profa. Dra. Jocélia Grazia (UFRGS)

---

Prof. Dr. Milton Mendonça Jr. (UFRGS)

---

Prof. Dr. Gilson R. P. Moreira (UFRGS)  
(orientador)

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho é fruto de diversas colaborações e ajudas indispensáveis, as quais eu gostaria de externar a minha gratidão pela solidariedade de todos. Porém, nada relativo a este trabalho resultaria no que tornou-se sem a importante orientação do Professor Gilson R.P. Moreira, a quem eu gostaria de primeiramente agradecer a confiança em empreender estes quatro anos em um sistema até então desconhecido. Seu companheirismo, incentivo, apoio, conhecimento e participação em todas as fases foram imprescindíveis para a construção da presente tese.

Agradeço aos Professores José A.M. Fernandes e Jocélia Grazia pela identificação das espécies, fornecimento de literatura sobre Hemiptera e auxílio na nomenclatura para a descrição das espécies. Aos colegas dos laboratórios de Entomologia Sistemática e Bio-Ecologia de Insetos, pela atenção com que me ajudaram em vários aspectos no decorrer desta pesquisa. Em especial, ao colega Cristiano F. Schwertner pelas discussões, troca de informações e literatura, bem como pelo importante auxílio na execução das fotos das tíbias dos coreídeos, dos frutos sugados e de *Passiflora edulis*.

A parte relativa ao desenvolvimento seria impossível sem a imensa ajuda da amiga e colega Daniela Sanfelice. Quero agradecê-la à oportunidade em dividir suas horas de estudo sobre heterocronia e desenvolvimento, o fornecimento de literatura, os cálculos e a orientação na parte de alometria multivariada, as muitas discussões verbais, eletrônicas e telefônicas, além do apoio e da amizade. Agradeço também ao Professor Leandro R. Monteiro (UNF) pela orientação no relativo à morfometria geométrica das tíbias.

A parte final deste trabalho não seria viável sem a idéia luminosa do colega Fernando S. Rocha, a quem agradeço pela importante monta de informações que foram então geradas. De fundamental importância foi a ajuda da Professora Rosy M. dos S. Isaias (UFMG) no ensino de técnicas em anatomia vegetal, sugestões quanto a métodos, auxílio na determinação de tecidos vegetais e pela oportunidade em estagiar no seu laboratório. Agradeço também à sua querida família e orientados pela hospitalidade e convivência no período referente ao estágio. Da mesma forma, o terno auxílio da amiga Camila G. dos Santos e da Professora Betina Blöchtein, do Laboratório de Histologia da PUC/RS, por viabilizarem a montagem e a confecção das lâminas histológicas. Igualmente, às técnicas Eliane de O. Borges e Circe Machado, pela assistência nas etapas preliminares em histologia. À Diana S. Sampaio pelo inestimável auxílio no que tange à determinação dos tecidos vegetais de *P. suberosa*. Ao João M.S. de Oliveira pela determinação das regiões dos frutos. Ao Leandro S. Duarte pela pronta ajuda referente ao cálculo multivariado da performance.

Ao Professor Geraldo L.G. Soares (UFJF) por sugerir o estudo de anatomia vegetal e por apresentar a professora Rosy. Também, pelos conselhos quanto à parte química dos frutos, pela análise de fenóis totais e antocianinas, pelo fornecimento de literatura correlata, além da disposição constante em ajudar.

Aos colegas de laboratório nestes quatro anos Andréia A. Guimarães, Dênis S. da Silva, Maria A.S. Pinheiro e Solange M. Kerpel. Em especial, aos amigos Lucas A. Kaminski pela pintura das ninfas em aquarela e sugestões na

confeção dos desenhos de *Holymenia* e *Anisoscelis*, e Rafael Dell'Erba pelas dicas e importante ajuda na montagem das pranchas. Ao Maurício Tavares pela execução de parte das fotografias. À companheira Mônica F. Acioli pelas várias contribuições cotidianas, em especial no planejamento e vivência da parte de campo, e por seus ensinamentos sobre a biologia reprodutiva dos maracujás. À grande parceira de coletas de *P. edulis*, *Holymenia* e cuidados com as câmaras, Vidica Bianchi. À indispensável Elisete A.B. Gauer pelo coleguismo e amizade diários e, dentre tantos feitos, por encaminhar os testes de pH dos frutos.

Ao Professor José F.R. Amato pela execução das fotografias dos ovos dos coreídeos e das folhas de *P. suberosa*. Aos professores Luiza R. Redaelli e Antônio R. Panizzi (UFPR) pelo fornecimento de literatura. Ao Michel E. Casali por auxiliar na análise do pH dos frutos. Às pessoas que me auxiliaram no referente à coleta de *Holymenia* e *Anisoscelis* em campo, Leonardo V. Mohr e Vinícius R. da Silva. À Fundação Zoobotânica do RS pela concessão à coleta de passifloráceas.

Ao Laboratório de Solos da UFRGS pelas análises elementares e de teor de água dos frutos. Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS, em especial às técnicas Francis F. Darsie e Moema Q. Vieira pelo auxílio e agradável convívio. A Cristine, Cassiano e Gabriel S. Moreira pelo gentil auxílio referente à parte de campo.

À Universidade do Arizona e a Michael S. Singer, Professores Yves Carrière e laboratório, Elizabeth A. Bernays e Reginald F. Chapman, pela oportunidade de desenvolver pesquisa associada que muito contribuiu com o presente estudo. Às pessoas que compartilharam informações e discussões acerca da geração, do decorrer e da conclusão deste trabalho, as quais constaram como fundamentais para o constante melhoramento deste, Professores Lenice Medeiros (UNIJUI), H. David Sheets (State Un. of NY) e Carlos R. Fonseca (UNISINOS), Emanuele A.B. Gauer, Luiz E.C. Schmidt, Enio E. Sosinski Jr., Antônio C. Paim, Célson R.C. Silva e Denise A.P. Rosário.

Aos colegas do PPG Biologia Animal pela partilha de experiências e pelo coleguismo, em especial à Paula B. Araújo e à Alessandra A.P. Bueno. Ao PPG Biologia Animal pela oportunidade de desenvolver este estudo e às entidades financiadoras FAPERGS e CAPES belas bolsas concedidas por 18 e 30 meses, respectivamente.

À minha mais que especial família, a salientar minha mãe Monika e irmãs Gabriela e Simone, por toda a força e eterno aprendizado. À Gabriela também pela importante leitura final do texto. Da mesma forma, ao André R. Lima pelas tantas ajudas, incluindo companheirismo na cotidiana coleta de dados, discussões, leitura da tese, montagem de figuras, por todo o apoio estrutural, interesse, partilha e amor importantíssimos nestes anos. Também ao amor e força à distância quando da minha ausência.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a quem sou grata por oportunizar toda a minha formação através da sua comunidade, estrutura e recurso público.

**SUMÁRIO**

LISTA DE FIGURAS .....	vii
LISTA DE TABELAS .....	x
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. DESCRIÇÃO DOS ESTÁGIOS IMATUROS DE <i>Holymenia clavigera</i> E <i>Anisoscelis foliacea marginella</i> .....	4
2.1. Introdução .....	4
2.2. Material & Métodos .....	5
2.3. Resultados .....	7
2.4. Discussão .....	18
3. TRAJETÓRIAS ONTOGENÉTICAS E MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DAS TÍBIAS DE <i>Holymenia clavigera</i> E <i>Anisoscelis foliacea marginella</i> .....	20
3.1. Introdução .....	20
3.2. Material & Métodos .....	22
3.3. Resultados .....	25
3.4. Discussão .....	33
4. PERFORMANCE DOS IMATUROS DE <i>Holymenia clavigera</i> E <i>Anisoscelis</i> <i>foliacea marginella</i> EM TRÊS ESPÉCIES DE PASSIFLORACEAE .....	38
4.1. Introdução .....	38
4.2. Material & Métodos .....	40
4.3. Resultados .....	44
4.4. Discussão .....	55

5. PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE <i>Holymeria clavigera</i> E <i>Anisoscelis foliacea marginella</i> EM RELAÇÃO A ATRIBUTOS INTRA- E INTERESPECÍFICOS DAS PASSIFLORÁCEAS E PADRÃO DE CAMPO CORRESPONDENTE .....	64
5.1. Introdução .....	64
5.2. Material & Métodos .....	65
5.3. Resultados .....	72
5.4. Discussão .....	87
6. TECIDOS VEGETAIS UTILIZADOS E ASPECTOS DO ROSTRO DE <i>Holymeria clavigera</i> E <i>Anisoscelis foliacea marginella</i> .....	94
6.1. Introdução .....	94
6.2. Material & Métodos .....	96
6.3. Resultados .....	98
6.4. Discussão .....	106
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	111
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	115

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1. Ovo de *H. clavigera* (**A**) e *A. foliacea marginella* (**B**) em vista ventral. **Ab**, abertura do ovo; **Pm**, processos micropilares. Barras = 0,5 mm. Fotografias: J.F.R. Amato. ....8
- Figura 2.2. Ultraestrutura das células de um ovo de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (figuras **A**, **B** e **C** para *H. clavigera* e **D**, **E**, e **F** para *A. foliacea marginella*, respectivamente) em microscopia eletrônica de varredura. **Ch**, células hexagonais e heptagonais; **Pm**, processos micropilares. Barras = 20, 50 e 5  $\mu\text{m}$  para ambas as espécies, respectivamente. ....10
- Figura 2.3. Altura máxima (**A**), diâmetro máximo (**B**), volume (**C**) e tempo de desenvolvimento (**D**) dos ovos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (média  $\pm$  erro padrão). ....11
- Figura 2.4. Imaturos de *H. clavigera* (figuras **A** a **E** – primeiro ao quinto instar, respectivamente) e *A. foliacea marginella* (figuras **F** a **J** – primeiro ao quinto instar, respectivamente) em vista dorsal. Barras = 1 mm. ....12
- Figura 2.5. Tecas alares de *H. clavigera* (figuras **A** a **E** – primeiro ao quinto instar, respectivamente) e *A. foliacea marginella* (figuras **F** a **J** – primeiro ao quinto instar, respectivamente) em microscopia eletrônica de varredura. Barras = 100, 100, 100, 200, 500 - primeiro ao quinto instar para ambas as espécies, respectivamente. ....14
- Figura 2.6. Vista posterior das tíbias direitas do terceiro par de pernas de *H. clavigera* (figuras **A** a **E** – primeiro ao quinto instar, respectivamente) e *A. foliacea marginella* (figuras **F** a **J** – primeiro ao quinto instar, respectivamente) em microscopia eletrônica de varredura. Barras = 200, 500, 500  $\mu\text{m}$  e 1 e 1 mm - primeiro ao quinto instar para ambas as espécies, respectivamente. ....16
- Figura 3.1. Crescimento de estruturas de *H. clavigera* (—●—) e *A. foliacea marginella* (----○----) no decorrer dos cinco ínstares ninfais (média  $\pm$  erro padrão). ....26
- Figura 3.2. Formas consenso das tíbias de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* analisadas conjuntamente. ....32
- Figura 4.1. *P. suberosa* (**A**), *P. edulis* (**B**) e *P. misera* (**C**). Fotografias: G.R.P. Moreira (Fotos **A** e **C**); C.F. Schwertner (Foto **B**). ....41
- Figura 4.2. Sobrevivência (**A**) e tempo de desenvolvimento total (**B**) das ninfas e tamanho dos adultos (**C**) de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (média  $\pm$  erro padrão). ....45
- Figura 4.3. Sobrevivência das ninfas de *H. clavigera*  $\square$  e *A. foliacea marginella*  $\blacksquare$  quando alimentadas com *P.suberosa* (**A**), *P. misera* (**B**), *P. edulis* (**C**) e com as três passifloráceas conjuntamente (**D**). ....47

Figura 4.4. Tempo de desenvolvimento (média  $\pm$  erro padrão) das ninfas de *H. clavigera*  e *A. foliacea marginella*  quando alimentadas com *P. suberosa* (A), *P. misera* (B), *P. edulis* (C) e com as três passifloráceas conjuntamente (D). .....49

Figura 4.5. Ocasões de alimentação das ninfas de primeiro a quinto instar (figuras 4.4.A a 4.4.E, respectivamente) de *H. clavigera*  e *A. foliacea marginella*  em relação às estruturas de *P. suberosa*. **RAP**, região apical; **FOL**, folha; **CAU**, caule; **BOT**, botão; **FLR**, flor; **FRU**, fruto. ....51

Figura 4.6. Ocasões de alimentação das ninfas de primeiro a quinto instar (figuras 4.4.A a 4.4.E, respectivamente) de *H. clavigera*  e *A. foliacea marginella*  em relação às estruturas de *P. misera*. **RAP**, região apical; **FOL**, folha; **CAU**, caule; **BOT**, botão; **FLR**, flor; **FRU**, fruto. ....53

Figura 4.7. Ocasões de alimentação das ninfas de primeiro a quinto instar (figuras 4.4.A a 4.4.E, respectivamente) de *H. clavigera*  e *A. foliacea marginella*  em relação às estruturas de *P. edulis*. **RAP**, região apical; **FOL**, folha; **CAU**, caule; **BOT**, botão; **FLR**, flor; **FRU**, fruto. ....56

Figura 5.1. Esquema adotado para a condução dos testes de escolha de estruturas de *P. suberosa* por imaturos e adultos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. Acima, botão; abaixo, fruto verde; esquerda, folha; direita, região apical; centro, caule. Fotografia: M. Tavares. ....67

Figura 5.2. Escolha das ninfas de primeiro (A), segundo (B), terceiro (C), quarto (D) e quinto (E) ínstaes e dos adultos (F) de *H. clavigera*  e *A. foliacea marginella*  em relação à estrutura da planta de *Passiflora suberosa*. **RAP**, região apical; **FOL**, folha; **CAU**, caule; **FRU**, fruto; **BOT**, botão. Barras acompanhadas de asteriscos indicam a preferência alimentar do coreídeo correspondente em relação à estrutura da planta (teste Exato de Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). ....73

Figura 5.3. Atividade alimentar (número de inserções do estilete em função das observações totais) no decorrer do desenvolvimento de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B). No eixo x, os números romanos de I a V representam os ínstaes primeiro a quinto, respectivamente; a letra A representa o estágio adulto. **p** = probabilidade calculada através do teste Fde Fisher. ....76

Figura 5.4. Escolha dos adultos de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B) em relação ao grau de maturação dos frutos de *P. suberosa*  e *P. misera* . Barras acompanhadas de estrelas indicam a preferência alimentar do coreídeo correspondente em relação à fenofase do fruto (teste Qui-Quadrado,  $\alpha = 0,05$ ). ....77

Figura 5.5. Escolha dos adultos de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B) em relação aos frutos verdes  e violáceos  *P. suberosa* e *P. misera*. Barras acompanhadas de estrelas indicam a preferência alimentar do coreídeo correspondente em relação à espécie de passiflorácea (teste Qui-Quadrado,  $\alpha = 0,05$ ). ....79

Figura 5.6. Escolha entre *P. suberosa*, *P. misera* e *P. edulis* por adultos de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B). Partes escuras das barras representam o uso de estruturas reprodutivas, sendo as brancas o uso de estruturas vegetativas das referidas hospedeiras. ....80

Figura 5.7. Presença de estruturas de *P. suberosa* durante o período de janeiro a março de 2003, município de Porto Alegre, RS. RA, região apical; FIJ, folha jovem; FIM, folha madura; BOT, botão; FLR, flor; FVe, fruto verde; FVi, fruto violáceo. ....83

Figura 5.8. Observações de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B) em descanso ■, caminhada ▨, alimentação □ e cópula ▩ nas estruturas de *P. suberosa* durante o período de janeiro a março de 2003, município de Porto Alegre, RS. RA, região apical; FIJ, folha jovem; FIM, folha madura; CAU, caule; BOT, botão; FLR, flor; FVe, fruto verde; FVi, fruto violáceo. ....86

Figura 5.9. Alimentação de ninfas de terceiro e quarto ínstares (A) e quinto instar e adultos (B) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■ em estruturas de *P. suberosa* durante o período de janeiro a março de 2003, município de Porto Alegre, RS. RA, região apical; FIM, folha madura; BOT, botão; FLR, flor; FVe, fruto verde; FVi, fruto violáceo. ....88

Figura 6.1. Rostro (seta) dos imaturos de primeiro instar de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B) em vista ventral e os respectivos detalhes dos estilete (B e D para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, respectivamente) e mandíbula (C e F para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, respectivamente) em microscopia eletrônica de varredura. Barras = 500, 50, 10, 500, 10 e 10 μm, respectivamente. ....99

Figura 6.2. Uso de tecidos das folhas maduras de *P. suberosa* por ninfas de quinto instar (A) e adultos (B) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■ . ....101

Figura 6.3. Secção transversal de uma folha de *P. suberosa* com a região distal dos estiletes de uma ninfa de quinto instar de *H. clavigera* nos elementos traqueais (A); secção transversal de uma folha de *P. suberosa* com a região distal dos estiletes de uma ninfa de quinto instar de *H. clavigera* no parênquima associado ao protoxilema (B). Xi, xilema; FI, floema; Pa; parênquima associado ao protoxilema. Setas indicam a extremidade distal dos estiletes. Barras = 100 μm. Fotografias: J.F.R. Amato. ....102

Figura 6.4. Uso de pericarpo e semente de frutos verdes de *P. suberosa* por ninfas de quinto instar (A) e adultos (B) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■ . ....104

Figura 6.5. Inserção do estilete de um adulto de *H. clavigera* no pericarpo de um fruto de *P. suberosa* (A); estiletes de ninfas de quinto instar de *H. clavigera* no arilo (B) e na semente (C) de frutos de *P. suberosa*. Setas indicam a extremidade distal dos estiletes. Barras = 5 mm. Fotografias: C.F. Schwertner. ....105

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Equações relativas às regressões correspondentes às trajetórias de crescimento das estruturas de <i>H. clavigera</i> e <i>A. foliacea marginella</i> . ....	27
Tabela 3.2. Coeficientes alométricos das estruturas medidas nas ninfas de <i>H. clavigera</i> e <i>A. foliacea marginella</i> . ....	29
Tabela 3.3. Níveis de confiança obtidos partir de 400 permutações ao acaso para os doze coeficientes alométricos calculados em relação às estruturas de <i>H. clavigera</i> e <i>A. foliacea marginella</i> . ....	30
Tabela 3.4. Ângulos correspondentes às trajetórias ontogenéticas de <i>H. clavigera</i> e <i>A. foliacea marginella</i> nos níveis de confiança de 80, 90 e 95 % e ângulo estimado para a comparação das trajetórias das duas espécies. ....	31
Tabela 3.5. Resumo do teste $T^2$ de Hotteling para a comparação de médias das formas das tíbias de <i>H. clavigera</i> e <i>A. foliacea marginella</i> . Asteriscos indicam que as formas das tíbias das duas espécies são significativamente diferentes em um dado instar ( $\alpha = 0,05$ ). <b>G.L.</b> , graus de liberdade para as colunas e para as linhas da matriz correspondente, respectivamente. ....	34
Tabela 4.1. Resumo da análise de Distância Euclidiana para efeito do tratamento e espécie de coreídeo na sobrevivência das ninfas de <i>H. clavigera</i> e <i>A. foliacea marginella</i> (1000 iterações; $\alpha = 0,05$ ). ....	46
Tabela 4.2. Resumo da análise de Distância Euclidiana para efeito do tratamento, espécie de coreídeo e sexo na performance das ninfas de <i>H. clavigera</i> e <i>A. foliacea marginella</i> (10000 iterações; $\alpha = 0,05$ ). Asteriscos indicam diferença significativa entre as fontes de variação e suas respectivas comparações. ....	50
Tabela 4.3. Observações alimentares de imaturos de <i>H. clavigera</i> no decorrer do desenvolvimento. Indivíduos nos quais há mais de um registro por instar constam de observações efetuadas em dias diferentes. <b>BOT</b> , botão; <b>FOL</b> , folha; <b>FVe</b> , fruto verde; <b>FVi</b> , fruto violáceo; <b>NEC</b> , nectário extra-floral; <b>RA</b> , região apical. ....	58
Tabela 4.4. Observações alimentares de imaturos de <i>A. foliacea marginella</i> no decorrer do desenvolvimento. Indivíduos nos quais há mais de um registro por instar constam de observações efetuadas em dias diferentes. <b>BOT</b> , botão; <b>FLR</b> , flor; <b>FOL</b> , folha; <b>FVe</b> , fruto verde; <b>FVi</b> , fruto violáceo; <b>GAV</b> , gavinha. ....	59
Tabela 5.1. Valores de pH, água, carbono orgânico, nitrogênio total, fenóis totais e antocianinas correspondentes aos frutos verde e violáceo de <i>P. misera</i> e <i>P. suberosa</i> . Os valores de pH, fenóis totais e antocianinas estão expressos em média $\pm$ erro padrão. ....	81

Tabela 5.2. Freqüência relativa do tamanho dos ramos de *P. suberosa* durante o período de janeiro a março de 2003, município de Porto Alegre, RS. ....85

Tabela 6.1. Uso das faces abaxial e adaxial e das nervuras principal e secundária das folhas maduras de *P. suberosa* por ninfas de quinto instar e adultos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. ....103

## RESUMO

*Holymeria clavigera* (Herbst, 1784) e *Anisoscelis foliacea marginella* (Dallas, 1852) são hemípteros pouco estudados que ocorrem no sul do Brasil, sendo pertencentes a tribo Anisoscelidini (Coreidae). Observações preliminares indicam uma alta coexistência no uso de suas plantas hospedeiras (passifloráceas), bem como uma total semelhança morfológica dos ovos e ninfas. Este estudo objetivou descrever a morfologia genérica dos imaturos destes sugadores, bem como suas trajetórias de crescimento, uma vez que a única diferença aparente entre as espécies é uma crescente dilatação da tíbia do terceiro par de pernas de *A. foliacea marginella*. Por não apresentarem as formas das tíbias distintas visualmente nos primeiro e segundo ínstares, foi feita a morfometria geométrica destas. Concomitantemente, alguns aspectos relativos à interação com suas plantas hospedeiras foram investigados. Para tanto, foi avaliada a performance em três maracujás existentes no estado do Rio Grande do Sul, a partir do seguinte delineamento experimental: criação em *Passiflora suberosa* Linnaeus (tratamento um), em *Passiflora misera* Linnaeus (tratamento dois), em *Passiflora edulis* Sims (tratamento três) e nas três hospedeiras em conjunto (tratamento quatro). Os dois primeiros maracujás são espécies nativas e silvestres, além de serem mais semelhantes em tamanho que o terceiro maracujá, nativo e cultivado, que apresenta maior porte. A performance foi mensurada através do tempo de desenvolvimento e sobrevivência ninfal, e tamanho dos adultos. A preferência alimentar destes coreídeos foi testada em três níveis: 1) em relação às estruturas de *P. suberosa* (região apical, folha, caule, botão, fruto verde); 2) em relação aos parâmetros espécie e idade dos frutos de *P. suberosa* e *P. misera*, uma vez que o fruto foi a estrutura preferida e contém duas fenofases marcadamente distintas e 3) em relação às três espécies de passifloráceas utilizadas no experimento de performance. Os frutos verdes e violáceos de *P. suberosa* e *P. edulis* foram também avaliados quimicamente quanto ao pH, teor de água, nitrogênio total, carbono orgânico, fenóis totais e antocianinas. Paralelamente, um trabalho de campo de 09 de janeiro a 22 de março de 2003 (intervalos amostrais de quinze dias) visou a determinar as partes de *P. suberosa* mais utilizadas para alimentação e outras atividades. Por fim, caracterizou-se a

morfologia genérica do aparelho bucal e analisou-se por meio de técnicas histológicas os tecidos da folha de *P. suberosa* (parênquima, xilema e floema) e as regiões dos frutos (pericarpo e semente) utilizados por ninfas de quinto instar e adultos de ambas as espécies. Os ovos foram idênticos em sua morfologia e ultraestrutura, diferindo apenas na magnitude, sendo maiores aqueles pertencentes a *H. clavigera*. Proporcionalmente, um número maior de processos micropilares foram encontrados nesta espécie. A exceção do alargamento da tibia, que tornou-se conspícuo a partir do terceiro instar e do aspecto das ninfas de quinto instar de um modo geral, os ínstaes foram também idênticos na morfologia, ultraestrutura e coloração. Porém, as trajetórias de crescimento e os coeficientes alométricos das estruturas mensuradas diferiram significativamente entre as espécies. A forma das tibias de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* não foram diferentes no primeiro, mas sim no segundo instar ninfal. Para ambas as espécies, a performance foi superior em *P. suberosa* quando comparada com *P. misera* e *P. edulis*, apenas não diferindo do tratamento misto. A criação em apenas *P. edulis* resultou na pior performance para ambos os coreídeos. Não houve efeito do sexo e da espécie de coreídeo nas performances. As ninfas de primeiro instar de ambos os sugadores utilizaram mais a região apical. *H. clavigera* utilizou preferencialmente os frutos nos demais ínstaes e no estágio adulto, o que apenas ocorreu em *A. foliacea marginella* do quarto instar em diante. Os frutos verdes foram selecionados por ambos os coreídeos quando em comparação com os violáceos, tanto em *P. suberosa* quanto em *P. misera*. Contudo, estes não foram selecionados segundo o atributo espécie. Os fenóis totais diminuíram à medida em que o fruto amadurece, ocorrendo o contrário com as antocianinas. O teor de água foi também maior nos frutos verdes. Quando comparados com *P. suberosa*, os frutos de *P. misera* de ambas as idades apresentaram maior teor de carbono orgânico, ocorrendo o contrário em relação ao nitrogênio total. *H. clavigera* não demonstrou preferência por nenhuma passiflorácea, e *A. foliacea marginella* utilizou mais *P. misera* e *P. suberosa* em detrimento de *P. edulis*. Em campo, os frutos verdes e as folhas maduras de *P. suberosa* foram os substratos mais utilizados para alimentação e descanso, respectivamente, independente da constante abundância de todas as estruturas. O rosto não apresentou diferenças morfológicas entre espécies

e idades. Os imaturos e os adultos de ambas as espécies utilizaram o xilema na quase totalidade dos casos, raramente fazendo uso do floema. Registrou-se um uso de todas as partes do fruto, incluindo as sementes para ambos os coreídeos e estágios. Diante o exposto, o panorama atual aponta para uma grande semelhança morfológica e ecológica entre *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, que são provavelmente espécies simpátricas. A extrema semelhança dos estágios imaturos, adicionada ao semelhante padrão de uso de suas hospedeiras aponta para uma alta coexistência devido à parcimônia nas fases imaturas após a especiação, convergência evolutiva ou mimetismo Mülleriano.

*Palavras-chave:* Anisoscelidini, coreídeos, maracujás, seleção da planta hospedeira, estágios imaturos, crescimento.

## ABSTRACT

*Holymeria clavigera* (Herbst, 1784) and *Anisoscelis foliacea marginella* (Dallas, 1852) (Hemiptera: Coreidae) are distributed in southern Brazil and belong to the poorly studied tribe Anisoscelidini. Preliminary observations indicate a high coexistence of these species in terms of host-plant use and a strong similarity regarding egg and nymphal morphology. This work aims to describe their immature stages and ontogenetic trajectories, since the only apparent difference between these species is a remarkable growth in the hind tibia of *A. foliacea marginella*, which is a common feature of the corresponding tribe. Because their hind tibia look alike in the early instars, the shape of this structure and its variation were also investigated through geometric morphometrics. Concomitantly, some aspects concerning *H. clavigera* and *A. foliacea marginella* interactions with their host plants – the passion vines – were studied. The nymphal performance of *H. clavigera* and *A. foliacea marginella* on wild (*Passiflora suberosa* Linnaeus and *Passiflora misera* Linnaeus) and cultivated (*Passiflora edulis* Sims) hosts was determined through four treatments: rearing on *P. suberosa* (treatment one); rearing on *P. misera* (treatment two); rearing on *P. edulis* (treatment three), and rearing on all passion vines mentioned above (treatment four). Performance was determined by recording nymphal development and survivorship, and adult size at emergence. Feeding preference was also evaluated for these two leaf-footed bugs. Such tests were performed according to three levels: preference of nymphs and adults for *P. suberosa* plant parts (leaf, stem, green fruit, flower bud and terminal bud) through multiple choice tests; preference of adults for *P. suberosa* and *P. misera* green and purple fruits, through double choice tests. For these tests, four treatments were used as follows: *P. suberosa* green fruit versus *P. suberosa* purple fruit (treatment one); *P. suberosa* green fruit versus *P. misera* green fruit (treatment two); *P. misera* green fruit versus *P. misera* purple fruit (treatment three); and *P. suberosa* purple fruit versus *P. misera* purple fruit. Preference of adults for *P. suberosa*, *P. misera* and *P. edulis* shoots was also tested through multiple choice tests. Green and purple fruits of *P. suberosa* and *P. misera* were characterized in relation to pH, water, organic carbon, total nitrogen, total phenols and anthocyanins. A field survey was carried out from

January to March 2003 in an urban area (Porto Alegre County) to assess *H. clavigera* and *A. foliacea marginella* use of *P. suberosa* plant parts. Finally, it was determined whether *H. clavigera* and *A. foliacea marginella* feed upon parenchyma, xylem or phloem, as well as whether they use either pericarp or seeds. In this case, mature leaves and green fruits of *P. suberosa* were offered to last instar nymphs and adults from both species. Excepting for the last instar and the shape of the hind tibia from third to last instar, the eggs and nymphs of both species were identical in their gross morphologies and ultrastructures. However, *H. clavigera* was significantly larger than *A. foliacea marginella* in all stages. Their ontogenetic trajectories were significantly different, and the body parts measured had significantly different allometric coefficients. The shape of the hind tibia was not different in the first, but in the second instar. Both species performed better when reared on *P. suberosa*, followed by rearing on all passion vines offered together and *P. misera*. On the other hand, they had a poor performance when reared on *P. edulis*. First instar nymphs of both species fed on terminal buds more frequently when compared to other plant parts. The two coreids switched to green fruits in the second instar, being this use more pronounced in *H. clavigera*. Both coreids showed preference for green fruits of *P. suberosa* and *P. misera*, but there was no preference for fruit species. *H. clavigera* did not show preference for any passion vine, while *A. foliacea marginella* preferred equally *P. misera* and *P. suberosa* when compared to *P. edulis*. The green fruits from both passion vines presented greater humidity and phenols when compared to the purple ones. The opposite pattern occurred in relation to the anthocyanins. *P. suberosa* fruits from both ages showed more nitrogen than *P. misera*. On the contrary, *P. misera* fruits had more carbon than *P. suberosa*. Although *A. foliacea marginella* was found using more vegetative structures than *H. clavigera* in the field, green fruits and mature leaves were the preferred plant parts for resting and feeding, respectively, regardless of coreid age and species. Despite of age and coreid species, the mouthparts were extremely similar morphologically. The histological sections showed that xylem was sucked in almost all situations, followed by a low use of phloem. All fruit parts, including the seeds, were used by nymphs and adults from both species. Thus, *H. clavigera* and *A. foliacea marginella* immatures are extremely similar in terms of host-plant use and morphology, suggesting that these coreids may

have evolved through evolutionary convergence, parsimony between the immature stages after speciation or Müllerian mimicry.

*Key words:* Anisoscelidini, coreids, passion vines, host-plant selection, immature stages, growth.

## 1. INTRODUÇÃO

Poucos estudos de base versaram sobre a biologia dos coreídeos da tribo Anisoscelidini. Trabalhos relativos à sistemática filogenética praticamente inexistem, e a descrição dos estágios imaturos restringe-se basicamente aos gêneros *Leptoglossus* (Wheeler Jr. & Miller, 1990; Fernandes & Grazia, 1992) e *Diactor* (Mariconi, 1952a,b) (ver classificação base dos gêneros e espécies em Lethierry & Severin, 1894 e Osuna, 1984). Os anisocelidíneos são caracterizados em sua maioria por apresentarem uma expansão na tíbia do terceiro par de pernas (Osuna, 1984), caráter também encontrado em outras tribos de Coreidae. As hipóteses mais correntes acerca do surgimento de tal expansão são uma provável camuflagem destes insetos (ver caracterização em Schuh & Slater, 1995) ou uma suposta vantagem na seleção sexual quando há dimorfismo entre os sexos (*e.g.*, Aldrich *et al.*, 1982). Em algumas espécies, os machos não possuem tal expansão, sendo esta ocorrente apenas nas fêmeas (Eberhard, 1998). No entanto, uma espécie de anisoscelidíneo aqui estudada – *Holymenia clavigera* (Herbst, 1784) – é exceção à tal padrão, não apresentando a referida expansão. Adicionalmente, os adultos desta espécie são prováveis mímicos batesianos de Ichneumonidae, uma vez que não apenas o aspecto, mas também o comportamento de vôo e som são semelhantes às vespas supramencionadas (Kaminski, L.A & Rodrigues, D, UFRGS, comunicação pessoal). Conseqüentemente, este gênero apresenta adultos com um aspecto atípico para a tribo. Observações preliminares indicam que tanto o grupo modelo quanto o mimético coexistem em algumas áreas do estado do Rio Grande do Sul (RS), porém tal fenômeno ainda não foi estudado neste sistema. Ainda, não se sabe precisamente a classificação e quantas espécies são modelos para este coreídeo, podendo se tratar na realidade de um anel mimético (Rodrigues, D. & Moreira, G.R.P., UFRGS, comunicação pessoal).

Lima (1940) cita a existência de duas espécies de *Holymenia* no Brasil, *Holymenia histrio* e *H. clavigera*, cuja diferença consta no padrão das manchas brancas existentes no pronoto (Fernandes, J.A.M., UFRGS, comunicação pessoal). Aparentemente, este autor é o primeiro a citar a interação deste

gênero com passifloráceas (ver Silva *et al.*, 1967). Para *Anisoscelis*, outro gênero utilizador de passifloráceas (Solomon & Froeschner, 1981; Schaefer & Mitchell, 1983), duas subespécies são encontradas no Brasil, a saber *Anisocelis foliacea marginella* (Dallas, 1852) na região sul e *Anisoscelis foliacea foliacea* na região nordeste (Fernandes, J.A.M., UFRGS, comunicação pessoal). Porém, para ambos os gêneros, a distribuição e o limite destas espécies não são conhecidos de forma mais precisa.

As relações tróficas de *Holymeria* e *Anisoscelis* são igualmente pouco estudadas. No Rio Grande do Sul, os ovos de *H. clavigera* são parasitados pelo himenóptero *Gryon gallardoi* (Canto-Silva, C.R., UFRGS, comunicação pessoal), um parasitóide de outros coreídeos, a citar os gêneros *Leptoglossus* e *Spartocera* (*e.g.*, Santos *et al.*, 2001). Não foram encontrados registros de predadores ou parasitas nos estágios posteriores. Igualmente, aspectos relativos à ecologia química (papel das glândulas de defesa no escape aos inimigos naturais, interação com compostos do metabolismo secundário ou outros compostos das passifloráceas) ainda não foram estudados. Para humanos, o odor exalado é indistinguível entre espécies e estágios do desenvolvimento.

De acordo com o encontrado na literatura, um trabalho acerca do uso de frutos de passifloráceas foi desenvolvido com *H. histrio* na Região Sudeste (Baldin & Boiça Jr., 1999) e um levantamento de campo envolvendo a densidade desta espécie e de *A. foliacea marginella* foi realizado recentemente (Caetano *et al.*, 2000). Contudo, não foi encontrado trabalhos com *H. clavigera*, e o único citado na literatura por Amaral F<sup>o</sup> (1981) sobre notas de laboratório a respeito da biologia de *A. foliacea* não existe no periódico onde consta a sua citação.

O uso dos frutos de maracujás cultivados tais como *Passiflora edulis* Sims e o maracujá não espontâneo no RS *Passiflora alata* Dryander (Sacco, 1980) por estes coreídeos - a salientar os do gênero *Holymeria* - confere a estas espécies uma importância em termos econômicos (ver Baldin & Boiça Jr., 1999). Do mesmo modo, estes sugadores utilizam as mesmas plantas hospedeiras predadas por vários ninfalídeos, a salientar os do gênero *Heliconius* e *Dryas*, os quais constam como insetos bastante estudados e vastamente utilizados para o entendimento de processos como mimetismo,

gregariedade, seleção sexual, competição, interação inseto-planta, entre outros (e.g., Brown Jr. & Mielke, 1972; Benson *et al.*, 1976; Mugrabi-Oliveira & Moreira, 1996). Logo, a necessidade de um angariamento de informações acerca destes coreídeos não somente vem a adicionar tal sistema *per se*, mas igualmente a um complexo de sistemas que são em contrapartida mais conhecidos.

Este estudo tem por objetivo a obtenção de informações descritivas e funcionais acerca da biologia dos coreídeos *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, as espécies de anisoscelidíneos utilizadores de passifloráceas que ocorrem no estado do Rio Grande do Sul. Por conseguinte, tenciona inferir alguns processos evolutivos que possam explicar parte dos padrões aqui encontrados. Para tanto, os próximos dois capítulos tratam de uma descrição comparada destas espécies no tangente à morfologia (capítulo dois) e no desenvolvimento (capítulo três) dos estágios imaturos. Os três capítulos seguintes buscam elucidar alguns aspectos relativos à interação com três das plantas hospedeiras mais comuns. Primeiramente, é realizado um estudo de performance com as espécies de passifloráceas (capítulo quatro). O estudo posterior (capítulo cinco) busca complementar as informações obtidas na performance através de testes de escolha de partes da planta e análises químicas do fruto, parte tida *a priori* como indispensável a estes sugadores. Por fim, objetiva caracterizar que tecidos ou regiões das partes das hospedeiras mais utilizadas são sugadas por estes coreídeos (capítulo seis). Desta forma, cada capítulo apresenta seções independentes relativas à introdução do tema estudado, métodos empregados, resultados obtidos e discussão. O último capítulo sintetiza o encontrado neste estudo. As referências bibliográficas reúnem a literatura citada em todos os capítulos, sendo assim formatada de acordo com a Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT).

## 2. DESCRIÇÃO DOS ESTÁGIOS IMATUROS DE *Holymenia clavigera* E *Anisoscelis foliacea marginella*

### 2.1. INTRODUÇÃO

Os hemípteros têm sido negligenciados em relação às outras ordens de Insecta no que tange a estudos relativos aos níveis funcional e evolutivo. Entrementes, são consideravelmente abordados no que concerne o nível descritivo. Tal padrão provavelmente deve-se ao fato destes organismos serem considerados importantes economicamente por sugarem as estruturas vegetativas e reprodutivas de suas plantas hospedeiras, muitas das quais são cultivadas para uso comercial.

Especificamente em relação à família Coreidae, foram descritas em relação aos seus estágios imaturos algumas espécies neárticas, tais como *Euthochta galeator*, *Acanthocephala terminalis*, *Archimerus alternatus* (Yonke & Medler, 1969a, b e c, respectivamente), *Leptoglossus fulvicornis* (Wheeler Jr. & Miller, 1990) e outras neotropicais ou predominantemente encontradas nos trópicos, a salientar *Diactor bilineatus* (Mariconi, 1952b), *Phthia picta* (González, 1973; Silva *et al.*, 2001), *Leptoglossus zonatus* (Fernandes & Grazia, 1992) e *Corecoris* (= *Spartocera*) *dentiventris* (Caldas *et al.*, 1998). Igualmente, poucas espécies africanas também foram descritas sob este enfoque. A grande maioria destas espécies é considerada importante do ponto de vista econômico.

Os coreídeos *Holymenia clavigera* e *Anisoscelis foliacea marginella* tratam-se de espécies cujos estágios imaturos ainda não foram descritos. Estes hemípteros compartilham as suas plantas hospedeiras (passifloráceas) (Solomon & Froeschner, 1981; Schaefer & Mitchell, 1983), alimentando-se tanto de espécies nativas (*e.g.*, *Passiflora suberosa* Linnaeus) quanto cultivadas (*e.g.*, *Passiflora edulis*) (Lima, 1940 para registro de *Holymenia*). Apesar de pertencerem a gêneros diferentes, estes hemípteros são *a priori* idênticos fenotipicamente no que concerne aos estágios imaturos, a salientar os caracteres morfológicos gerais, a coloração e o comportamento. A exceção de um alargamento da tíbia no terceiro par de pernas, que torna-se visível nas ninfas de últimos ínstars de *A. foliacea marginella*, não foram ainda encontrados caracteres diagnósticos para diferenciar as ninfas mais jovens das duas espécies de coreídeos, tanto em termos intra- quanto interespecíficos. Em

contrapartida, os adultos são marcadamente distintos; *H. clavigera* é supostamente um mímico batesiano de uma espécie ou de um anel mimético de Ichneumonidae, enquanto que *A. foliacea marginella* apresenta aspecto geral e alargamento da tíbia do terceiro par de pernas comuns na tribo Anisoscelidini, a qual ambas as espécies pertencem.

Este estudo possui dois objetivos principais. Primeiramente, busca identificar os ínstaes de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* a partir de parâmetros estipulados por Southwood (1956a), cuja chave para imaturos de Heteroptera considera as tecas alares como caracteres de diferenciação entre ínstaes. Ainda, descreve e compara as duas espécies utilizando tanto recursos encontrados em lupa quanto em microscopia eletrônica de varredura (MEV) para identificar potenciais diferenças morfológicas ou ultraestruturais entre os coreídeos estudados.

## 2.2. MATERIAL & MÉTODOS

Adultos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* foram coletados nas proximidades do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS; Campus do Vale), bem como em um jardim residencial do Bairro IAPI, ambos localizados no Município de Porto Alegre (30°05'S 51°10'W), estado do Rio Grande do Sul. Estes foram levados ao laboratório, onde a correspondente criação ocorreu em uma câmara climatizada (14 horas luz / dia;  $20 \pm 2$  °C). As espécies foram mantidas separadamente em gaiolas (20 x 20 x 93 cm; máximo doze adultos / gaiola). Ambos os coreídeos foram alimentados *ad libitum* com ramos de *P. suberosa* contendo tanto estruturas vegetativas (caule, região apical e folhas) quanto reprodutivas (botão, flor, frutos verde e violáceo) e água oferecida através de algodão embebido e disposto em placa de Petry. Esta passiflorácea adveio de um cultivo massal localizado nas dependências do Departamento de Zoologia da UFRGS e da Fundação Zoobotânica do RS, Município de Porto Alegre. Os ramos foram dispostos em garrafas plásticas com água e armação de madeira e arame, para auxílio na orientação destes (máximo três ramos por garrafa). Tais ramos foram substituídos em escalas de tempo diferenciadas, dependendo do grau de herbivoria (mensurado pela presença de regiões

apicais, caules e frutos sugados) constatado em cada gaiola, a saber: diariamente ou três vezes por semana. As gaiolas eram inspecionadas diariamente, onde recolhia-se os ovos e acomodavam-se estes em placas de Petry providas de papel filtro umedecido.

Para fins de controle e obtenção de indivíduos de diferentes ínstares, as ninfas recém-eclodidas eram criadas em potes plásticos transparentes (8,5 x 8,5 x 8,5 cm) com tampa provida de tela de malha fina. Dentro destes, estruturas de *P. suberosa* foram dispostas sobre potes plásticos de formato cilíndrico (3 x 5 cm) contendo água e providos de tampas com furos para colocação das estruturas vegetais.

Um exemplar por idade por espécie foi montado em gelatina glicerinada para servir como modelo às pranchas a serem confeccionadas. Ainda, imaturos foram fixados e preservados em Dietrich para auxiliar no processo de ilustração (n = 20 / instar / espécie). As ninfas foram desenhadas através do uso de uma lupa Spencer<sup>®</sup> cuja ocular apresentava uma grade micrométrica acoplada. Após, foram pintadas em aquarela, tendo a coloração correspondente definida a partir de observações e de fotografias de exemplares vivos.

Paralelamente, cinco exemplares por instar por espécie, bem como os ovos de ambos os coreídeos foram observados em microscopia eletrônica de varredura, a fim de terem suas ultraestruturas tegumentares externas analisadas e comparadas. Para serem analisados e fotografados em MEV, os espécimes foram retirados do Dietrich, desidratados em acetona, submetidos a diversas imersões em nitrogênio líquido, liofilizados e montados sobre suportes metálicos por meio de uma fita dupla face Scotch<sup>®</sup>. Após, foram metalizados com ouro através de um aparelho Balzers Union<sup>®</sup> e posteriormente observados e fotografados através do microscópio eletrônico JEOL 5800<sup>®</sup>. Para a localização e identificação dos tricobótrios no primeiro instar, cinco imaturos de cada espécie foram corados com vermelho congo diluído em água destilada por trinta minutos e após observados em lupa Leica<sup>®</sup> de alta resolução (aumento: 100x). A nomenclatura utilizada neste estudo seguiu àquela presente em Yonke (1991), a qual também consta como a mais comumente encontrada nos trabalhos de descrição de Coreidae acima citados.

Os ovos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* fixados em Dietrich (n = 20 / espécie) foram medidos em relação a suas alturas e diâmetros máximos,

as quais possibilitaram a estimativa de seus volumes através da fórmula do cilindro ( $\pi \cdot r^2 \cdot \text{altura}$ ). As medições foram feitas através de lupa contendo ocular com escala micrométrica (Wild®). Para a obtenção do tempo de desenvolvimento embrionário, dezessete ovos adicionais por espécie foram acompanhados diariamente em placas de Petry umedecidas com papel filtro. Estas foram mantidas em uma câmara climatizada cujas condições abióticas estão descritas acima.

Medidas dos comprimentos do corpo (correspondente à extremidade do clipeo ao final do último segmento abdominal), da antena (soma do comprimento dos quatro antenômeros) e do rostro (extremidade proximal do labro à extremidade distal das mandíbulas) das ninfas de todos os instares de ambas as espécies foram obtidas dos indivíduos fixados em Dietrich ( $n = 20$  / instar / espécie). Todas as medidas, bem como o tempo de desenvolvimento dos ovos estão expressos como média  $\pm$  erro padrão. As medidas referentes aos ovos foram comparadas estatisticamente. Para tanto, utilizou-se o teste t de Student para comparação de médias quando os dados apresentaram normalidade conforme o teste Kolmogorov-Smirnov, e homocedasticidade das variâncias, conforme o teste de Bartlett. Em caso contrário, as médias foram comparadas através do teste não paramétrico U de Mann-Whitney. Para ambos os testes, adotou-se um alfa igual a 0,05 (Sokal & Rohlf, 1995; Zar, 1999).

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. Ovo

#### *H. clavigera*

Coloração do ovo amarelo-ouro ao início do desenvolvimento embrionário, escurecendo no decorrer da sua maturação (Figura 2.1.A). Próximo à eclosão, este apresenta coloração dourada. Forma subesférica; face inferior achatada portando região de adesão ao substrato. Região onde o ovo é aderido ao substrato dotada de pequena elevação arredondada, cuja constituição é desconhecida e pode corresponder à substância cimentante. Face superior convexa, onde ao final da embriogênese as partes do embrião

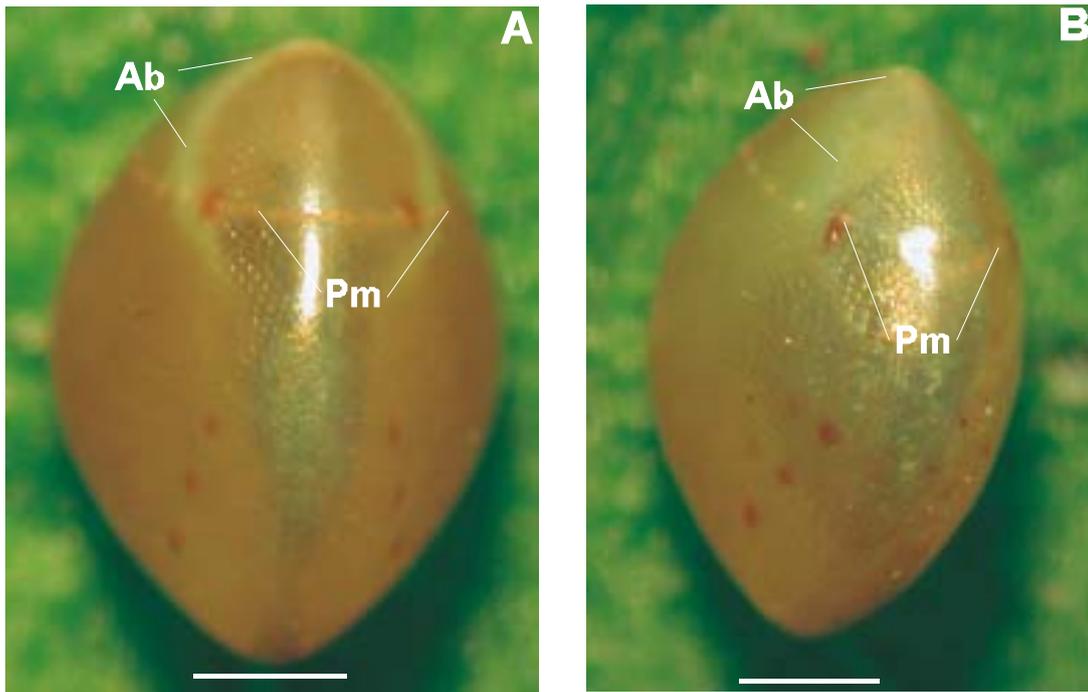


Figura 2.1. Ovo de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B) em vista ventral. Ab, abertura do ovo; Pm, processos micropilares. Barras = 0,5 mm.

tornam-se visíveis. Cório dotado de células predominantemente hexagonais; células penta- e heptagonais também encontradas (Figura 2.2.A,B). Processos micropilares e abertura do ovo localizados na face superior (Figuras 2.1.A e 2.2.B,C). Processos micropilares:  $28,80 \pm 0,70$  processos (23 a 36 processos por ovo). Altura máxima do ovo:  $1,998 \pm 0,011$  mm; diâmetro máximo:  $1,528 \pm 0,017$  mm; volume:  $2,820 \pm 0,095$  cm<sup>3</sup> (Figuras 2.3.A-C).

Tempo de desenvolvimento dos ovos:  $6,94 \pm 0,424$  dias (Figura 2.3.D). Após o terceiro dia, é possível ver por transparência os olhos, rosto e pernas do embrião (Figura 2.2.A).

#### *A. foliacea marginella*

Com exceção das medidas de altura e diâmetro máximos, bem como volume, todas as características descritas para os ovos de *H. clavigera* ocorrem igualmente nesta espécie (Figuras 2.1.B, 2.2.D,E). Processos micropilares:  $23,55 \pm 0,46$  processos (20 a 28 processos por ovo) (Figuras 2.1B, 2.2. E,F). Altura máxima:  $1,834 \pm 0,009$  mm; diâmetro máximo:  $1,321 \pm 0,009$  mm; volume,  $1,667 \pm 0,037$  cm<sup>3</sup> (Figuras 2.3.A, 2.3.B e 2.3.C). Tempo de desenvolvimento:  $7,76 \pm 0,303$  dias (Figura 2.3.D). Quando comparado com *H. clavigera*, todos os parâmetros medidos nos ovos de *A. foliacea marginella* são significativamente menores (teste t de Student para altura máxima:  $t = 11,289$ ;  $P < 0,0001$  - teste U de Mann-Whitney para diâmetro máximo e volume:  $U = 400,00$ ;  $P < 0,0001$  para ambos os parâmetros). O tempo de desenvolvimento embrionário não difere significativamente entre as espécies (teste U de Mann-Whitney,  $U = 182,50$ ;  $P = 0,1926$ ).

#### 2.3.2. PRIMEIRO INSTAR

##### *H. clavigera*

Comprimento do corpo:  $3,612 \pm 0,072$  mm; comprimento da antena:  $3,872 \pm 0,038$ ; comprimento do rosto:  $2,079 \pm 0,029$  mm. Corpo com formato oval (Figura 2.4.A).

Cabeça de coloração esverdeada, com antenas filiformes castanho-escuras a pretas. Antenas com formato filiforme e diversas cerdas, com os antenômeros dois e três dotados de uma crista longitudinal. Olhos vermelho-

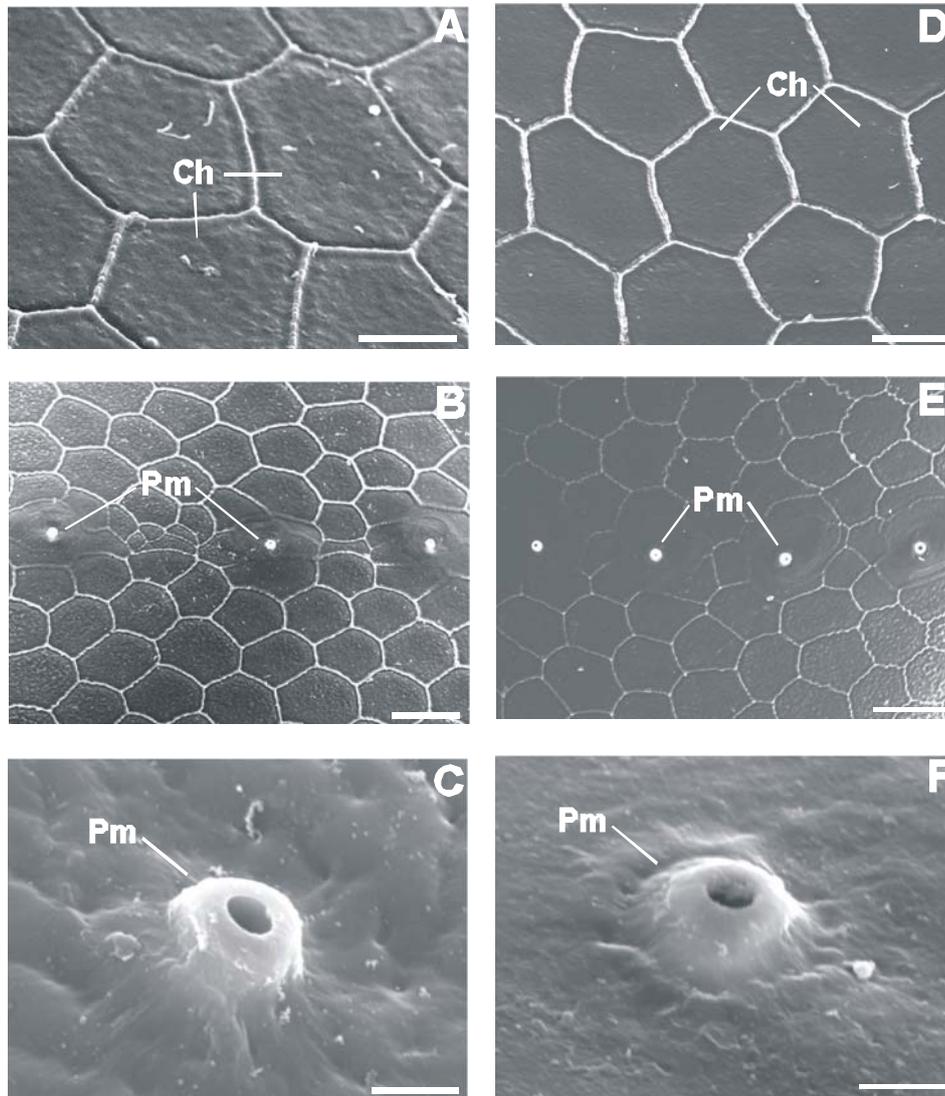


Figura 2.2. Ultraestrutura das células de um ovo de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (figuras A, B e C para *H. clavigera* e D, E e F para *A. foliacea marginella*, respectivamente) em microscopia eletrônica de varredura. Ch, células hexagonais e heptagonais; Pm, processos micropilares. Barras = 20, 50 e 5  $\mu\text{m}$  para ambas as espécies, respectivamente.

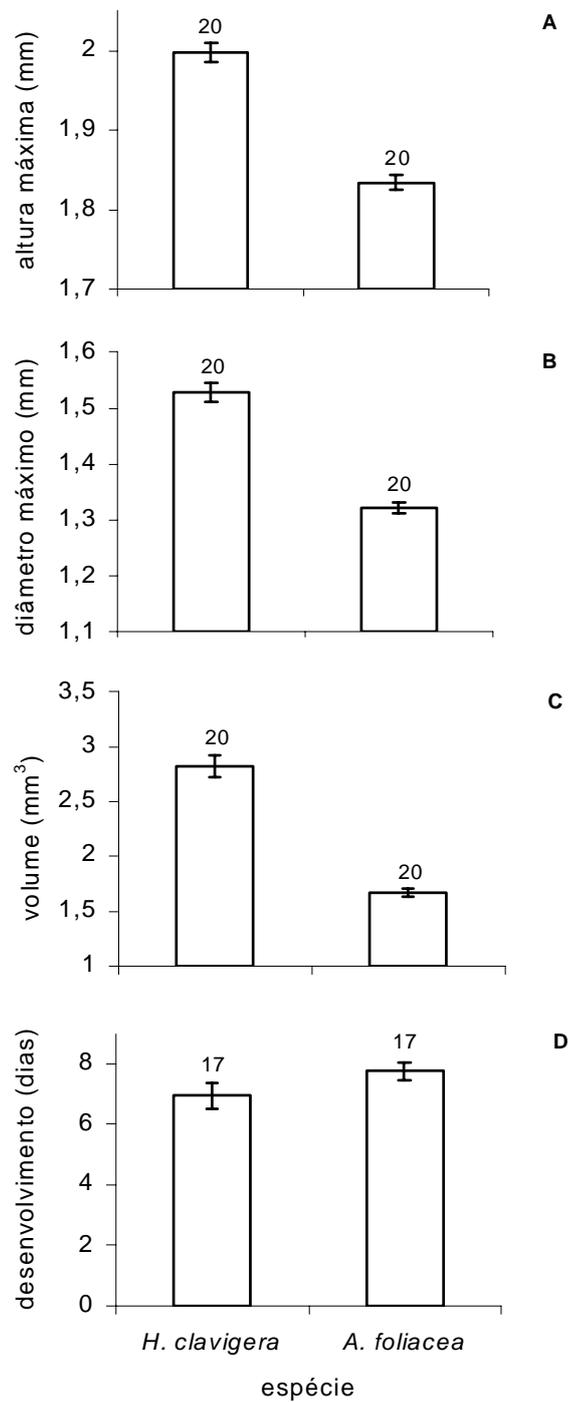


Figura 2.3. Altura máxima (A), diâmetro máximo (B), volume (C) e tempo de desenvolvimento (D) dos ovos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (média  $\pm$  erro padrão). Com exceção do tempo de desenvolvimento, os demais parâmetros são significativamente diferentes entre as espécies (testes t de Student para altura máxima e U de Mann-Whitney para os demais parâmetros,  $\alpha = 0,05$  para todos os testes). Números acima das barras representam o total de ovos analisados.



escuras. Jugas mais longas que o clípeo, sendo que poucos indivíduos apresentam jugas e clípeo iguais em comprimento. Forma da juga triangular, sendo afilada na sua extremidade. Linha de ecdise com coloração verde-escura a castanha. O rostro estende-se até o primeiro segmento abdominal. Cerdas filiformes concentradas próximo à linha de ecdise, olhos e base das jugas.

Pronoto, meso- e metatórax de coloração esverdeada com as regiões laterais tendendo ao castanho. Pernas achatadas lateralmente com coloração castanho-escura. Presença de dois tarsômeros e unhas pré-tarsais com dois pulvilos. Meso- e metatórax com um par de espiráculos cada, conforme já descrito em Snodgrass (1935). Meso- (Figura 2.5.A) e metatórax com forma e tamanho semelhantes, indicando que este instar é destituído de tecas alares.

Abdome de coloração esverdeada com dez segmentos; duas glândulas odoríferas localizadas dorsalmente nos tergitos IV-V e V-VI conforme descrito em Yonke (1991), cada uma portando duas aberturas laterais. Próximo às aberturas das glândulas estão presentes um agrupamento de cerdas filiformes. Espiráculos circulares nos segmentos II a VIII, na região latero-ventral. Ventralmente, três tricobótrios na região mediana dos urosternitos III e IV, três na região lateral dos urosternitos V e VI, e dois na região lateral do urosternito VII. A disposição destes tricobótrios nas referidas regiões é, no entanto, variável entre indivíduos. Este padrão de distribuição e frequência dos tricobótrios corresponde àquele descrito em Schaefer (1975) para a família Coreidae, o qual é encontrado em outros imaturos de coreídeos como *L. zonatus* (Fernandes & Grazia, 1992), *C. dentiventris* (Caldas *et al.*, 1998) e *P. picta* (Silva *et al.*, 2001).

#### *A. foliacea marginella*

Comprimento do corpo:  $3,396 \pm 0,076$  mm; comprimento da antena:  $3,491 \pm 0,035$  mm; comprimento do rostro:  $1,749 \pm 0,017$  mm. Todas as demais características descritas em *H. clavigera* neste instar aplicam-se a esta espécie (Figuras 2.4.F e 2.5.F).

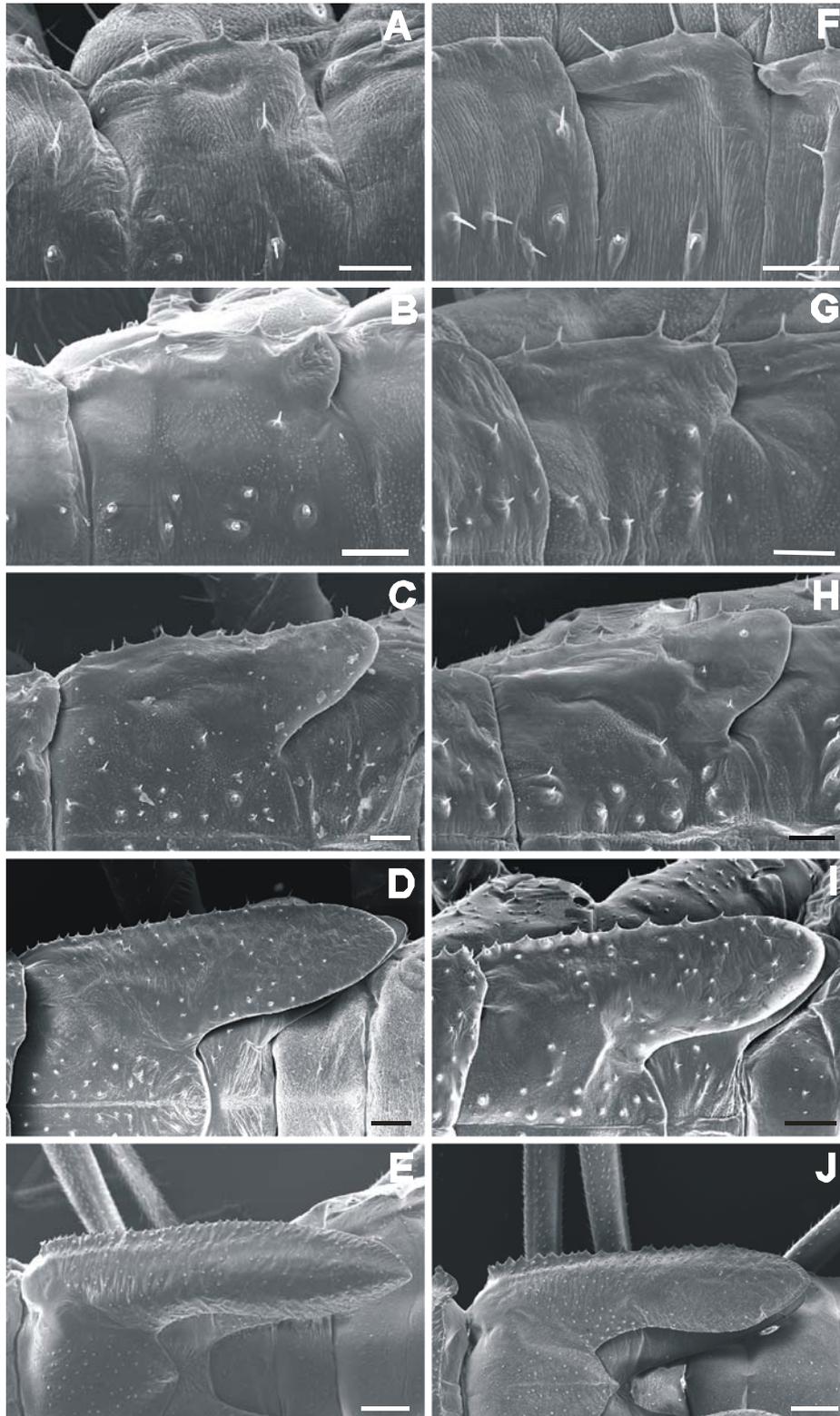


Figura 2.5. Tecas alares das ninfas de *H. clavigera* (figuras A a E - primeiro ao quinto instar, respectivamente) e *A. foliacea marginella* (figuras F a J - primeiro ao quinto instar, respectivamente) em microscopia eletrônica de varredura. Barras = 100, 100, 100, 200, 500, 100, 100, 100, 200 e 500  $\mu\text{m}$  - primeiro ao quinto instar para ambas as espécies, respectivamente.

### 2.3.3. SEGUNDO INSTAR

#### *H. clavigera*

Comprimento do corpo:  $5,793 \pm 0,159$  mm; comprimento da antena:  $5,987 \pm 0,0705$  mm; comprimento do rostro:  $4,192 \pm 0,081$  mm. Corpo com formato intermediário entre oval e alongado (Figura 2.4.B). Antenômeros com uma crista longitudinal. Três segmentos torácicos dotados de tamanho e forma distintos, sendo as tecas alares anteriores menores quando comparadas com o comprimento do mesotórax (Figura 2.5.B). Estas cobrem menos de 10 % do metatórax. Demais características conforme o instar anterior.

#### *A. foliacea marginella*

Comprimento do corpo:  $5,295 \pm 0,098$  mm; comprimento da antena:  $5,876 \pm 0,059$  mm; comprimento do rostro:  $3,403 \pm 0,066$  mm. As características restantes seguem o encontrado em *H. clavigera* para o mesmo instar (Figuras 2.4.G e 2.5.G).

### 2.3.4. TERCEIRO INSTAR

#### *H. clavigera*

Comprimento do corpo:  $8,756 \pm 0,121$  mm; comprimento da antena:  $7,833 \pm 0,094$  mm; comprimento do rostro:  $5,702 \pm 0,073$  mm. Corpo com formato alongado (Figura 2.4.C). Tecas alares presentes no meso- e metatórax, sendo que as tecas do mesotórax avançam até a primeira metade do metatórax (Figura 2.5.C). Outras características idênticas àquelas observadas no instar anterior.

#### *A. foliacea marginella*

Comprimento do corpo:  $7,843 \pm 0,158$  mm; comprimento da antena:  $7,612 \pm 0,095$  mm; comprimento do rostro:  $4,474 \pm 0,052$  mm. Dilatação na largura da tíbia do terceiro par de pernas visível a olho nu (Figura 2.6.H), não evidente nas tíbias dos ínstars precedentes de ambas as espécies (Figuras 2.6.A,B,C,F e G). Demais características correspondentes àquelas encontradas em *H. clavigera* para o mesmo instar (Figuras 2.4.H e 2.5.H).

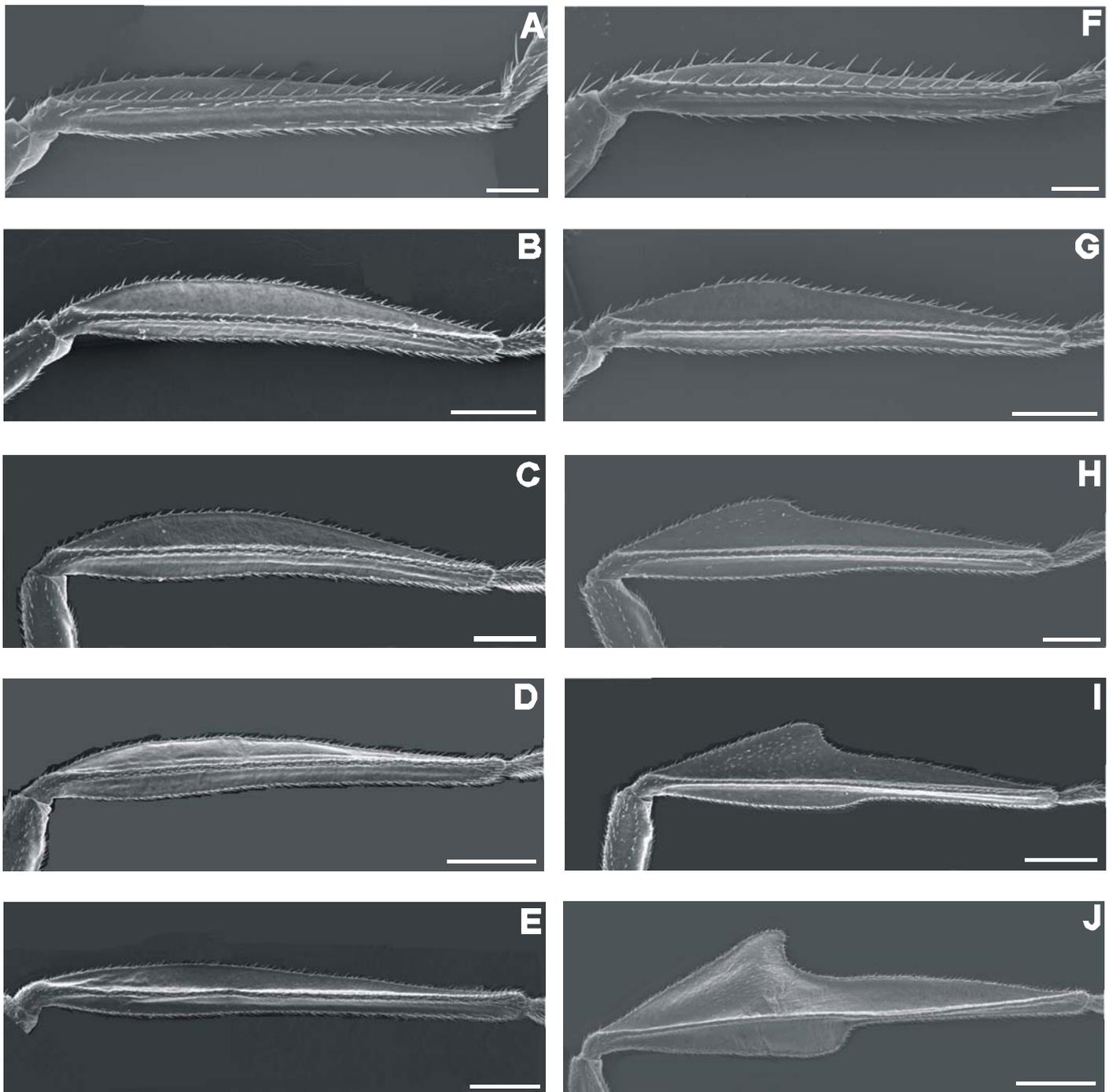


Figura 2.6. Vista posterior das tíbias direitas do terceiro par de pernas de *H. clavigera* (figuras A a E - primeiro ao quinto instar, respectivamente) e *A. foliacea marginella* (figuras F a J - primeiro ao quinto instar, respectivamente) em microscopia eletrônica de varredura. Barras = 200, 500, 500  $\mu\text{m}$ , 1 e 1 mm - primeiro ao quinto instar para ambas as espécies, respectivamente.

### 2.3.5. QUARTO INSTAR

#### *H. clavigera*

Comprimento do corpo:  $11,778 \pm 0,196$  mm; comprimento da antena:  $9,579 \pm 0,102$  mm; comprimento do rostro:  $7,105 \pm 0,106$  mm. Corpo com formato alongado (Figura 2.4.D). Tecas alares anteriores excedem o mesotórax em comprimento e cobrem mais de 90 % das tecas alares posteriores (Figura 2.5.D). Demais características conforme instar precedente.

#### *A. foliacea marginella*

Comprimento do corpo:  $10,499 \pm 0,190$  mm; comprimento da antena:  $9,703 \pm 0,083$  mm; comprimento do rostro:  $5,793 \pm 0,070$  mm. Largura da tíbia do terceiro par de pernas mais conspícua quando comparada com o instar anterior (Figura 2.6.I). Demais características conforme descrito em *H. clavigera* para o referido instar (Figuras 2.4.I e 2.5.I).

### 2.3.6. QUINTO INSTAR

#### *H. clavigera*

Comprimento do corpo:  $14,268 \pm 0,195$  mm; comprimento da antena:  $13,097 \pm 0,106$  mm; comprimento do rostro:  $8,947 \pm 0,156$  mm. Corpo com formato alongado (Figura 2.4.E). Antenômeros com coloração bege tendendo ao castanho e extremidades de coloração castanha. Cabeça com coloração bege escura e dotada de uma faixa central castanha.

Pronoto e tecas anteriores marrons com uma borda bege. Nos dois primeiros pares de pernas, fêmur e tíbia com coloração bege-alaranjada e dotados de uma faixa central castanho-escura. Terceiro par de pernas com uma faixa amarelo-alaranjada na região proximal e uma grande faixa castanha na região distal. Nos três pares de pernas, tarso e pré-tarso com coloração castanho-escura. As tecas alares anteriores cobrem quase que totalmente as tecas posteriores, excedendo-as em comprimento (Figura 2.5.E).

Abdome castanho-esverdeado, sendo as extremidades com coloração bege. Demais caracteres conforme os ínstars anteriores.

### *A. foliacea marginella*

Comprimento do corpo:  $13,073 \pm 0,338$  mm; comprimento da antena:  $13,629 \pm 0,141$  mm; comprimento do rostro:  $7,321 \pm 0,078$  mm.

Antenômeros com coloração ocre, com ambas as extremidades tendendo ao preto. Cabeça com coloração ocre; região correspondente às jugas e ao clípeo mais claras.

Pronoto e tecas anteriores e posteriores marrons com tons violáceos. Margens do pronoto e tecas anteriores recortadas. Dois primeiros pares de pernas de coloração ocre, entremeados por tons alaranjados. Terceiro par de pernas dotada de uma faixa castanha próxima à região proximal da face posterior, sendo esta a região de maior dilatação da tíbia (Figuras 2.6.A-J).

Abdome ocre com borda dos tergitos com coloração creme. Demais caracteres são conforme o encontrado para *H. clavigera* no instar correspondente (Figuras 2.4.J e 2.5.J).

## 2.4. DISCUSSÃO

Os ovos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* são idênticos no concernente à coloração, forma, formato das células, processos micropilares, abertura do ovo e tempo de desenvolvimento, diferindo apenas em termos de tamanho. A literatura sobre ovos de Hemiptera não traz informação prévia sobre os ovos destes gêneros e gêneros próximos. O padrão encontrado em Coreidae é variável, não havendo características de referência para os ovos desta família (ver Southwood, 1956b; Cobben, 1968; Hinton, 1981). Ainda, a lacuna existente acerca das funções dos processos micropilares, os quais não se sabe ao certo se atuam na respiração, reprodução ou ambos, é grande e a literatura recente por vezes mantém informações errôneas ou confusas acerca deste tema (e.g., Bundy & McPherson, 2000). Sabe-se que os ovos de Insecta apresentam aberturas responsáveis pela respiração do embrião, associados ou não a plastros, as quais são denominadas aerópilas, bem como aberturas que permitem a entrada do espermatozóide para a fertilização, conhecidas como micrópilas (ver Hinton, 1981). É improvável que os processos micropilares apresentem estruturas que atuem tanto como micrópilas quanto como aerópilas, o que precisa ser investigado.

Este estudo confirma a aplicabilidade da chave de Southwood (1956a) para a identificação dos ínstaes de imaturos de Heteroptera, uma vez que em todos os ínstaes a relação entre as tecas alares do meso- e metatórax esteve de acordo com o estipulado em tal trabalho. Poucos trabalhos utilizam os parâmetros definidos por Southwood (1956a) para a identificação dos ínstaes de imaturos de heterópteros, não sendo encontrados exemplos com coreídeos mas sim com outras famílias, tais como Tingidae (e.g., Sheeley & Yonke, 1977).

Excetuando-se o quinto instar e a largura da tíbia do terceiro par de pernas nos terceiro, quarto e quinto ínstaes, as ninfas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* são idênticas em suas características morfológicas e de coloração, bem como em suas ultraestruturas. Além destes componentes, os caracteres forma e tamanho constam como importantes componentes da história de vida dos organismos (ver Stearns, 1992), devendo ser considerados para detecção de diferenças entre estas espécies. A comparação do tamanho das ninfas de mesma idade e das trajetórias de crescimento de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, bem como a avaliação de possíveis diferenças na forma da estrutura com diferenciação mais conspícua – a tíbia do terceiro par de pernas – serão investigadas no próximo capítulo deste trabalho.

A total semelhança das formas imaturas de Insecta em relação à sua ultraestrutura é aparentemente algo inédito na literatura e implica na exploração de fenômenos pouco estudados até então. Sabe-se que muitos imaturos em geral, dentre estes os heterópteros, apresentam grande similaridade fenotípica em seus estágios iniciais, mas a total semelhança pode ser mais comum na natureza devido à parcimônia, falta de pressão seletiva em relação à ontogênese dos organismos, convergência evolutiva ou mimetismo. Estas hipóteses devem ser melhor exploradas a fim de obter-se um entendimento mais amplo de um dos ramos emergentes em biologia evolutiva – a biologia evolutiva com enfoque no desenvolvimento – o qual está novamente aproximando os níveis descritivo e evolutivo de um modo geral.

### 3. TRAJETÓRIAS ONTOGENÉTICAS E MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DAS TÍBIAS DE *Holymenia clavigera* E *Anisoscelis foliacea marginella*

#### 3.1. INTRODUÇÃO

Os estudos relativos ao crescimento em Insecta iniciaram com o objetivo de determinar o número de ínstares de imaturos de Lepidoptera (Dyar, 1890), os quais culminaram com o surgimento de uma propriedade emergente em entomologia denominada Regra de Dyar. Esta regra prevê que a largura da cabeça de imaturos de insetos cresce de acordo com duas premissas: que tal crescimento é geométrico ou exponencial, e que ocorre a partir de taxas constantes entre os ínstares. Desde então, uma série de trabalhos em várias ordens de Insecta foi desenvolvida com o intuito de se diferenciar ínstares a partir destes parâmetros, o que auxiliava no reconhecimento e controle daqueles cujo dano resultante da herbivoria é maior. Estudos de destaque especificamente para a subordem Heteroptera foram desenvolvidos nas décadas de 50 (ver Bliss & Beard, 1954) e 60 (ver Matsuda, 1961). Mais tarde reconheceu-se que antes de Dyar, Brooks já havia descrito tal padrão de crescimento, fato que levou alguns autores a denominar esta regra de Brooks-Dyar (ver Daly, 1985). Da mesma forma, alguns estudos com dípteros e outras ordens não encontraram correspondência entre o estipulado nesta regra e o observado para os referidos organismos (ver exemplos em Daly, 1985).

Apesar de serem fenômenos diferentes, a regra de Brooks-Dyar e a alometria – o crescimento diferenciado de estruturas em comparação à sua magnitude em diferentes indivíduos de mesma idade, diferentes idades ou diferentes táxons (Huxley, 1932; Gould, 1966; ver Stearns, 1992) – já foram confundidas e abordadas erroneamente em alguns trabalhos (ver Klingenberg & Zimmermann, 1992a). No que tange à morfometria, têm-se que, dentre os campos das ciências biológicas em geral, os estudos da forma e sua variação constam como um dos mais amplamente utilizados e continuamente reestruturados para os mais diversos propósitos. Conceituada como “a propriedade de uma configuração de pontos que não sofre alteração de efeitos de orientação, tamanho e posição” (senso Bookstein, 1989), a forma já foi estudada sob alguns enfoques, a destacar o funcional desenvolvido por D`Arcy

Thompson (1917) e a atual escola síntese (ver histórico em Monteiro & Reis, 1999). Exemplificando-se para Insecta, a morfometria é um importante instrumento para a elucidação de relações filogenéticas, variações intraespecíficas na forma de estruturas reprodutivas (e.g., Querino *et al.*, 2002), inferências de processos relativos à especiação (e.g., Adams & Funk, 1997), adaptações estruturais (e.g., Moran, 1986; Medeiros & Moreira, 2002), identificação de formas imaturas (Daly, 1985), entre outros. Citando o já realizado em Anisosceldini relativo à tais fenômenos, têm-se que a alometria da tíbia do terceiro par de pernas foi estudada nos adultos de *Acanthocephala declivis guatemalana*. Postula-se que estas têm papel na seleção sexual, uma vez que os adultos são dimórficos em relação à esta estrutura. Ocorre um crescimento alométrico entre os sexos, onde as fêmeas apresentam uma expansão nestas tíbias, sendo os machos desprovidos desta. Nas fêmeas o crescimento é isométrico, onde indivíduos maiores apresentam expansões proporcionalmente maiores (Eberhard, 1998).

Como visto no capítulo anterior, *Holymenia clavigera* e *Anisoscelis foliacea marginella* são espécies cujo estágio de ovo e ínstaes iniciais são visual- e ultraestruturalmente idênticos. Partindo do princípio de que existem diferenças genéticas por tratarem-se de espécies distintas, resta determinar se existem diferenças no desenvolvimento, comportamento e outros componentes da história de vida dos imaturos destas espécies. O primeiro fator consta como objetivo deste capítulo, sendo os demais abordados posteriormente. Este estudo buscou, através da morfometria comparada, identificar, caracterizar e diferenciar as ninfas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* em relação às suas trajetórias de crescimento, bem como à variação da forma da tíbia do terceiro par de pernas. Primeiramente, um estudo de morfometria univariada foi feito para determinar os padrões de crescimento das estruturas mais aparentes de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. Após, considerando-se a expansão na largura das tíbias de *A. foliacea marginella*, buscou-se detectar os padrões de crescimento alométrico em relação à ontogenia das duas espécies, bem como comparar as trajetórias destas. Por fim, detectou-se através da morfometria geométrica em qual instar a forma das tíbias torna-se distinta.

## 3.2. MATERIAL & MÉTODOS

### 3.2.1. MORFOMETRIA UNIVARIADA

A morfometria univariada descreve o crescimento isolado de uma estrutura durante o seu desenvolvimento, o que também permite comparar o crescimento de estruturas correspondentes entre espécies. Em contraste, a alometria multivariada compara todas as estruturas entre si concomitantemente, apenas fornecendo o valor de seus coeficientes alométricos e se tais de fato expressam a realidade de um dado organismo, o que igualmente permite comparações interespecíficas. Tais diferenças justificam o uso de ambos os métodos no estudo do crescimento destes organismos.

A criação de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* foi conduzida em condições abióticas controladas, seguindo-se os procedimentos descritos no item 2.2. Foi oferecida apenas a hospedeira *Passiflora suberosa* como alimento, pois para a caracterização adequada da morfometria em Insecta é indispensável uniformizar o recurso alimentar (Daly, 1985; ver Schwertner *et al.*, 2002). A fixação dos imaturos também ocorreu conforme o exposto nesse item (n = 20 / instar / espécie).

Utilizando-se o material fixado, as ninfas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* foram medidas em lupa contendo escala micrométrica (Wild®) em relação às seguintes estruturas: comprimentos da antena, do rostro e do corpo, bem como as larguras da cabeça e da tíbia do terceiro par de pernas. Estas estruturas foram escolhidas por serem as mais relevantes em análises de morfometria univariada para estes organismos.

As regressões para avaliação do crescimento das estruturas em função dos instares ninfais de ambas as espécies foram testadas através do teste F de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ). Para a análise da comparação das trajetórias de crescimento de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, as regressões obtidas para cada parâmetro foram comparadas através do teste t de Student para equidade em relação às inclinações destas regressões ( $\alpha = 0,05$ ).

Em relação à largura da cabeça, foi calculada a taxa de crescimento por espécie através do tamanho pós-muda dividido pelo tamanho pré-muda, o que fornece informações acerca da constância das taxas de crescimento desta

medida prevista pela regra de Brooks-Dyar. Adicionalmente, foi determinado através do teste de comparação de ajuste de dados qual modelo - polinomial de primeira ordem (linear) ou exponencial – melhor explica o crescimento das larguras das cabeças de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3.2.2. ALOMETRIA ONTOGENÉTICA MULTIVARIADA

Para este objetivo, foram utilizados dados tradicionais em morfometria como medidas lineares (comprimento e largura) devido à impossibilidade em se obter fotografias com igual posicionamento de estruturas como pernas e antenas em uma repetição de vinte indivíduos por instar / espécie (ver Klingenberg, 1996). Em termos ideais, seria apropriado descrever os padrões alométricos multivariados de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* utilizando-se técnicas mais avançadas em morfometria, como as que obtêm dados a partir da extração de marcos anatômicos de estruturas via fotografias ou digitalização (ver Rohlf, 1990; Monteiro & Reis, 1999). Os programas utilizados neste estudo para o cálculo dos coeficientes alométricos e das trajetórias ontogenéticas aceitam tanto dados de medidas lineares quanto dados baseados na extração de marcos anatômicos.

O cálculo dos coeficientes alométricos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* foi feito através da mensuração de doze estruturas que representam medidas de tamanho relativas, a saber: comprimentos da cabeça, rostro, antenômeros um (proximal), dois, três e quatro (distal), fêmur, tibia e pronoto, bem como as larguras da cabeça, tibia do terceiro par de pernas e pronoto. A medida de tamanho absoluta escolhida foi o comprimento do corpo, o qual é caracterizado conforme descrito no item anterior e que, *a priori*, foi reconhecido como pouco variável dentro de cada instar. A mensuração destas estruturas, bem como os indivíduos estudados neste objetivo, correspondem com o realizado na morfometria univariada. Para este objetivo, foi feita uma análise de regressão multivariada entre as doze medidas de tamanho relativas em função da medida de tamanho absoluta. Esta gerou um vetor de crescimento normalizado por espécie, o qual consta dos coeficientes alométricos obtidos para cada medida dependente.

A comparação entre vetores (ou seja, entre os coeficientes alométricos) e sua correspondente significância é obtida a partir do cálculo de seis níveis de

confiança permutados aleatoriamente 400 vezes por espécie. Após, extrai-se o arco coseno (isto é, o ângulo) do maior nível de confiança obtido por espécie. Se este ângulo não corresponder a um valor situado dentro dos níveis de confiança considerados, os coeficientes alométricos são significativamente diferentes entre espécies. Por outro lado, se o seu valor estiver dentro dos níveis de confiança obtidos, isto significa que qualquer permutação ao acaso poderia gerar tais valores. Como consequência, estes coeficientes alométricos não teriam um significado biológico relevante, não sendo significativamente diferentes entre *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. Esta etapa foi calculada utilizando-se o programa ShuffleAllometry (H.D. Sheets, <http://www.canisius.edu/~sheets/>).

Para comparar as trajetórias de crescimento de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, foi utilizado o programa VecCompare (H.D. Sheets, <http://www.canisius.edu/~sheets/>), o qual obtém um ângulo entre as trajetórias de crescimento de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. Se este ângulo possuir valor superior aos ângulos correspondentes à cada trajetória em separado nos três níveis de confiança calculados, os quais são também obtidos a partir de um total de 400 permutações ao acaso, as trajetórias ontogenéticas são significativamente diferentes.

### 3.2.3. MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DAS TÍBIAS

Para este objetivo, as tíbias do terceiro par de pernas dos primeiro e segundo ínstares ( $n = 20$  / instar / espécie), as quais ainda não se detecta uma mudança visível, foram seccionadas de indivíduos fixados em Dietrich e fotografadas individualmente em câmara digital (Nikon Coolpix 995<sup>®</sup>) acoplada à lupa (Wild<sup>®</sup>). As tíbias direitas foram fotografadas na face posterior, sendo após digitalizadas utilizando-se o programa tpsdig (F.J. Rohlf, <http://life.bio.sunysb.edu/morph>). Para a detecção de diferenças na forma entre as espécies, foi utilizada a técnica dos algoritmos relaxados. Para utilizar esta técnica, foram escolhidos quatro marcos anatômicos e vinte semi marcos anatômicos, todos localizados na superfície das tíbias de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. Os marcos anatômicos escolhidos foram os côndilos das tíbias (regiões de junção das tíbias com o fêmur e com o tarso). Os semi marcos foram plotados equidistantemente por toda a superfície das tíbias. Esta

técnica foi apenas empregada na área médica (ver Bookstein, 1997), sendo pela primeira vez empregada em trabalhos de cunho evolutivo.

Após tal procedimento, foram extraídos os escores das deformações parciais de cada instar a um alfa igual a zero (ou seja, todas as deformações parciais apresentam mesmo peso) e as respectivas “forma consenso” das tíbias. Para tanto, foi utilizado o programa tpsrelw (F.J. Rohlf, <http://life.bio.sunysb.edu/morph>). Para avaliar se a forma das tíbias no decorrer de um dado instar difere significativamente entre espécies, os escores que explicam majoritariamente as variações da forma das duas espécies por instar foram considerados variáveis e testados utilizando-se o teste  $T^2$  de Hotelling. Este teste consta como um derivado multivariado do teste t de Student univariado. O teste  $T^2$  de Hotelling utiliza dados de vetores de médias das populações analisadas e uma matriz de covariância, singularizando tais valores. Devido ao fato deste teste ter distribuição semelhante à distribuição F, os valores desta são também calculados para este teste e apresentados conjuntamente (ver Marcus *et al.*, 1996). A significância foi calculada a um alfa igual a 0,05.

### 3.3. RESULTADOS

#### 3.3.1. MORFOMETRIA UNIVARIADA

A largura das cabeças dos coreídeos foi melhor ajustada à uma razão de crescimento exponencial ( $R^2 = 0,9809$  e  $0,9718$  para crescimento exponencial e  $0,9639$  e  $0,9585$  para crescimento linear em *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, respectivamente). As razões de crescimento para ambas as espécies foram relativamente constantes, tanto intra- quanto interespecificamente, sendo 1,23, 1,34, 1,27, e 1,26 (larguras do segundo sobre o primeiro, terceiro sobre o segundo, quarto sobre o terceiro e quinto sobre o quarto ínstaes respectivamente) para *H. clavigera* e 1,26, 1,32, 1,29 e 1,24 para *A. foliacea marginella*, respectivamente. O crescimento da antena não diferiu significativamente entre as duas espécies (teste t de Student para a comparação de regressões) (Figura 3.1; Tabela 3.1). *H. clavigera* apresentou padrões de crescimento da cabeça, do rostro e do corpo significativamente distintos de *A. foliacea marginella* (Figura 3.1; Tabela 3.1). Em *A. foliacea*

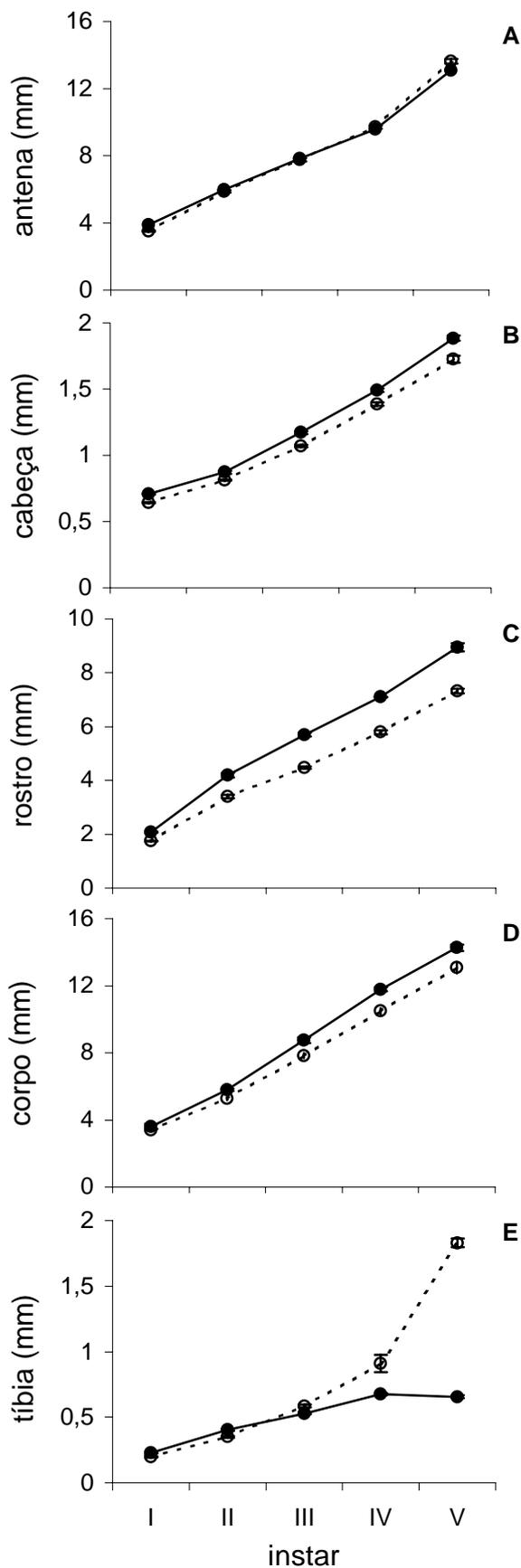


Figura 3.1. Crescimento de estruturas de *H. clavigera* (—●—) e *A. foliacea marginella* (---○---) no decorrer dos cinco ínstares ninfais (média  $\pm$  erro padrão). **A**, comprimento da antena; **B**, largura da cabeça; **C**, comprimento do rostro; **D**, comprimento do corpo e **E**, largura máxima da tibia.

Tabela 3.1. Equações relativas às regressões correspondentes às trajetórias de crescimento das estruturas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (n = 20 indivíduos / instar / espécie).

estrutura	espécie	equação	R <sup>2</sup>	F*	t
antena	<i>H. clavigera</i>	y=2,204x+1,461	0,9665	2823,4	1,26
	<i>A. foliacea</i>	y=2,410x+0,861	0,9648	2572,3	
cabeça	<i>H. clavigera</i>	y=0,297x+0,335	0,9639	2617,2	4,10**
	<i>A. foliacea</i>	y=2,736x+0,307	0,9585	2260,7	
rosto	<i>H. clavigera</i>	y=1,665x+0,609	0,9632	2567,7	17,89**
	<i>A. foliacea</i>	y=1,353x+0,488	0,9773	4218,2	
corpo	<i>H. clavigera</i>	y=2,730x+0,653	0,9673	2898,4	7,77**
	<i>A. foliacea</i>	y=2,453x+0,660	0,9396	1545,4	
tíbia	<i>H. clavigera</i>	y=0,113x+0,159	0,8690	649,83	16,28**
	<i>A. foliacea</i>	y=0,391x-0,381	0,8756	690,02	

\* significativo para todas as regressões;  $P > 0,0001$

\*\* diferença significativa entre espécies;  $\alpha = 0,05$

*marginella*, a tibia sofreu um maior crescimento quando comparado com as demais partes avaliadas, bem como em relação à tibia de *H. clavigera*. Em todos os instares, os comprimentos do corpo e do rostro foram significativamente maiores em *H. clavigera* quando comparado com *A. foliacea marginella* (teste t de Student) (Tabela 3.1).

### 3.3.2. ALOMETRIA ONTOGENÉTICA MULTIVARIADA

Os coeficientes alométricos das medidas de tamanho relativas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* são apresentados na tabela 3.2. Dentre estes, nota-se que as estruturas que apresentam os mais distintos coeficientes alométricos entre as espécies são o rostro e a largura da tibia. Contrariamente, estruturas tais como largura do pronoto e últimos antenômeros evidenciaram coeficientes alométricos ontogenéticos com considerável similaridade, demonstrando que as trajetórias de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* não são totalmente distintas.

O arco coseno do nível de confiança máximo calculado para os coeficientes alométricos de *H. clavigera* foi 37,85 graus (= arco coseno de 0,9292) (Tabela 3.3). Para *A. foliacea marginella*, o arco coseno do valor correspondente ao maior nível de confiança foi 25,72 graus (= arco coseno de 0,9671) (Tabela 3.3). Em ambos os casos, os ângulos obtidos são menores que todos os níveis de confiança calculados separadamente por espécie. Isto demonstra que os vetores correspondentes aos coeficientes alométricos das duas espécies não são produto de permutações ao acaso, tendo significado biológico.

O ângulo obtido para a comparação das trajetórias ontogenéticas foi de 10,6. Sendo este ângulo de comparação de trajetórias maior do que os ângulos individuais para as duas espécies (Tabela 3.4), têm-se que tais trajetórias são significativamente diferentes entre si.

### 3.3.3. MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DAS TÍBIAS

A figura 3.2 apresenta a forma consenso das formas das tíbias de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* em cada instar, com a posição dos marcos e semi marcos anatômicos.

Tabela 3.2. Coeficientes alométricos das estruturas medidas nas ninfas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (n = 20 indivíduos / instar / espécie).

estrutura (parâmetro)	espécie	
	<i>H. clavigera</i>	<i>A. foliacea</i>
cabeça (comprimento)	0,1186	0,0905
cabeça (largura)	0,1042	0,0942
rosto (comprimento)	0,5796	0,4601
antênômero 1 (comprimento)	0,1594	0,1825
antênômero 2 (comprimento)	0,2028	0,2404
antênômero 3 (comprimento)	0,1829	0,2078
antênômero 4 (comprimento)	0,2277	0,1948
fêmur (comprimento)	0,4076	0,4777
tíbia (comprimento)	0,5273	0,5511
tíbia (largura)	0,0396	0,1346
pronoto (comprimento)	0,0647	0,0952
pronoto (largura)	0,1934	0,1999

Tabela 3.3. Níveis de confiança obtidos a partir de 400 permutações ao acaso para os doze coeficientes alométricos calculados em relação às estruturas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (n = 20 indivíduos / instar / espécie).

nível de confiança (%)	espécie	
	<i>H. clavigera</i>	<i>A. foliacea</i>
valor máximo	0,9292	0,9671
97,5	0,8503	0,8910
95	0,8259	0,8707
50	0,6518	0,7149
5	0,4991	0,5724
2,5	0,4796	0,5624

Tabela 3.4. Ângulos correspondentes às trajetórias ontogenéticas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (n = 20 indivíduos / instar / espécie) nos níveis de confiança de 80, 90 e 95 % e ângulo estimado para a comparação das trajetórias das duas espécies.

nível de confiança (%)	espécie		ângulo de comparação
	<i>H. clavigera</i>	<i>A. foliacea</i>	
80	1,7	1,5	10,6*
90	2,1	1,7	
95	2,3	2,0	

\* trajetórias significativamente diferentes entre espécies para uma permutação ao acaso de 400 vezes.

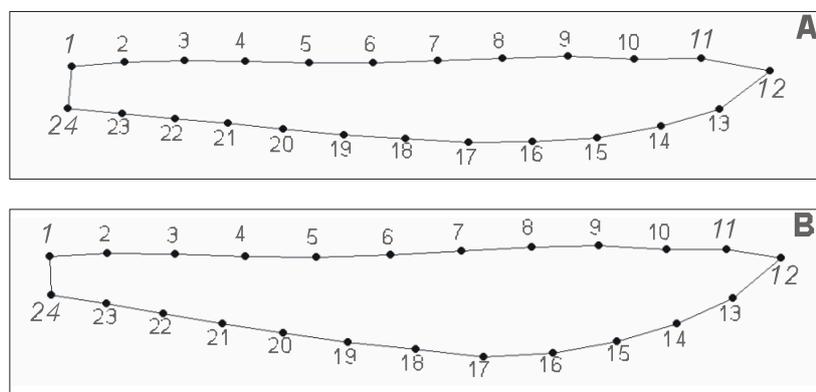


Figura 3.2. Formas consenso das tíbias de primeiro (A) e segundo (B) ínstar de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* analisadas conjuntamente ( $n = 20$  por espécie / instar). Números maiores e em *itálico* representam os marcos anatômicos; os demais representam os semi marcos anatômicos.

Apenas os três primeiros componentes principais (escores das deformações parciais) foram utilizados no teste estatístico por representarem quase a totalidade da variação existente na forma das tíbias de ambos os instares. No primeiro instar, os primeiro, segundo e terceiro escores foram responsáveis por uma variação de forma de 78,5, 15,6 e 5,9 %, respectivamente. No segundo, tais percentuais foram 26,7, 48,6 e 24,7 %, respectivamente.

A forma média das tíbias de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* não diferiu significativamente no primeiro instar, mas tal diferença foi detectada no instar subsequente (teste  $T^2$  de Hotelling) (Tabela 3.5).

### 3.4. DISCUSSÃO

Como constatado para diversos insetos através da regra de Brooks-Dyar, as larguras das cabeças de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* crescem exponencialmente, porém em padrão menos pronunciado ao detectado em vários lepidópteros. Contudo, a falta de aplicabilidade de tal regra para certos insetos, incluindo hemípteros, já foi constatada na literatura (e.g. Daly, 1985), porém estudos correlatos para esta ordem ainda permanecem escassos. Análises multivariadas alternativas à regra de Dyar têm sido testadas em heterópteros aquáticos (e.g. Klingenberg & Zimmermann, 1992a).

Devido a um maior tamanho médio de *H. clavigera* para diversos parâmetros tais como volume e altura de ovo (constatados no capítulo dois), comprimento do corpo e rostro ninfal aqui determinados, infere-se para estes organismos que o tamanho provavelmente sofreu maiores pressões seletivas em comparação à forma geral dos imaturos. Por sua vez, supõe-se que esta manteve-se mais conservada que o tamanho para a manutenção do uso comum de hospedeiras por meio de três hipóteses: ausência de seleção (parcimônia neste estágio de desenvolvimento), convergência evolutiva ou mimetismo Mülleriano. Entrementes, muitos trabalhos têm enfrentado dificuldades metodológicas em separar informações relativas à forma e ao tamanho os organismos, uma vez que a influência do primeiro componente sobre o segundo advém de um princípio físico (ver Gould, 1966 para

Tabela 3.5. Resumo do teste  $T^2$  de Hotteling para a comparação de médias das formas das tíbias de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. Asteriscos indicam que as formas das tíbias das duas espécies são significativamente diferentes em um dado instar ( $\alpha = 0,05$ ). Para ambos os ínstaes,  $n = 20$  para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. **G.L.**, graus de liberdade para as colunas e para as linhas da matriz correspondente, respectivamente.

instar	G.L.	$T^2$	F	P
I	3 e 36	2,581	0,815	0,49399
II	3 e 36	24,095	7,609	0,00046*

explicação do princípio e exemplos na natureza). Conseqüentemente, é dificultado o entendimento de como mudanças no tamanho acarretam ou podem acarretar em mudanças na forma (Swiderski, em preparação).

*H. clavigera* e *A. foliacea marginella* possuem trajetórias ontogenéticas distintas, indicando que desenvolvem-se diferenciadamente. Os coeficientes alométricos que mais apresentaram diferenças entre as espécies foram os relativos ao rostro e à largura da tíbia do terceiro par de pernas. Ambas as estruturas podem ser consideradas exemplos de morfologias ditas relevantes (senso Bernays, 1991) do ponto de vista de seleção devido aos seus atributos ecológico-comportamentais (e.g., alimentação, camuflagem, especiação). Ao mesmo tempo, ao se considerar outras estruturas analisadas, estas trajetórias não são totalmente distintas, uma vez que estruturas como largura do pronoto e comprimento dos últimos antenômeros apresentam coeficientes bastante similares. Ainda, por estes dois coreídeos apresentarem estruturas dotadas de coeficientes alométricos consideravelmente semelhantes e outros distintos, é possível que estes organismos estejam separando-se morfologicamente no tempo presente em relação à este estágio do desenvolvimento, uma vez que tal separação já ocorreu em relação aos adultos.

Deve-se ter em conta, no entanto, que as trajetórias ontogenéticas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* podem ser diferentes devido a dois fatores. Primeiramente, tal diferença pode ser dar em relação às taxas de crescimento das espécies, que podem ser diferentes embora as espécies possuam trajetórias ontogenéticas na mesma direção. Ainda, os organismos podem apresentar trajetórias distintas porém possuir as mesmas taxas de crescimento. Ambos os fatores, todavia, não são excludentes (Zelditch et al., 2003). Para um real entendimento do peso do crescimento alométrico entre as espécies na disparidade da forma de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, é preciso considerar outras variáveis além do crescimento alométrico, como a forma inicial das duas espécies e as taxas de crescimento destas (Zelditch et al., 2003). Especificamente para este caso, têm-se que a forma inicial das duas espécies é a mesma mas não houve um controle sobre as taxas de crescimento por instar, excetuando-se a largura da cabeça. Para tanto, torna-se necessário desenvolver estudos de modelagem da forma destes organismos, onde as três variáveis envolvidas sejam controladas ou fixadas separadamente.

Não foi encontrado nenhum trabalho na literatura que tenha utilizado semelhante método a este para detecção e caracterização de alometria em Insecta. Em Hemiptera, os trabalhos encontrados utilizaram técnicas multivariadas tais como análises de componentes principais em heterópteros aquáticos para estabelecer polimorfismos de forma e tamanho (Fairbain, 1992), bem como para comparar os três tipos de alometria (estática, ontogenética e evolutiva) em espécies de Gerridae (Klingenberg & Zimmermann, 1992b).

As formas das tíbias do terceiro par de pernas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* não são diferentes no primeiro instar ninfal, indicando que estes organismos são morfologicamente idênticos quando eclodem. No segundo instar, a forma destas tíbias tornam-se distintas, indicando ser este o instar no qual estas espécies iniciam o processo de diferenciação para esta estrutura. A tíbia, por ser o caráter dotado de mudança ontogenética diferencial mais conspícua nas duas espécies, consta como a estrutura que assegura a diferenciação de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* em condições naturais a partir do terceiro instar. Este estudo, no entanto, não encontrou critério adequado de diferenciação das espécies em campo no que diz respeito aos primeiros ínstars. Como futuras orientações para pesquisa, a caracterização das alometrias ontogenéticas e evolutivas especificamente para a estrutura tíbia de espécies da tribo Anisoscelidini poderia vir a contribuir no conhecimento da sistemática e inferências relativas ao processo de especiação neste táxon como um todo.

As bases desenvolvimentais da alometria em Insecta consideram que o tamanho final de cada estrutura depende da magnitude geral do organismo, através de um sistema de informações hormonais que atuam e tomam decisões nos níveis celular e de órgão (Stern & Emlen, 1999). No caso de *A. foliacea marginella* e dos coreídeos que apresentam a expansão nas últimas tíbias, o fenômeno alometria *per se*, seja analisado sob um enfoque uni- ou multivariado, possibilitou o entendimento do desenvolvimento das estruturas analisadas no tempo (ontogenia) e no espaço (caracterização espacial e de magnitude das estruturas) (Zelditch, em preparação). Ainda, a disparidade da forma da tíbia aqui gerada ao longo da ontogenia foi, independente do processo correspondente, um agente potencial de incremento de diversidades

morfológicas e de espécies. Do mesmo modo, cabe salientar que os fatores ecológico-evolutivos que provavelmente explicam a seleção e as posteriores radiação e manutenção deste padrão foram fracamente exploradas, a destacar a seleção sexual (Aldrich *et al.*, 1982; Eberhard, 1998) e a camuflagem (ver Schuh & Slater, 1995).

#### 4. PERFORMANCE DOS IMATUROS DE *Holymeria clavigera* E *Anisoscelis foliacea marginella* EM TRÊS ESPÉCIES DE PASSIFLORACEAE

##### 4.1. INTRODUÇÃO

Os estudos de performance constam como uma das principais ferramentas para o entendimento da trajetória dos diversos componentes da história de vida dos organismos e das suas inter-relações, as quais culminam em uma relação custo-benefício denominada *trade-off*. No caso dos insetos fitófagos e suas plantas hospedeiras, os estudos de performance não somente adicionam informações referentes ao indivíduo como também à dinâmica presente no sistema estudado, inferindo padrões relativos a ao menos dois níveis tróficos. A interação e conseqüente performance de um inseto sobre uma dada planta pode ser em parte resultante das propriedades físicas e químicas desta, a qual por vezes influencia os demais níveis tróficos envolvidos (forças *bottom-up*). Ainda, pode refletir as pressões impostas pelo padrão de oviposição das fêmeas, assim como por pressões relativas aos seus inimigos naturais (forças *top-down*) (ver Bernays & Graham, 1988; Thompson, 1988; Abrahamson & Weis, 1997). Por fim, pode ser elucidativo no entendimento de processos tais como a evolução dos graus de especialização de insetos em plantas (Joshi & Thompson, 1995).

Para Insecta em geral, os estudos de performance para imaturos e adultos de ordens largamente estudadas como Lepidoptera e Coleoptera possuem diferentes enfoques e objetivos quando comparados com a ordem Hemiptera. A razão para tal fato provavelmente deve-se às dificuldades relativas a um delineamento experimental que assegure a qualidade nutricional das plantas hospedeiras dos hemípteros, uma vez que tais insetos são sugadores e por vezes não estão restritos exclusivamente a partes vegetativas ou reprodutivas. A maioria dos estudos restringe-se a sugadores de sementes devido a facilidades quanto à obtenção, manejo e qualidade do recurso em questão.

No concernente à família Coreidae, alguns estudos caracterizaram parâmetros como duração dos estágios de ovo e ninfa em um tipo de recurso alimentar, como visto para *Leptoglossus gonagra* (Amaral F<sup>o</sup> & Storti F<sup>o</sup>, 1976),

*Veneza stigma* (Amaral F<sup>o</sup> & Cajueiro, 1977) e *Crinocerus sanctus* (Amaral F<sup>o</sup>, 1986). Outros estudos consideraram a influência de diferentes hospedeiras na performance de coreídeos utilizadores de hospedeiras importantes na alimentação humana, a salientar *Phthia picta* (Amaral F<sup>o</sup>, 1981) *Leptoglossus zonatus* (Panizzi, 1989) e *Anasa tristis* (Bonjour & Fargo, 1989). Para este último coreídeo, também investigou-se a influência de variáveis abióticas como temperatura na performance (Fargo & Bonjour, 1988).

Para o gênero *Anisoscelis*, os registros relativos aos estudos de performance limitam-se a notas referentes à mortalidade de ninfas de *A. foliacea* quando criadas isoladas e agrupadamente, havendo mortalidade total nas ninfas isoladas e alta nas agrupadas (Amaral F<sup>o</sup>, 1976 *apud* Amaral F<sup>o</sup>, 1981). Para *Holymenia*, a criação de imaturos de *Holymenia histrio* em frutos de diferentes genótipos do maracujazeiro acarretou na mortalidade de todas as ninfas de quarto instar submetidas à quatro das cinco variedades oferecidas, dentre as quais *P. edulis*. Apenas parte das ninfas criadas em *P. nitida* chegaram ao quinto instar (Baldin & Boiça Jr., 1999).

A exploração de partes vegetativas e reprodutivas das plantas hospedeiras como recursos potenciais ainda não foi estudada em *Holymenia clavigera* e *Anisoscelis foliacea marginella*, tampouco as conseqüências do uso de certos recursos na performance dos imaturos. A alta mobilidade das ninfas de ambas as espécies proporciona uma possibilidade potencial de uso de várias partes da planta, contrariamente ao padrão encontrado em vários imaturos de outras ordens de insetos fitófagos. Esta exploração diferencial de tecidos e espécies pode refletir as necessidades nutricionais destes insetos e ao mesmo tempo pode ser efetiva no contato moderado com metabólitos secundários de suas hospedeiras – os glicosídeos cianogênicos (ver Seigler, 1991) - auxiliando indiretamente o processo de detoxificação. Conhecidas como as teorias do balanço nutricional (ver Simpson *et al.*, 1995) e da diluição de toxinas, a primeira já foi testada em afídeos (Abisgold *et al.*, 1994) e ambas em lepidópteros generalistas (Singer *et al.*, 2002). Se este uso misto de espécies e tecidos ocorrer em *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, mesmo sendo estes coreídeos restritos às passifloráceas, estes podem ser considerados mixadores do ponto de vista alimentar (M.S. Singer, Universidade do Arizona, comunicação pessoal). Entende-se por organismo mixador aquele

que forrageia e se alimenta de várias partes de poucas ou diversas plantas hospedeiras, estas não necessariamente relacionadas taxonomicamente. Tal condição por vezes não se enquadra dentro dos conceitos de oligo- e polifagia (ver Bernays & Chapman, 1994).

Este estudo objetivou descrever a performance dos imaturos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* em três espécies de Passifloraceae ocorrentes no estado do Rio Grande do Sul: *Passiflora suberosa*, *Passiflora misera* Linnaeus e *Passiflora edulis* (Figura 4.1). As duas primeiras constam como os maracujás nativos de maior abundância do Estado, sendo a terceira uma planta também nativa, porém cultivada e cujos frutos são comestíveis e comercializados (Sacco, 1980). *P. edulis* é raramente encontrada em sua forma silvestre no estado do RS, estando restrita a regiões de Mata Atlântica. As formas silvestre e cultivada desta espécie, contudo, são similares em porte e tamanho de estruturas (Mondin, C. & Moreira, G.R.P., UFRGS, dados não publicados). Ainda, visa a quantificar a performance e o uso de diversas partes de plantas e / ou espécies oferecidas através do contato dos imaturos com as três passifloráceas citadas conjuntamente. Estas informações podem servir como base a futuros estudos que testem a hipótese destes organismos apresentarem uma atividade alimentar voltada a um balanço nutricional, uma diluição de toxinas ou ambos, uma vez que para testá-la torna-se necessário isolar os nutrientes e os compostos do metabolismo secundário, bem como quantificar a frequência da atividade alimentar.

## 4.2. MATERIAL & MÉTODOS

### 4.2.1. INSETOS E PLANTAS

O sistema de obtenção de ovos correspondeu ao exposto no item 2.2, porém adultos também foram coletados no Município de Eldorado do Sul, RS (30°08'S 51°13'W). Para evitar indução de respostas e / ou preferência entre gerações, se existente, o alimento dos adultos constou de ramos relativos a várias espécies de maracujás, a saber: *P. suberosa*, *P. misera*, *P. edulis*, *Passiflora alata* e *Passiflora caerulea* Linnaeus, seguindo-se os métodos expostos no item 2.2. Excetuando-se *P. edulis*, as plantas foram obtidas de um cultivo massal localizado nas dependências do Departamento de Zoologia da



Figura 4.1. *P. suberosa* (A), *P. edulis* (B) e *P. misera* (C).

UFRGS (item 2.2). *P. edulis* foi obtida através de um cultivo massal localizado nas dependências do Centro de Biotecnologia da UFRGS, bem como da Estação Agronômica da UFRGS (Município de Eldorado do Sul, RS). O experimento foi conduzido em uma câmara climatizada ( $25 \pm 2$  °C; 14 h luz : 10 h escuro).

#### 4.2.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Após a eclosão, as ninfas foram acondicionadas por espécie nos seguintes tratamentos: criação em *P. suberosa*, criação em *P. misera*, criação em *P. edulis* e criação nas três passifloráceas conjuntamente. Excetuando-se o tratamento misto, o experimento foi realizado em uma mesma época, cujos tratamentos eram estabelecidos de forma alternada e cujas ninfas advinham dos mesmos adultos (ver item 2.2). O sistema de fornecimento e troca de alimento correspondeu ao mesmo utilizado para os adultos. Como premissa à escolha das plantas a este experimento era necessário que, para cada passiflorácea, tanto estruturas vegetativas quanto reprodutivas estivessem presentes em uma mesma época, durante um período que possibilitasse o desenvolvimento completo dos indivíduos submetidos à referida hospedeira. Ainda, foram levados em conta fatores como as condições nativa silvestre (*P. suberosa* e *P. misera*) e nativa cultivada (*P. edulis*) destas passifloráceas em relação ao estado do Rio Grande do Sul, bem como a abundância destas espécies, o que indiretamente infere a relevância ecológica para entendimento da interação entre os coreídeos e suas hospedeiras.

As ninfas foram marcadas de acordo com um sistema que possibilitou acompanhar a trajetória de cada indivíduo no decorrer do seu desenvolvimento. Para tanto, utilizou-se um sistema de marcação de cores por região do corpo das ninfas. Estas foram pintadas com tinta atóxica (Faber Castell®), utilizando-se para tal a parte lateral de uma agulha histológica. Foram escolhidas duas regiões do corpo e dez cores, o que resultou na diferenciação de vinte indivíduos. As regiões do corpo pintadas foram o tórax e o abdome, ambas na parte dorsal. As cores utilizadas foram branco, amarelo, laranja, rosa, vermelho, verde, azul claro, azul escuro, marrom e preto. Deste modo, as ninfas possuíam o seguinte código de identificação: ninfa número um: pintada de branco no tórax; ninfa número dois, pintada de branco no abdome, e assim

sucessivamente. Foram evitadas regiões tais como as pterotecas e as glândulas repugnatórias. Devido ao fato das exúvias portarem a cor correspondente ao animal ao qual pertenciam, o sistema de identificação foi facilitado pela informação rapidamente obtida através destas. As ninfas foram repostas em caso de morte, de modo que cada gaiola possuía cerca de vinte ninfas por tratamento.

Os parâmetros observados foram o tempo de desenvolvimento por instar e total, a mortalidade por instar e total, o tamanho dos adultos e as estruturas vegetais sugadas em cada instar por planta hospedeira. Este último parâmetro foi obtido através de duas observações focais diárias, realizadas nos turnos da manhã e tarde. Quando as ninfas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* foram criadas no tratamento cujas hospedeiras foram oferecidas conjuntamente, notificou-se se um mesmo indivíduo utilizou diferentes partes da planta em um mesmo instar e em ínstars distintos, sendo este um parâmetro indireto da condição de mixadores que estes insetos possam vir a ter.

#### 4.2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os componentes da história de vida referentes à performance individual – o tempo de desenvolvimento total e o tamanho – foram primeiramente analisados em separado por componente por coreídeo. Ambos os parâmetros foram submetidos à análise de variância e, no caso de diferença significativa entre tratamentos, estes foram submetidos aos testes de Tukey-Kramer ou Dunn. Este último teste foi utilizado no caso de não haver uma normalidade na distribuição das freqüências ou das variâncias não serem homoscedásticas, ambas foram detectadas através do teste Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, respectivamente (Sokal & Rohlf, 1995; Zar, 1999).

Posteriormente, os dados foram analisados em conjunto visando a se determinar se um dos tratamentos confere uma melhor performance aos imaturos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. A performance é aqui tratada como um termo multidimensional que engloba conjuntamente todos os parâmetros da história de vida aqui mensurados – a sobrevivência e o desenvolvimento ninfal totais e o tamanho à emergência (senso Thompson, 1988). Porém, devido ao fato da sobrevivência corresponder a um fator populacional e ser neste caso tratado como uma variável binária, e os demais

serem fatores relativos ao indivíduo, bem como variáveis quantitativas contínuas, estes foram analisados em separado. Primeiramente, avaliou-se o efeito dos tratamentos e da espécie de coreídeo na sobrevivência total dos imaturos através da medida de semelhança Distância Euclidiana (1000 iterações) (Valentin, 2000). Após, avaliou-se o efeito do tratamento, espécie de coreídeo e sexo nos parâmetros relativos ao tempo de desenvolvimento e o tamanho apenas nos sobreviventes até ao estágio adulto. Para tanto, utilizou-se igualmente a medida de semelhança Distância Euclidiana, com uma iteração de 10000 vezes. Todos os testes foram empregados utilizando-se um alfa igual a 0,05. Ambas as medidas foram calculadas utilizando-se o programa Multiv (V.P. Pillar, [www.ufrgs.br/ufrgs](http://www.ufrgs.br/ufrgs) - Departamento de Ecologia, Laboratório de Ecologia Quantitativa). Os dados relativos ao desenvolvimento e tamanho são apresentados graficamente como média  $\pm$  erro padrão. Cabe ressaltar que os parâmetros sobrevivência e tempo de desenvolvimento por instar não foram analisados estatisticamente.

Devido ao baixo número amostral obtido no primeiro instar para as observações alimentares e ao fato do fenômeno escolha por tecidos e espécies de passifloráceas ser desenvolvido em seções posteriores do presente trabalho, estes dados não foram analisados estatisticamente.

### 4.3. RESULTADOS

Tanto *H. clavigera* quanto *A. foliacea marginella* apresentaram uma sobrevivência ao estágio adulto inferior a 50 % em todos os tratamentos (Figura 4.2.A). Não houve efeito dos tratamentos e da espécie de coreídeo na sobrevivência das ninfas de ambas as espécies (Distância Euclidiana, 1000 iterações) (Tabela 4.1) Quando os ínstars foram analisados separadamente, observou-se que a sobrevivência das ninfas de *H. clavigera* decaiu no quarto instar no tratamento misto, ocorrendo padrão semelhante em *A. foliacea* no mesmo tratamento e no tratamento correspondente à criação com *P. suberosa* (Figura 4.3). Para este coreídeo, porém, as quedas de sobrevivência mais pronunciadas ocorreram nos tratamentos *P. misera* e *P. edulis* no terceiro instar (Figura 4.3).

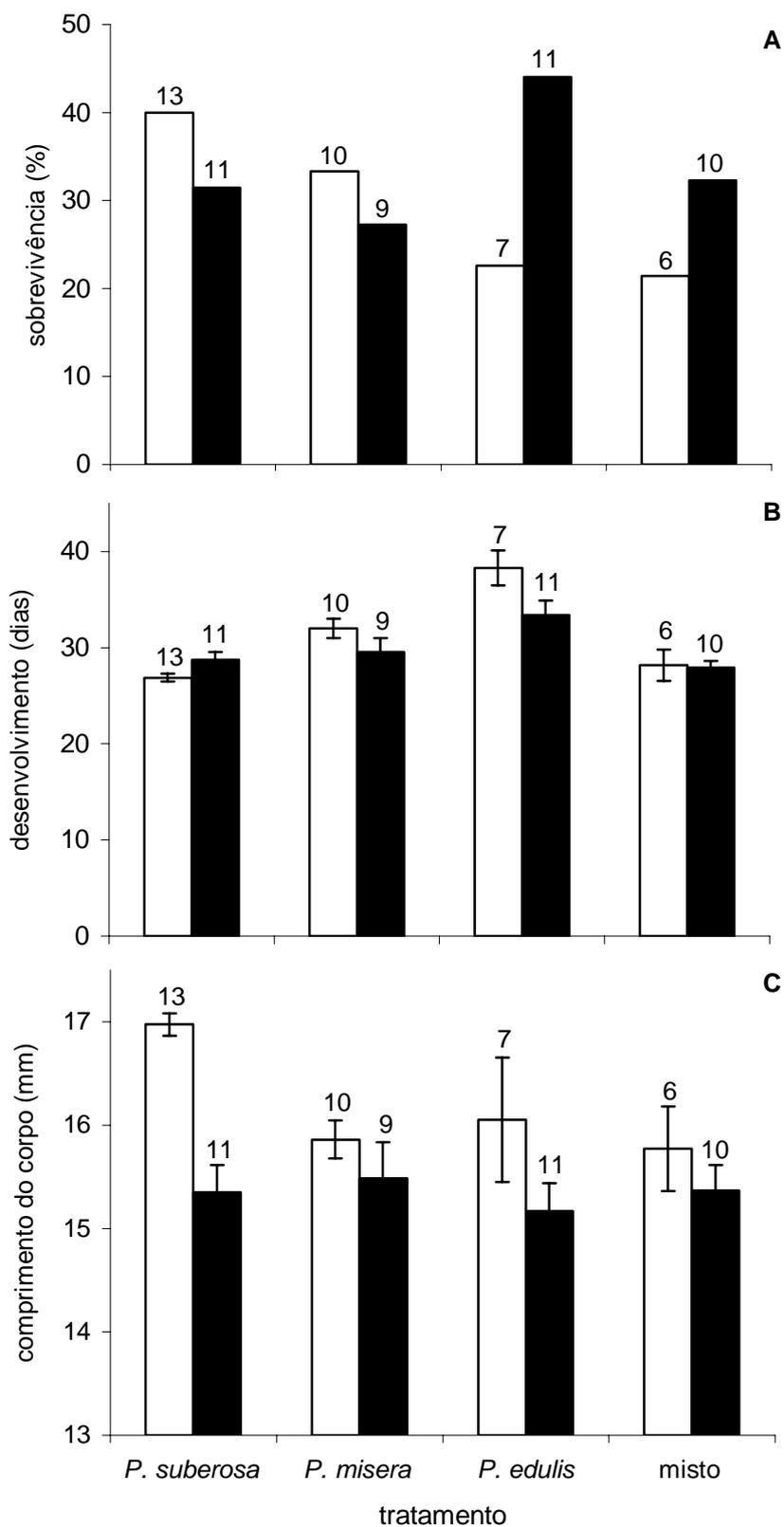


Figura 4.2. Sobrevivência (A) e tempo de desenvolvimento total (B) das ninfas e tamanho dos adultos (C) de *H. clavigera* □ e *A. foliaceae marginella* ■ (média  $\pm$  erro padrão). Números acima das barras representam o número de indivíduos correspondentes à cada tratamento.

Tabela 4.1. Resumo da análise de Distância Euclidiana para efeito do tratamento e espécie de coreídeo na sobrevivência das ninfas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (1000 iterações;  $\alpha = 0,05$ ).

fonte de variação		comparação	soma dos quadrados	<i>P</i>
tratamento	entre grupos		0,223820	0,798
	<i>P. suberosa</i>	<i>P. misera</i>	0,086244	0,562
	<i>P. suberosa</i>	<i>P. edulis</i>	0,030496	0,715
	<i>P. suberosa</i>	misto	0,211115	0,327
	<i>P. misera</i>	<i>P. edulis</i>	0,011671	0,829
	<i>P. misera</i>	misto	0,028158	0,727
	<i>P. edulis</i>	misto	0,072523	0,630
	coreídeo	entre grupos		0,077776
	<i>H. clavigera</i>	<i>A. foliacea</i>	0,077776	0,575
interação	coreídeo x tratamento		0,895180	0,252

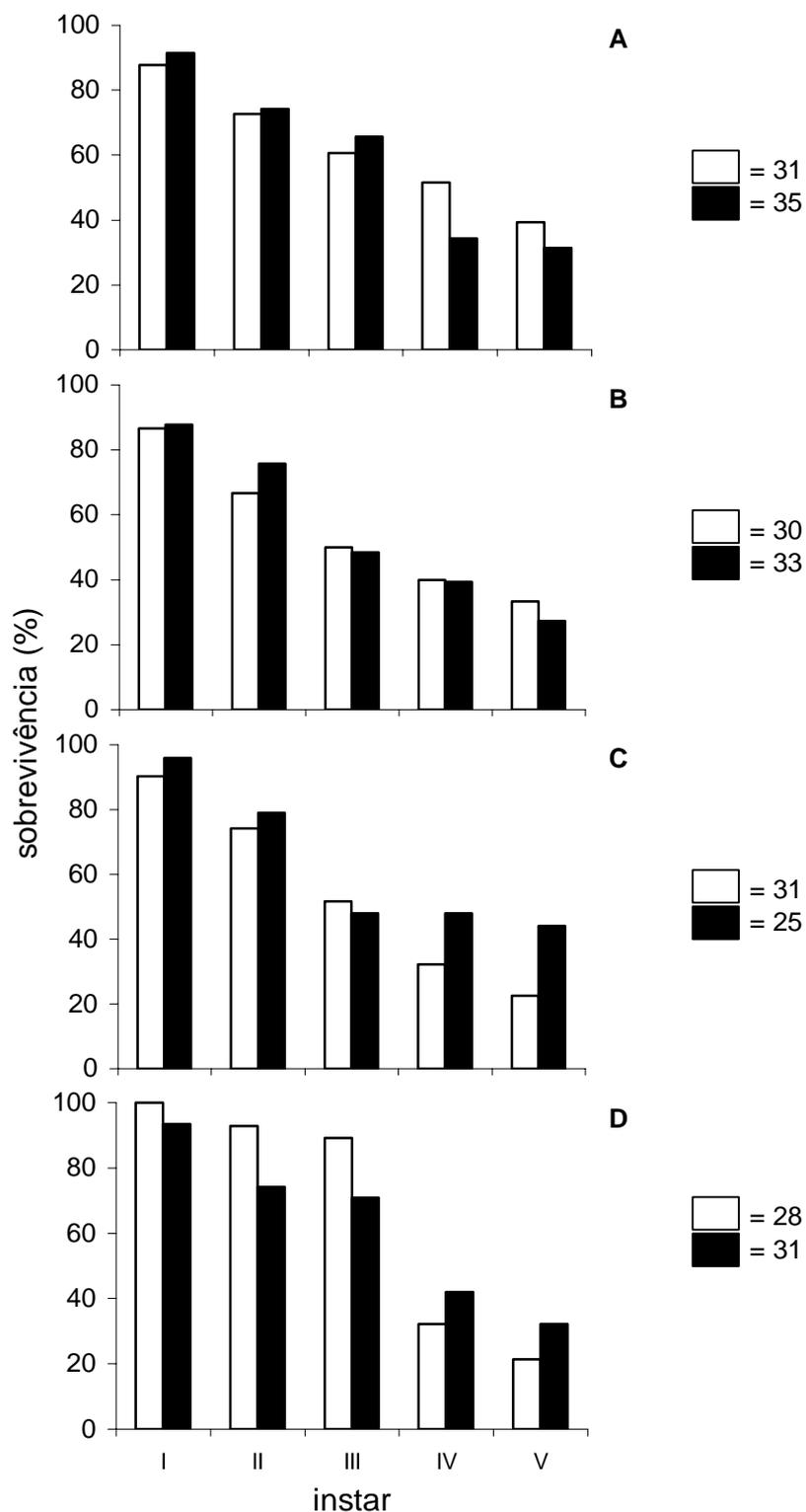


Figura 4.3. Sobrevivência das ninfas de *H. claviger* (□) e *A. foliaceae marginella* (■) quando alimentadas com *P. suberosa* (A), *P. misera* (B), *P. edulis* (C) e com as três passifloráceas conjuntamente (D). Números associados às legendas representam o total de indivíduos submetidos por tratamento / espécie.

A criação em *P. suberosa* conferiu tempos de desenvolvimento diferentes para os imaturos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (Figura 4.2.B). Em relação ao primeiro coreídeo, as ninfas criadas nesta passiflorácea diferiram significativamente daquelas criadas em *P. misera* (testes Múltiplos de Dunn,  $P < 0,05$ ) e *P. edulis* (testes Múltiplos de Dunn,  $P < 0,001$ ). Nesta mesma espécie, as ninfas criadas com *P. edulis* também diferiram significativamente das criadas em todas as passifloráceas conjuntamente (testes Múltiplos de Dunn,  $P < 0,01$ ). Para *A. foliacea*, tais diferenças foram em relação aos tratamentos *P. suberosa versus P. edulis* (testes Múltiplos de Tukey-Kramer,  $P < 0,05$ ) e *P. edulis versus* todas as passifloráceas (testes Múltiplos de Tukey-Kramer,  $P < 0,05$ ).

Analisando-se o tempo de desenvolvimento por instar, têm-se que o padrão de duração dos ínstaes dois, três e quatro variou nos quatro tratamentos em ambos os coreídeos (Figura 4.4). Em todos os casos, todavia, o primeiro instar foi pronunciadamente mais curto que os demais.

Para o componente tamanho, as ninfas de *H. clavigera* atingiram maiores valores no tratamento *P. suberosa* (Figura 4.2.C). Esta diferença foi significativa quando este tratamento foi comparado com *P. misera* (testes Múltiplos de Dunn,  $P < 0,01$ ) e com todas as passifloráceas conjuntamente (testes Múltiplos de Dunn,  $P < 0,05$ ). Para *A. foliacea marginella*, o tamanho dos adultos não variou significativamente entre os tratamentos (ANOVA,  $P = 0,8892$ ).

Para ambas as espécies, os tratamentos interferiram na performance das ninfas (Distância Euclidiana) (Tabela 4.2). As ninfas criadas com *P. edulis* tiveram performances significativamente inferiores quando comparadas com os três tratamentos restantes. Ainda, foi encontrada uma diferença significativa entre os tratamentos *P. suberosa versus P. misera*. Não houve efeito da interação entre as variáveis independentes tratamento, espécie de coreídeo e sexo quando analisadas aos pares e conjuntamente, indicando que somente os tratamentos afetam a performance das ninfas e que tal efeito ocorre nas duas espécies de coreídeos (Distância Euclidiana) (Tabela 4.2).

Em todas as passifloráceas, observou-se um progressivo uso de tecidos reprodutivos ao longo da ontogênese por parte de ambas as espécies (Figuras 4.5 e 4.6). *H. clavigera* utilizou com mais frequência os frutos de *P. suberosa*

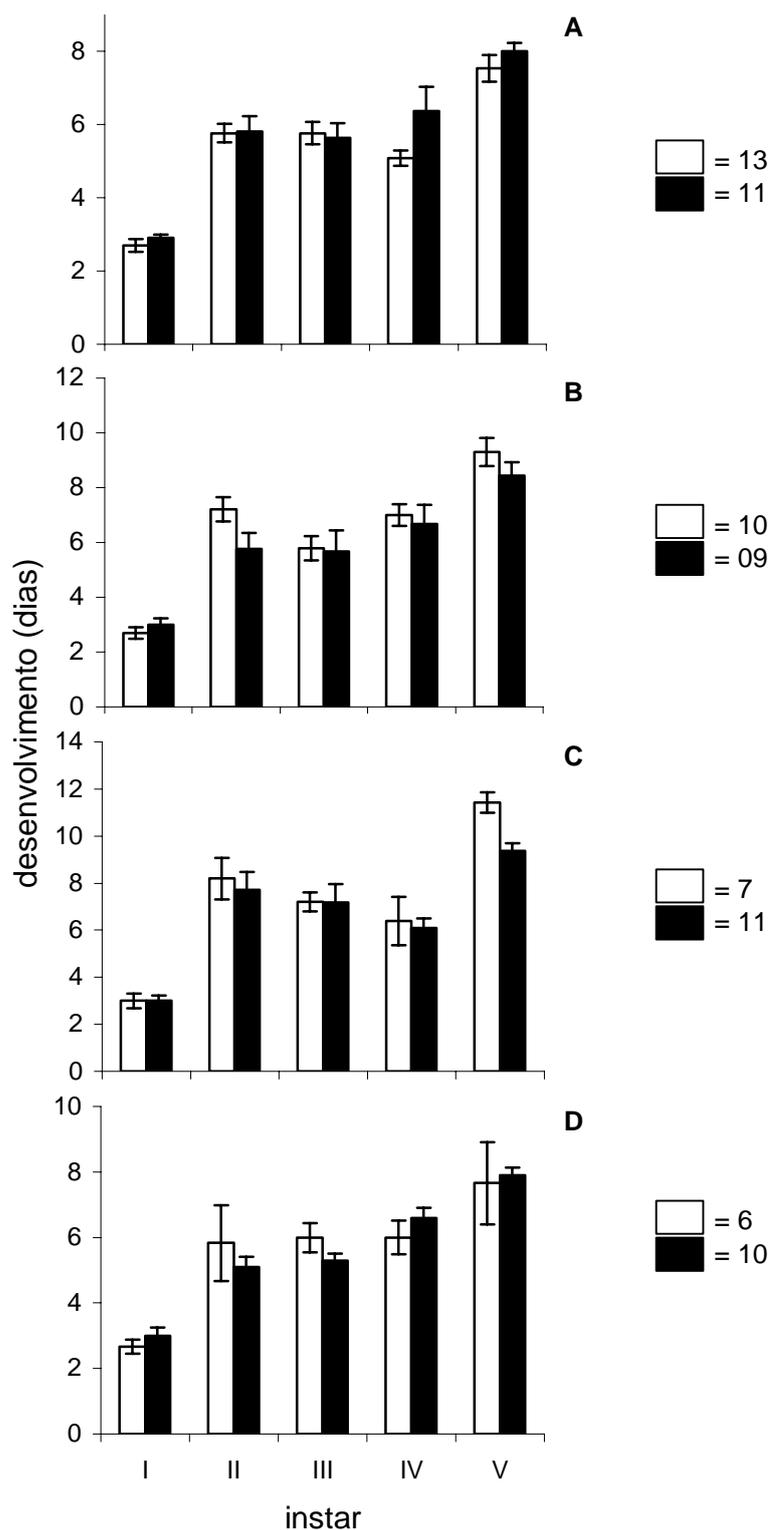


Figura 4.4. Tempo de desenvolvimento (média  $\pm$  erro padrão) das ninfas de *H. clavigera* □ e *A. foliaceae marginella* ■ quando alimentadas com *P. suberosa* (A), *P. misera* (B), *P. edulis* (C) e com as três passifloráceas conjuntamente (D). Números associados às legendas representam o total de indivíduos por tratamento / espécie.

Tabela 4.2. Resumo da análise de Distância Euclidiana para efeito do tratamento, espécie de coreídeo e sexo na performance das ninfas de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (10000 iterações;  $\alpha = 0,05$ ). Asteriscos indicam diferença significativa entre as fontes de variação e suas respectivas comparações.

fonte de variação		comparação	soma dos quadrados	P
tratamento	entre grupos		0,0001	0,0001*
	<i>P. suberosa</i>	<i>P. misera</i>	< 0,0001	0,0273*
	<i>P. suberosa</i>	<i>P. edulis</i>	0,0001	0,0001*
	<i>P. suberosa</i>	misto	< 0,0001	0,4298
	<i>P. misera</i>	<i>P. edulis</i>	< 0,0001	0,0044*
	<i>P. misera</i>	misto	< 0,0001	0,0868
	<i>P. edulis</i>	misto	< 0,0001	0,0001*
coreídeo	entre grupos		< 0,0001	0,0769
	<i>H. clavigera</i>	<i>A. foliacea</i>	< 0,0001	0,0769
sexo	entre grupos		< 0,0001	0,2600
	macho	fêmea	< 0,0001	0,2600
interação	tratamento x coreídeo		< 0,0001	0,1016
	tratamento x sexo		< 0,0001	0,7096
	coreídeo x sexo		< 0,0001	0,8092
	três variáveis		< 0,0001	0,2558

Figura 4.5. Ocasões de alimentação das ninfas de primeiro a quinto instar (figuras 4.5.A a 4.5.E, respectivamente) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■ em relação às estruturas de *P. suberosa*. **RAP**, região apical; **FOL**, folha; **CAU**, caule; **BOT**, botão; **FLR**, flor; **FRU**, fruto. Números associados às legendas representam o total de observações por instar / espécie.

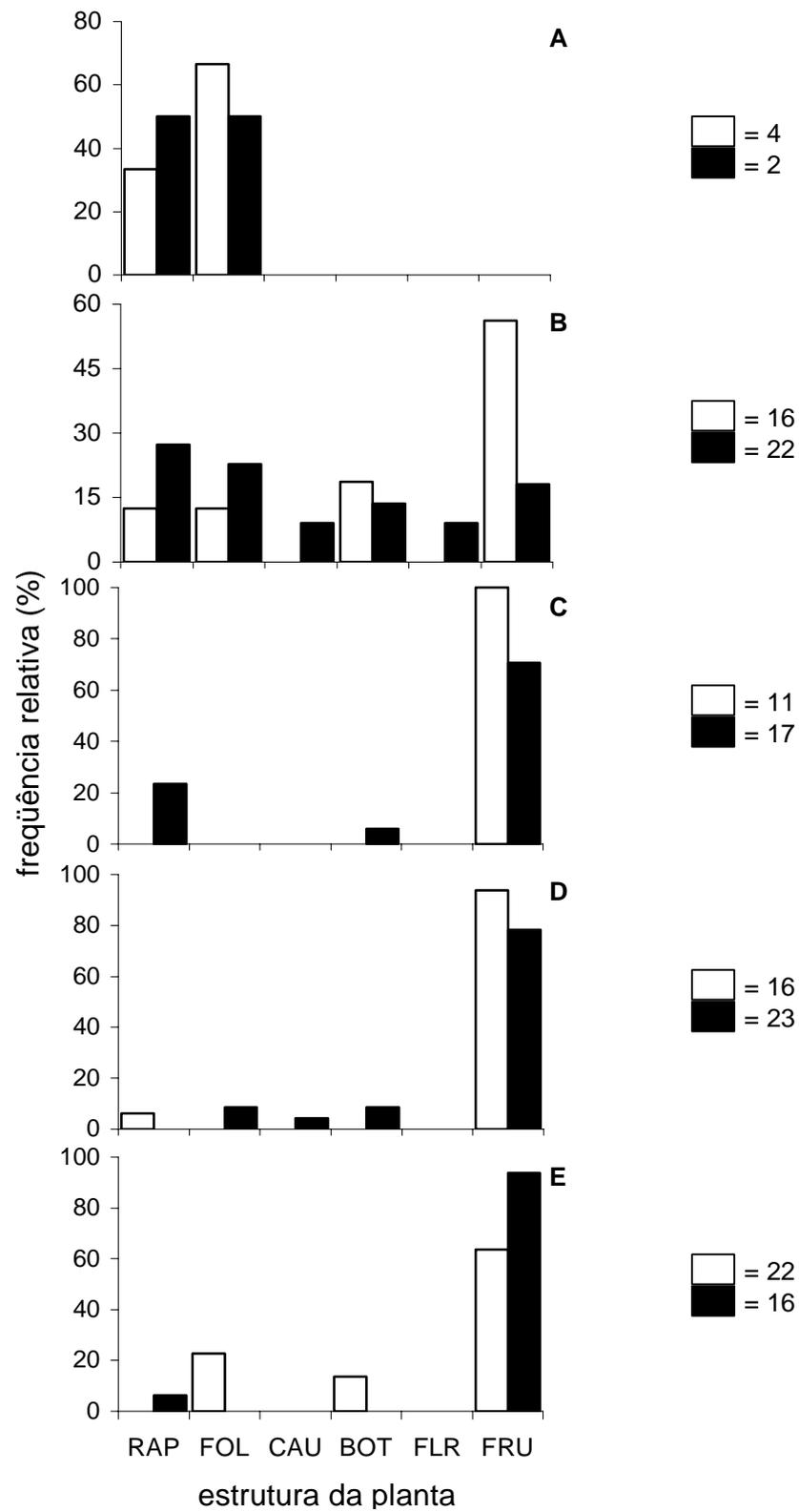
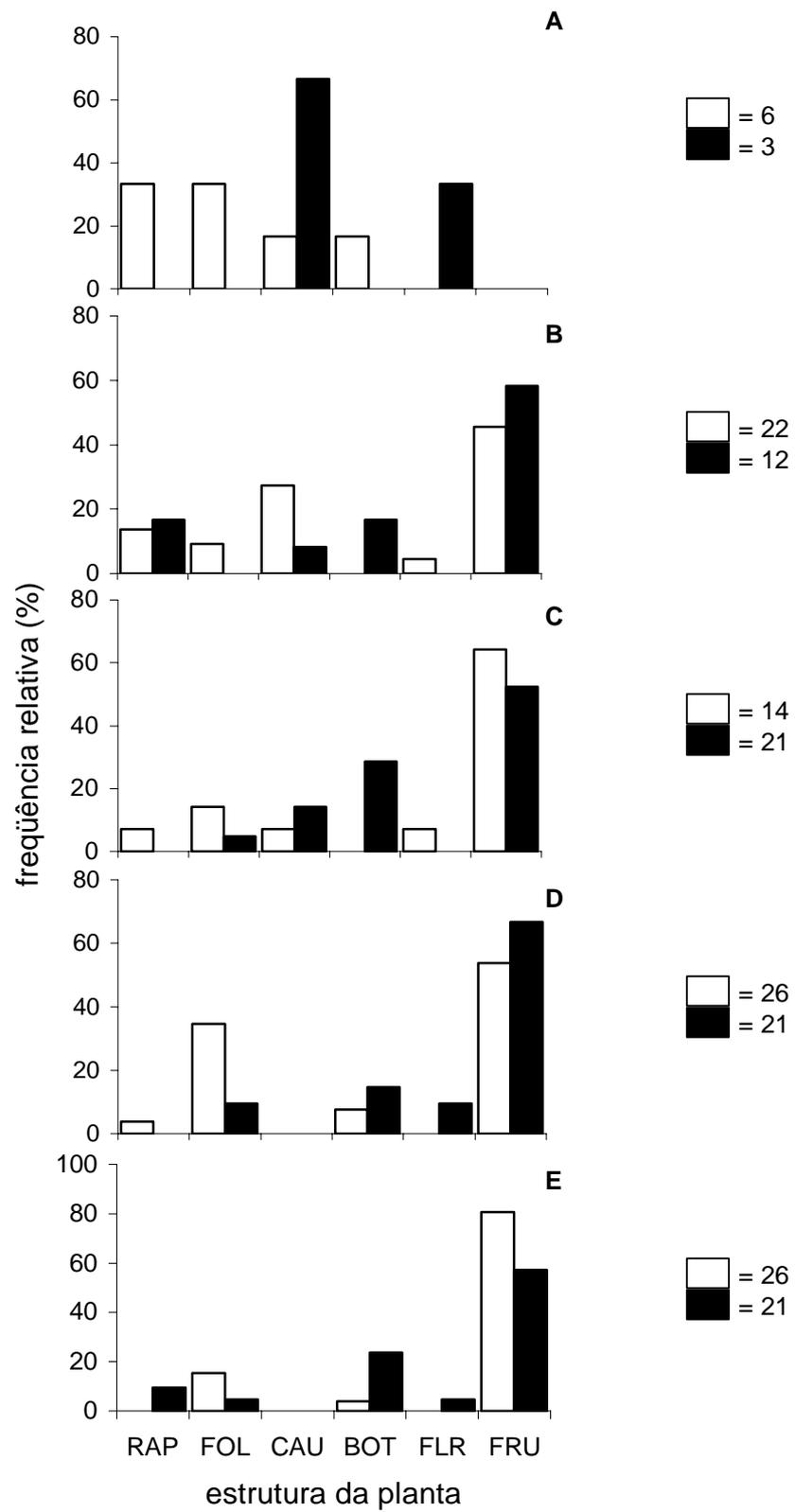


Figura 4.6. Ocasões de alimentação das ninfas de primeiro a quinto instar (figuras 4.6.A a 4.6.E, respectivamente) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■ em relação às estruturas de *P. misera*. **RAP**, região apical; **FOL**, folha; **CAU**, caule; **BOT**, botão; **FLR**, flor; **FRU**, fruto. Números associados às legendas representam o total de observações por instar / espécie.



seguido de *P. misera*. O uso de frutos é menos acentuado em *A. foliacea marginella* quando comparado com *H. clavigera*. Os dados indicam que ambos os coreídeos utilizaram as partes vegetativas de *P. edulis* com maior frequência quando comparado com *P. suberosa* e *P. misera* (Figura 4.7).

A observação individual focal da atividade alimentar das ninfas de ambos os sugadores no tratamento misto registrou o uso variado de partes e espécies de plantas (Tabelas 4.3 e 4.4). Este uso é melhor observado em ninfas de últimos ínstars, cuja atividade alimentar é mais freqüente e cujos estádios são via de regra mais longos.

#### 4.4. DISCUSSÃO

*P. suberosa* é a hospedeira que confere melhor performance para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* quando comparada com *P. misera*, *P. edulis* e o uso conjunto de todas as passifloráceas. Ao menos três fatores, os quais não são excludentes, podem explicar tal fato. Primeiramente, *P. suberosa* é um maracujá nativo que mantém a sua forma silvestre, sendo supostamente uma das hospedeiras que mais tem interagido com o coreídeo em questão no tempo evolutivo. Ainda, trata-se do maracujá mais abundante no Rio Grande do Sul, o que corrobora a relevância ecológica desta hospedeira para os referidos coreídeos no sentido de constar como um nicho potencial e realizado para ambos. Terceiro, é a passiflorácea que apresenta estruturas vegetativas e reprodutivas disponíveis em praticamente todas as estações do ano. Contrariamente, *P. misera* - a hospedeira que confere segunda melhor performance para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* - sofre desfolha total e ausência de estruturas reprodutivas no outono e inverno (Rodrigues, 1999). Observações de campo e a criação destes coreídeos nestas estações indicam que estes não sofrem diapausa, estando ativos em épocas mais frias mesmo que em baixas densidades. Adicionalmente, dados preliminares indicam que os imaturos de *H. clavigera* não atingem o quarto instar quando alimentados com somente uma estrutura de *P. suberosa*, seja esta folhas, frutos, caule, botão ou região apical (D. Rodrigues & G.R.P. Moreira, UFRGS, dados não publicados). Deste modo, a perenidade de estruturas vegetativas e reprodutivas é

Figura 4.7. Ocasões de alimentação das ninfas de primeiro a quinto instar (figuras 4.7.A a 4.7.E, respectivamente) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■ em relação às estruturas de *P. edulis*. **RAP**, região apical; **FOL**, folha; **CAU**, caule; **BOT**, botão; **FLR**, flor; **FRU**, fruto. Números associados às legendas representam o total de observações por instar / espécie.

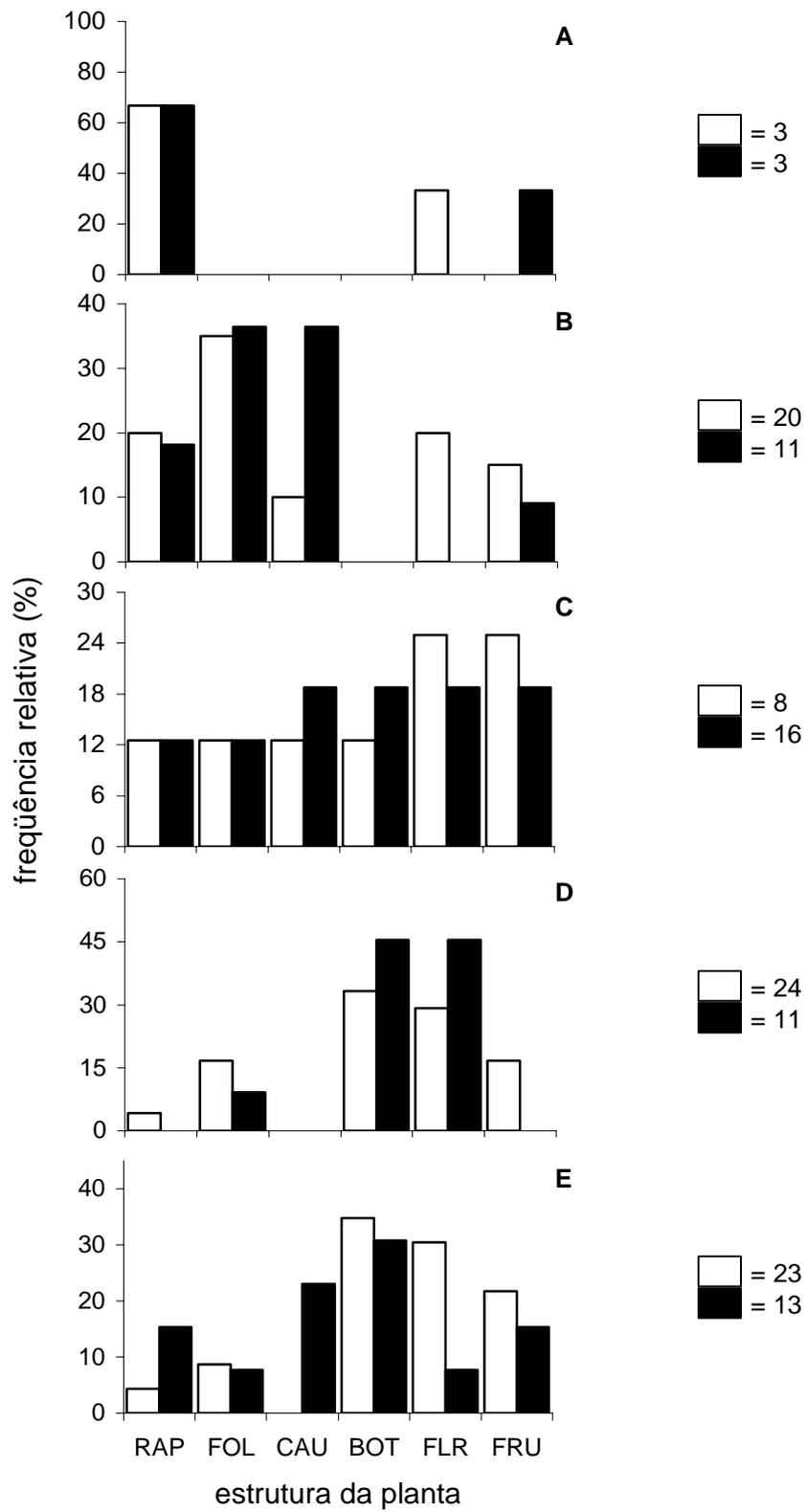


Tabela 4.3. Observações alimentares de imaturos de *H. clavigera* no decorrer do desenvolvimento. Indivíduos nos quais há mais de um registro por instar constam de observações efetuadas em dias diferentes. **BOT**, botão; **FOL**, folha; **FVe**, fruto verde; **FVi**, fruto violáceo; **NEC**, nectário extra-floral; **RA**, região apical.

indivíduo	instar				
	I	II	III	IV	V
1	FOL <i>P. misera</i>	FVe <i>P. misera</i>			
2		FVe <i>P. misera</i>		FVe <i>P. edulis</i>	
3			FVe <i>P. suberosa</i>	FVi <i>P. misera</i>	FVe <i>P. misera</i> FVe <i>P. suberosa</i>
4				FOL <i>P. misera</i> FVe <i>P. misera</i> NEC <i>P. edulis</i>	
5				FOL <i>P. misera</i>	FOL <i>P. edulis</i>
6				RA <i>P. misera</i>	FVi <i>P. misera</i> BOT <i>P. edulis</i> FVe <i>P. misera</i>
7					FOL <i>P. edulis</i> BOT <i>P. misera</i>
8					FOL <i>P. misera</i> FOL <i>P. misera</i>

Tabela 4.4. Observações alimentares de imaturos de *A. foliacea marginella* no decorrer do desenvolvimento. Indivíduos nos quais há mais de um registro por instar constam de observações efetuadas em dias diferentes. **BOT**, botão; **FLR**, flor; **FOL**, folha; **FVe**, fruto verde; **FVi**, fruto violáceo; **GAV**, gavinha.

indivíduo	instar				
	I	II	III	IV	V
1	GAV <i>P. edulis</i>			FVe <i>P. misera</i>	
2	GAV <i>P. edulis</i>			FVe <i>P. misera</i>	
3		BOT <i>P. misera</i>		BOT <i>P. misera</i>	BOT <i>P. misera</i>
4		FOL <i>P. suberosa</i>		BOT <i>P. misera</i>	
5			BOT <i>P. misera</i>	FVe <i>P. misera</i> FVe <i>P. suberosa</i>	
6				FVe <i>P. suberosa</i>	BOT <i>P. misera</i> BOT <i>P. misera</i>
7				BOT <i>P. misera</i>	FVe <i>P. suberosa</i>
8			FVe <i>P. suberosa</i> FVe <i>P. suberosa</i>		FVi <i>P. misera</i>
9					FVe <i>P. suberosa</i> FVe <i>P. suberosa</i> FVe <i>P. suberosa</i>
10				FVe <i>P. misera</i> FVe <i>P. misera</i> FVe <i>P. misera</i> FVe <i>P. suberosa</i>	
11					FLR <i>P. edulis</i> BOT <i>P. edulis</i>

provavelmente um importante requisito para a adequabilidade de uma hospedeira potencial para estes hemípteros.

O sexo não foi um fator influente nas diferenças de performance constatadas. Apesar das fêmeas aparentemente possuírem um abdome mais largo, uma considerável e sobreposta variação no comprimento do corpo é encontrada entre os sexos para ambas as espécies. Tal ausência de dimorfismo no comprimento do corpo aqui detectada é exceção e não regra do encontrado em coreídeos em geral, o que corrobora a condição dos adultos de *H. clavigera* como mímicos de icneumonídeos. Da mesma forma, a ausência de influência da espécie de coreídeo nas diferenças de performance encontrada entre os tratamentos indica que *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* são afetados e respondem igualmente às passifloráceas aqui utilizadas. Conseqüentemente, este resultado aponta uma semelhança ecológica destes sugadores no tangente à interação destes com as suas plantas hospedeiras.

A sobrevivência não foi afetada por nenhum tratamento e espécie de coreídeo, sendo inferior a 50 % em todos os casos. Este percentual é considerado alto para o obtido em outros heterópteros (ver discussão em Panizzi *et al.*, 1996). Fatores como a perda em termos nutricionais devido à ausência do solo, no caso destes hemípteros fazerem uso de xilema, ou o aumento de substâncias de defesa induzidas pela secção dos ramos podem explicar esta considerável mortalidade encontrada em todas as situações, o que precisa ser melhor investigado.

Tanto *H. clavigera* quanto *A. foliacea marginella* utilizam mais estruturas reprodutivas dos maracujás nativos silvestres *P. suberosa* e *P. misera* quando comparado com o maracujá cultivado *P. edulis*. Este fenômeno pode envolver não somente atributos adaptativos das hospedeiras nativas silvestres em detrimento das nativas cultivadas, como fatores limitantes de utilização das referidas plantas, tanto por razões físicas quanto químicas. Em relação aos fatores físicos, tecidos aparentemente mais nutritivos como os frutos são menos coriáceos nas passifloráceas nativas. Segundo, todas as regiões dos frutos de *P. suberosa* e *P. misera* são passíveis de uso, incluindo as sementes, por todos os estágios de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* devido ao tamanho dos estiletos destes sugadores (ver capítulos dois e três) e tamanho

dos frutos destas passifloráceas (0,6 a 1,5 cm de diâmetro em *P. suberosa* e 0,4 cm em *P. misera*; Sacco, 1980; Acioli, 1999). Provavelmente o contrário ocorre em *P. edulis*, cujos frutos possuem cerca de cinco a seis centímetros de diâmetro (Sacco, 1980). Deste modo, o uso de frutos não é tão intenso em hospedeiras cujas sementes estão em uma profundidade superior ao comprimento dos estiletos destes coreídeos, como é o caso de *P. edulis*. A provável impossibilidade do uso das sementes de *P. edulis* por estes coreídeos, assumindo-se ser este o recurso mais importante nutricionalmente, pode explicar parte da pior performance destes nesta passiflorácea. As relações entre tamanho do estilete e profundidade dos frutos em Heteroptera são pouco exploradas, mas casos de relação direta e evolução paralela em tempo presente têm sido relatados para alguns sugadores (Carrol & Boyd, 1992).

No relacionado às resistências químicas das plantas, os glicosídeos cianogênicos têm sido descritos e isolados em frutos violáceos de *P. edulis*, os quais já foram detectados para frutos de outras espécies de maracujás comestíveis (Chassagne & Crouzet, 1998). Ainda, as especulações relativas aos fatores químicos das plantas hospedeiras podem ser feitas analisando-se em separado as questões nutricionais (compostos primários) e as questões de defesa ou resistência das plantas hospedeiras (compostos secundários), os quais serão comentados em seções posteriores deste trabalho. No que diz respeito à segunda questão, o fato de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* utilizarem mais os tecidos vegetativos de *P. edulis* pode indicar que estes coreídeos seqüestrem, sintetizem ou transformem alguns compostos secundários desta hospedeira (ver Bowers, 1990), uma vez que estes podem estar mais presentes ou concentrados em partes vegetativas das plantas cultivadas devido a sua maior palatabilidade e conseqüente suscetibilidade (M.S. Singer, Universidade do Arizona, comunicação pessoal). Esta hipótese, contudo, necessita ser devidamente testada, uma vez que estes hemípteros aparentemente se defendem via glândulas repugnatórias, cujo composto é formado principalmente por álcoois, aldeídos e ésteres (Prestwich, 1976; Aldrich, 1988; Whitman *et al.*, 1990).

O padrão de alimentação individual no decorrer do desenvolvimento dos imaturos, caracterizado no tratamento misto, possibilitou vislumbrar diferentes modos de utilização das hospedeiras. Na referida situação, as ninfas

geralmente utilizaram mais de um tecido de distintas passifloráceas no mesmo instar e em instares diferentes. Tal padrão corrobora a hipótese da condição de mixadores destes imaturos e as especulações acima mencionadas, uma vez que vários heterópteros são conhecidamente polívoros. Os anisoscelidíneos aqui estudados são tidos como oligófagos por uma razão taxonômica (uso de plantas pertencentes à apenas uma família) mas não do ponto de vista de partes da planta utilizadas. Ainda, o tratamento misto proporcionou uma boa performance para ambos os coreídeos, os quais podem ser explicados por dois fatores principais. Primeiro, a alta mobilidade das ninfas que facilmente podem utilizar várias partes das hospedeiras presentes, possivelmente balanceando as suas necessidades nutricionais e moderando o contato com toxinas; segundo, a ausência de um padrão de seleção de oviposição das fêmeas *a priori* identificado. Em campo e em laboratório, os ovos são raramente encontrados nas plantas, sendo depositados agregada ou isoladamente em galhos secos vizinhos, gavinhas secas, estruturas metálicas de apoio aos ramos, diversas partes da gaiola, entre outros. Sabe-se que este segundo fator – a correlação entre preferência de oviposição e performance da prole - é um fenômeno mediado tanto por fatores genéticos quanto ambientais e pode explicar vários aspectos relacionados à evolução das interações inseto herbívoro – planta hospedeira (ver Abrahamson & Weis, 1997). No entanto, a performance oriunda do tratamento misto não foi superior em relação aos demais tratamentos, padrão já caracterizado para alguns insetos generalistas, incluindo dois heterópteros (Bernays & Minkenberg, 1997).

Uma assertiva geral sobre os hemípteros aqui não corroborada trata-se da ausência de atividade alimentar ocorrente no primeiro instar ninfal. Os registros gerais para Pentatomomorpha (e.g., Simmons & Yeagan, 1988), incluindo *Holymeria histrio* (Baldin & Boiça Jr, 1999), indicam a não alimentação neste instar. A atividade alimentar deste instar em estruturas vegetativas, a qual difere dos estádios posteriores, foi apenas encontrada para *Leptoglossus fulvicornis*, uma espécie de coreídeo próxima ao gênero *Anisoscelis* (Wheeler Jr. & Miller, 1990) e *Anasa tristis*, outro coreídeo associado à cucurbitáceas (Bonjour *et al.*, 1991).

Os fatores origem e “status” da planta – nativa ou exótica, silvestre ou cultivada – apresentam diferentes padrões de relação com os seus hóspedes,

ao menos no concernente aos hemípteros. Uma melhor performance derivada da alimentação de plantas cultivadas porém exóticas, tanto relativa aos estágios imaturos quanto ao adulto, foi constatada em alidídeos relacionados a leguminosas (Santos & Panizzi, 1998). Porém, a melhor performance em plantas nativas já foi constatada para algumas espécies de pentatomídeos (ver exemplos em Panizzi, 1997). As inferências gerais para o sistema aqui trabalhado apontam para uma melhor performance nas plantas nativas e silvestres. Dados preliminares de criação de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* em *P. alata* apontam uma alta mortalidade de ninfas jovens e um grande percentual de queda de estruturas reprodutivas das plantas quando os ramos são seccionados. Adicionalmente, amostragens em passifloretos no estado de São Paulo indicaram uma menor densidade de *H. histrio* e *A. foliacea marginella* nas cultivadas *P. alata* e *P. edulis* (Caetano *et al.*, 2000).

## 5. PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE *Holymeria clavigera* E *Anisoscelis foliacea marginella* EM RELAÇÃO A ATRIBUTOS INTRA- E INTERESPECÍFICOS DAS PASSIFLORÁCEAS E PADRÃO DE CAMPO CORRESPONDENTE

### 5.1. INTRODUÇÃO

Como exposto no capítulo anterior, os fenômenos mais estudados sobre as associações entre insetos e plantas são a performance de insetos, as supostas conseqüências para as plantas e os padrões de preferência dos insetos por estas. Este último fator pode ser abordado em dois níveis: a preferência de oviposição das fêmeas, que normalmente diz da futura relação da próxima geração com a planta, bem como a preferência alimentar (Abrahamson & Weis, 1997). Os estudos de preferência são também bastante elucidativos no relativo à determinação da gama de recursos utilizados por um dado inseto, o que acarreta na caracterização da condição mono-, oligo- ou polífaga que este possa vir a ter.

Dentro de Hemiptera, os estudos de preferência versam prioritariamente sobre a preferência alimentar, sendo empregados em organismos de importância econômica (e.g., Lye & Story, 1988; Panizzi, 1995; Ventura *et al.*, 2000). Para o sistema *Holymeria* : *Anisoscelis* – Passifloraceae, não constam estudos na literatura sobre o uso preferencial de plantas para oviposição e alimentação. Conforme mencionado anteriormente, as fêmeas de ambas as espécies não apresentam *a priori* um padrão de seleção de plantas hospedeiras e suas respectivas partes para oviposição diretamente, visto que em geral os ovos não são encontrados nas plantas. Entrementes, a relação destes coreídeos com os tecidos de suas hospedeiras necessita maior entendimento, uma vez que estes são oligófagos do ponto de vista taxonômico e mixadores do ponto de vista ecológico. Ainda, tais informações podem adicionar dados sobre aspectos nutricionais da dieta destes organismos.

A utilização preferencial destes hemípteros por uma dada estrutura de suas hospedeiras, se existente, é igualmente relevante para o desencadeamento de estratégias que venham a diminuir o impacto da predação pelos frutos dos maracujás cultivados. Esta utilização preferencial ou preferência alimentar é aqui investigada em relação a *Passiflora suberosa*, a

qual trata-se da espécie de maracujá mais abundante do estado do Rio Grande do Sul, bem como da hospedeira nativa que confere melhor performance às duas espécies (ver capítulo quatro). Conceitua-se aqui preferência senso Singer (2000), sendo esta um componente da história de vida comportamental do inseto. A aceitabilidade, por sua vez, é um componente multidimensional da planta que reflete as probabilidades desta ser selecionada para oviposição e / ou alimentação. A conseqüente interação é denominada eletividade (Singer, 2000). Da mesma forma, é avaliada a preferência alimentar em relação a atributos inter- e intraespecíficos de estruturas *a priori* consideradas relevantes para os coreídeos estudados, tais como o fruto das duas espécies de maracujás silvestres, *P. suberosa* e *Passiflora misera* (ver Osuna, 1984). Estas espécies foram selecionadas para investigação devido à semelhança de caracteres dos frutos tais como tamanho e coloração. Ainda, objetiva-se caracterizar quimicamente os frutos verdes e violáceos das duas espécies consideradas em relação ao percentual de carbono orgânico, nitrogênio total, umidade, pH e concentrações de fenóis totais e antocianinas. Como terceiro patamar de nível de preferência, avaliou-se a escolha destes coreídeos pelas três espécies de passifloráceas utilizadas no estudo de performance de imaturos, *P. suberosa*, *P. misera* e *Passiflora edulis*. Concomitante às três escalas de escolha, foi realizado um estudo de campo destinado a determinar o padrão de uso correspondente.

## 5.2. MATERIAL & MÉTODOS

### 5.2.1. ESCOLHA POR ESTRUTURAS DE *P. suberosa*

A criação de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* foi conduzida em condições de laboratório. Devido às dificuldades quanto à identificação dos imaturos, os três primeiros ínstaes ninfais de ambas as espécies foram acondicionados separadamente por instar / espécie em potes plásticos providos com alimento (item 2.2). Nos demais ínstaes, bem como no estágio adulto, os coreídeos foram mantidos em gaiolas. Plantas de *P. suberosa* contendo todas as estruturas em similar abundância foram oferecidas para a criação (item 2.2).

Para a condução dos testes de escolha, as estruturas a serem oferecidas foram retiradas dos ramos e dispostas sobre potes plásticos cilíndricos contendo água, providos de tampas com furos para a hidratação das plantas (3 x 5 cm). Em cada um destes inseriu-se aleatoriamente (com restrições quanto à posição central, que recebeu distribuição igualitária dentre as estruturas) uma parte vegetal proposta no delineamento experimental, a saber: região apical, caule, folha, botão fechado e fruto verde (n = 20 / instar / espécie) (Figura 5.1). Tais potes foram individualmente colocados dentro de recipientes plásticos transparentes (8,5 x 8,5 x 8,5 cm) com tampa provida de tela de malha fina, juntamente com o inseto a ser testado.

As ninfas e os adultos foram testados individualmente. Neste, e nos testes de escolha subsequentes, foi utilizado um método alternativo aos encontrados na literatura, os quais registram a atividade alimentar - as puncturas - por meio da bainha salivar (Bowling, 1980) ou da marcação química da saliva (para um exemplo com Coreidae, ver Campbell & Shea, 1990). Neste estudo, cada indivíduo foi observado em intervalos de vinte minutos em um período de três horas e vinte minutos (11 observações / indivíduo). Na ocasião de observação, registrava-se a inserção ou não do estilete em uma dada estrutura de *P. suberosa*, sendo este o parâmetro utilizado para indicar a atividade alimentar e a consequente escolha. Os experimentos ocorreram sempre à tarde, iniciando-se às 13 h e 40 min, com término às 17 h. Após o teste, os organismos foram recolocados no sistema geral de criação.

#### 5.2.2. ESCOLHA POR FRUTOS

Devido ao fato de tanto *H. clavigera* quanto *A. foliacea marginella* utilizarem predominantemente frutos e por estes apresentarem uma fenologia diferenciada, testes de escolha por espécie e idade dos frutos das passifloráceas nativas semelhantes em tamanho e que conferem melhor performance - *P. suberosa* seguida de *P. misera* (capítulo quatro) - foram desenvolvidos. Os indivíduos foram criados em diversas plantas hospedeiras, seguindo-se os procedimentos descritos no item 4.2.1.

Quatro testes foram estabelecidos a partir de um modelo de dupla escolha, os quais seguem: 1) fruto de *P. suberosa* verde versus fruto de *P.*

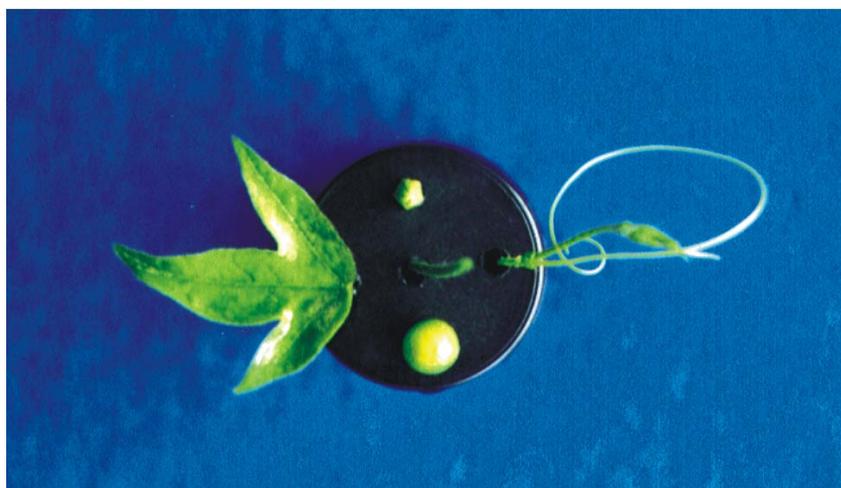


Figura 5.1. Esquema adotado para a condução dos testes de escolha de estruturas de *P. suberosa* por imaturos e adultos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. Acima, botão; abaixo, fruto verde; esquerda, folha; direita, região apical; centro, caule.

*suberosa* violáceo; 2) fruto de *P. suberosa* verde versus fruto de *P. misera* verde; 3) fruto de *P. misera* verde versus fruto de *P. misera* violáceo e 4) fruto de *P. suberosa* violáceo versus fruto de *P. misera* violáceo. Deste modo, os atributos idade e espécie de fruto foram tratados separadamente. Em cada teste, foram oferecidos um fruto de cada tipo, os quais eram colocados em posição diametralmente oposta. Para estes, foram utilizados os mesmos potes e sistema correspondentes às situações precedentes. Apenas os adultos das duas espécies foram testados ( $n = 15$  / espécie), sendo os mesmos indivíduos submetidos a todas as categorias de testes. Os adultos foram testados individualmente, onde cada indivíduo foi observado em intervalos de uma hora, em um período de cinco horas (seis observações / indivíduo / teste). Os testes iniciaram na parte da manhã (entre 9 e 12 horas). Após, os adultos foram recolocados no sistema geral de criação.

### 5.2.3. ESCOLHA POR PASSIFLORÁCEAS

Dez adultos de *H. clavigera* e dez de *A. foliacea marginella* foram submetidos ao teste de escolha pelas espécies de maracujá estudadas quanto à performance destes coreídeos, a saber *P. suberosa*, *P. misera* e *P. edulis*. Estes adultos foram criados em laboratório desde à eclosão nas três passifloráceas citadas para evitar indução de preferência, de acordo com os itens 2.2 e 4.2.1. Os adultos foram testados individualmente em gaiolas (30 x 30 x 90 cm), onde cada hospedeira foi acondicionada em uma garrafa plástica provida de água, bem como uma armação de madeira e arame (item 2.2). As hospedeiras oferecidas constavam de um ramo típico de aproximadamente 20 cm, com uma região apical, folhas jovens e maduras, botões, flores e frutos. As garrafas plásticas foram colocadas dentro das gaiolas em arranjo equidistante. Devido a atributos inerentes das pasifloráceas testadas, *P. edulis* apresentou um número menor de estruturas reprodutivas oferecidas em relação às outras hospedeiras, que são porém maiores em tamanho. Cada indivíduo foi observado em intervalos de uma hora em um período de cinco horas (seis observações / indivíduo / teste), totalizando sessenta observações por espécie. Neste teste e no precedente, teve-se o cuidado de manter a proporção sexual dos adultos por teste próxima a 1:1.

#### 5.2.4. ANÁLISE QUÍMICA DOS FRUTOS

ANÁLISE ELEMENTAR – Frutos verdes e violáceos de *P. suberosa* e *P. misera* (n = 20 / espécie / idade) oriundos de um cultivo existente nas dependências do Departamento de Zoologia da UFRGS (item 2.2) foram avaliados em relação ao percentual de carbono orgânico, nitrogênio e água. Após a coleta, estes foram encaminhados para análise no Laboratório de Solos da Faculdade de Agronomia da UFRGS, onde adotou-se procedimentos de rotina.

ANÁLISE DE FENÓIS TOTAIS E ANTOCIANINAS – Frutos verdes e violáceos de *P. suberosa*, bem como verdes e violáceos de *P. misera* (n = 20 / espécie / idade), foram analisados quanto à concentração de fenóis totais e antocianinas. Os frutos foram coletados e imediatamente levados a uma estufa (50 °C) e mantidos nesta por 48 horas para desidratação. Após, foram encaminhados para análise no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Fenóis totais – Um grama de cada categoria de frutos desidratados foi fragmentado e extraído por maceração estática em 10 ml de etanol em temperatura ambiente por uma semana. A avaliação do teor de fenóis totais em alíquotas de 0,5ml (n = 3) dos extratos de frutos verdes e frutos violáceos foi feita pelo método de Folin-Dennis (Waterman & Mole, 1994). Os teores de fenóis totais foram calculados a partir da comparação das absorvâncias lidas a 760nm, com as absorvâncias obtidas em uma curva padrão de ácido tânico. Os resultados dessas análises foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido tânico (mg EAT) por grama de fruto. As leituras das absorvâncias foram efetuadas em um espectrofotômetro Shimadzu UV-220®.

Antocianinas – Amostras de 1g dos frutos foram mantidas a 5 °C por 24 horas em 5,0 ml de metanol-HCl (99:1 v/v). O extrato metanólico foi centrifugado e completado com metanol até 10 ml. As leituras das absorvâncias foram efetuadas a 530 nm para as antocianinas e a 657 nm para eliminação da interferência dos produtos de degradação dos pigmentos clorofilianos produzidos em metanol acidificado (Macinelli, 1990). As antocianinas foram quantificadas em alíquotas de 1 ml (n = 3) dos extratos dos frutos verdes e de frutos violáceos, utilizando-se o coeficiente de extinção molar da 3-O-glucosilcianidina (29.600) (Cheng & Breen, 1991). A absorvância

corrigida (sem os produtos da degradação da clorofila) foi obtida subtraindo-se a absorvância a 530 nm do resultado da multiplicação do número 0,25 pela absorvância a 657 nm. A concentração de antocianinas é então obtida dividindo-se a absorvância corrigida pelo resultado da multiplicação entre o coeficiente de extinção molar e o caminho óptico.

ANÁLISE DE pH – Frutos verdes e violáceos de *P. suberosa* e de *P. misera* (n = 50 espécie / idade) foram coletados e levados ao Laboratório de Fruticultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS. Lá, foram esmagados em cadinho e diluídos em 50 ml de água deionizada. A partir desta solução, cinco amostras de 10 gramas por categoria de frutos foram individualizadas, sendo o pH de cada amostra medido através de um pHmetro (Digimed DM20®).

#### 5.2.5. PADRÃO DE UTILIZAÇÃO DE *P. suberosa* EM CAMPO

A dificuldade em se encontrar hemípteros em adequada abundância para trabalhos de campo deve ser colocada. Tentativas de trabalhos foram feitas em grandes áreas com pouca ou praticamente nenhuma interferência antrópica, como o Parque Estadual de Itapuã, localizado no Município de Viamão, RS (30°23'S 50°55'W). Porém, aproximadamente um indivíduo era encontrado por dia de trabalho, o que inviabiliza a continuidade de tais estudos (D. Rodrigues & G. R. P. Moreira, UFRGS, dados não publicados). Trabalhos na literatura com heterópteros de grande porte, a citar o sistema *Oncopeltus fasciatus* – *Asclepias syriaca* são realizados em áreas de pequeno tamanho, onde as hospedeiras estão presentes em altas densidades (e.g., Ralph, 1977; Dingle, 1991), em delineamento semelhante ao aqui empregado.

O trabalho de campo foi conduzido em um jardim residencial no Bairro IAPI, Município de Porto Alegre, RS (30°05'S; 51°10'W). Apenas a hospedeira *P. suberosa* foi amostrada. A área constou de um muro de dez metros de comprimento e noventa centímetros de altura. Um total de cem plantas foram amostradas através do seguinte método: um ramo foi amostrado a cada dez centímetros nas dez primeiras transecções verticais, espaçadas em 50 cm, perfazendo um total de nove ramos por transecção e noventa ramos ao total. As dez plantas restantes foram amostradas em transecções que possuíam apenas duas plantas porém igual espessamento, uma vez que nesta parte da área a abundância dos ramos é notadamente menor. Sob este método, a área

foi amostrada respeitando-se a heterogeneidade na distribuição das plantas. Cada ramo foi quantificado em termos de presença de região apical, presença de folhas jovens (primeira a quinta folha aberta), presença de folhas maduras (sexta folha em diante), presença de botões, flores, frutos verdes e frutos violáceos. O tamanho dos ramos foi quantificado segundo atributos qualitativos como pequeno (menor que dez centímetros), médio (de dez a vinte centímetros) e grande (maior que vinte centímetros). Os ramos amostrados foram marcados e individualizados por meio de etiquetas. Esta atividade era iniciada às 9 horas da manhã.

Após a vistoria das plantas, a área era novamente inspecionada a fim de registrar os coreídeos encontrados e suas correspondentes atividades. Estes foram inspecionados a partir de um censo em toda a área de estudo. Na ocasião, os indivíduos encontrados eram registrados quanto à espécie, idade, comportamento e substrato (estrutura de *P. suberosa*). O comportamento foi dividido em quatro tipos, sendo tais a) descanso: animal pousado sob ou sobre uma dada estrutura; b) caminhada: animal em deslocamento; c) alimentação: inserção do estilete em um determinado substrato e d) cópula em um dado substrato. Por serem registrados apenas as atividades realizadas nas plantas, eventos como vôo não foram registrados. Ainda, as ninfas de cujos ínstares não foi viável identificar a espécie (primeiro e segundo) não foram consideradas na representação gráfica dos dados, sendo apenas tratadas descritivamente. As ocasiões de amostragens ocorreram em um intervalo de quinze dias, durante o período de 09 de janeiro a 22 março de 2003 (seis ocasiões ao total).

Os dados relativos às plantas foram apresentados considerando-se as ocasiões de amostragem. Em contrapartida, todos os dados relativos aos coreídeos foram agrupados em relação ao tempo, devido à inconstância numérica temporal de organismos encontrados por espécie / idade e pela importância secundária deste fator perante os objetivos propostos. Da mesma forma, os dados referentes às atividades dos coreídeos considerou todos os estágios de ninfa e adulto conjuntamente, visto que o evento cuja atividade é apenas observada em um estágio, como a cópula, não foi freqüente quando comparada com as demais.

### 5.2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O uso preferencial por estruturas de *P. suberosa* foi avaliado através do teste Exato de Fisher, o qual consta de uma tabela de contingência 2x2 (Zar, 1999). Neste caso, a estrutura com mais inserções de estilete em cada fase / espécie foi comparada às demais conjuntamente. Neste teste as espécies também foram comparadas em relação às escolhas efetuadas na mesma idade através do teste Exato de Fisher. Adicionalmente, foi obtida uma regressão da atividade alimentar no decorrer do desenvolvimento de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* (inserções totais do estilete nas estruturas por instar e no estágio adulto), a qual foi testada por espécie através do teste F de Fisher.

Os testes de escolha de frutos de *P. misera* e *P. suberosa* foram avaliados através do teste Qui-Quadrado segundo os tratamentos estabelecidos no item 5.2.2. O teste de escolha por passifloráceas também foi avaliado através do teste Qui-Quadrado, subdividindo-se a escolha por espécies independente do tecido em questão e da natureza do tecido escolhido (vegetativo e reprodutivo), independente da passiflorácea escolhida. Todos os testes consideraram um alfa igual a 0,05.

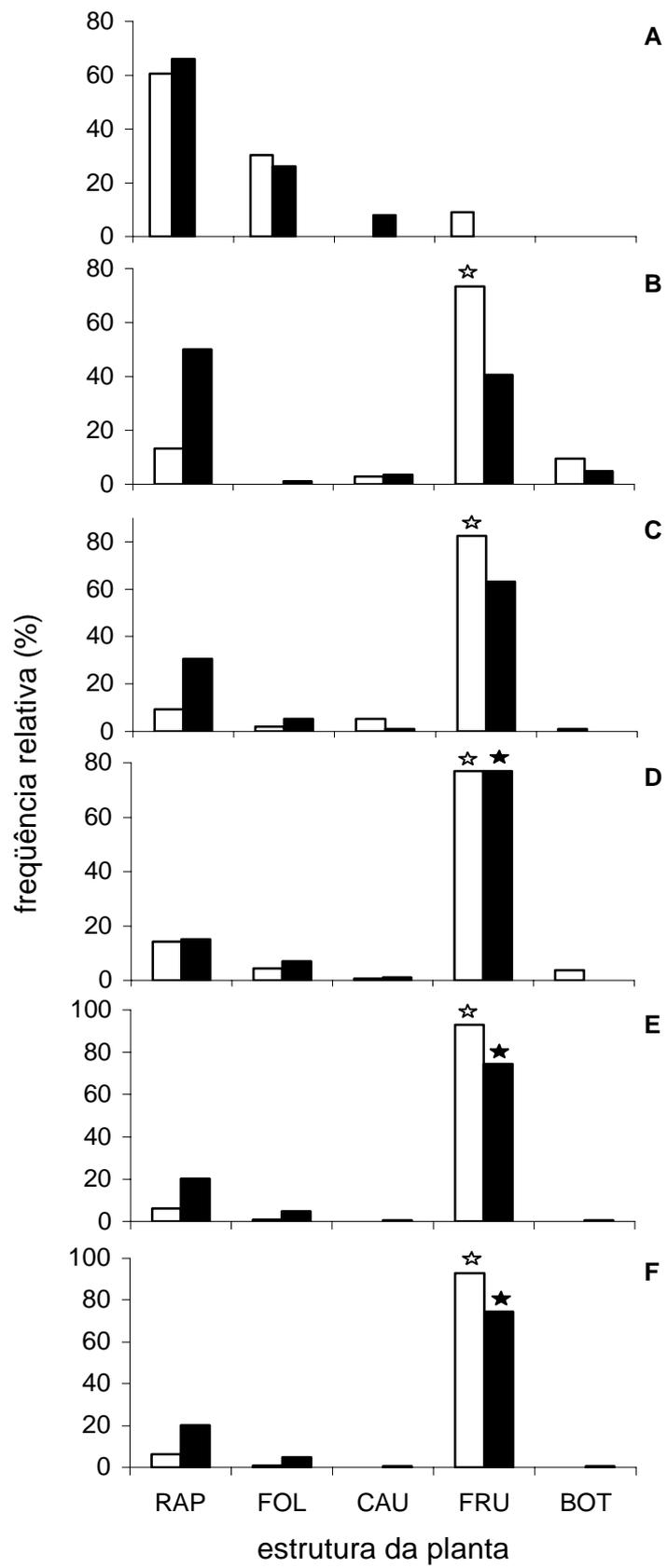
Por apresentarem um número pequeno de repetições (onde cada repetição representa na verdade grupos de frutos), os dados referentes à análise química dos frutos são apenas apresentados como média  $\pm$  erro padrão. As justificativas para os tamanhos amostrais aqui apresentados são os custos, além deste padrão constar como o corrente em estudos na área. Os dados de campo são também desprovidos de análise estatística devido ao baixo número amostral de indivíduos encontrados por espécie / idade / parte da planta.

## 5.3. RESULTADOS

### 5.3.1. ESCOLHA POR ESTRUTURAS DE *P. suberosa*

Tanto em *A. foliacea marginella* quanto em *H. clavigera*, as ninfas de primeiro instar inseriram o estilete 60 % ou mais vezes na região apical (a salientar gavinhas) em relação a todos os outros tecidos conjuntamente, porém tal diferença não foi significativa (teste Exato de Fisher,  $P = 0,4586$  e  $0,1558$  para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, respectivamente) (Figura 5.2.A). Para *H. clavigera* nos demais ínstaes e no estágio adulto, os frutos foram mais

Figura 5.2. Escolha das ninfas de primeiro (A), segundo (B), terceiro (C), quarto (D) e quinto (E) instares e adultos (F) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■ em relação à estrutura da planta de *Passiflora suberosa*. **RAP**, região apical; **FOL**, folha; **CAU**, caule; **FRU**, fruto; **BOT**, botão. Barras acompanhadas de estrelas indicam a preferência alimentar do coreídeo correspondente em relação à estrutura da planta (teste Exato de Fisher,  $\alpha = 0,05$ ).



sugados em relação a todas as estruturas conjuntamente, sendo tal uso diferencial significativo (teste Exato de Fisher,  $P = 0,0006$  para o segundo instar e  $< 0,0001$  para as demais fases) (Figuras 5.2.B-F). Para *A. foliacea marginella*, as ninfas de segundo instar utilizaram a região apical com igual freqüência em relação às demais estruturas somadas, não sendo tal uso significativo (teste Exato de Fisher,  $P = 1,1226$ ). No terceiro instar, passam a sugar mais os frutos em 63 % das ocasiões de alimentação, não sendo tal uso significativo (teste Exato de Fisher,  $P = 0,0789$ ). Nos quarto e quinto ínstaes e no estágio adulto, o uso de frutos manteve-se mais freqüente em relação à todas as estruturas conjuntamente, sendo este uso significativamente diferente (teste Exato de Fisher,  $P < 0,0001$  para todas as fases) (Figura 5.2. B-F).

Quando as espécies foram comparadas, o padrão de uso das estruturas de *P. suberosa* no decorrer do desenvolvimento de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* não diferiu significativamente nos ínstaes primeiro, quarto e adultos (teste Exato de Fisher,  $P = 0,6468$ ,  $1,0000$  e  $0,1209$ , respectivamente), havendo diferença significativa nos demais ínstaes (teste Exato de Fisher,  $P < 0,0001$ , para os ínstaes segundo e quinto e  $0,0033$  para o terceiro instar). Nos casos de diferença significativa, têm-se que *A. foliacea marginella* utilizou mais as estruturas vegetativas quando comparado com *H. clavigera*.

A atividade alimentar de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* aumentou significativamente no decorrer do desenvolvimento (teste F de Fisher,  $F = 10,655$  e  $16,880$  para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, respectivamente) (Figuras 5.3.A,B).

### 5.3.2. ESCOLHA POR FRUTOS

Perante a escolha por frutos verdes ou violáceos, ambos os coreídeos inseriram o estilete significativamente mais vezes nos frutos verdes, independente da passiflorácea considerada (teste  $\chi^2$ , *P. suberosa*:  $\chi^2 = 9,78$  e  $6,4$  para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, respectivamente; *P. misera*:  $\chi^2 = 3,94$  e  $4,58$  para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, respectivamente) (Figura 5.4.A,B). Quando a espécie de passiflorácea foi testada, não houve preferência por nenhum dos dois maracujás quando os frutos oferecidos foram os verdes (teste  $\chi^2$ ,  $\chi^2 = 2,04$  e  $0,068$  para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*,

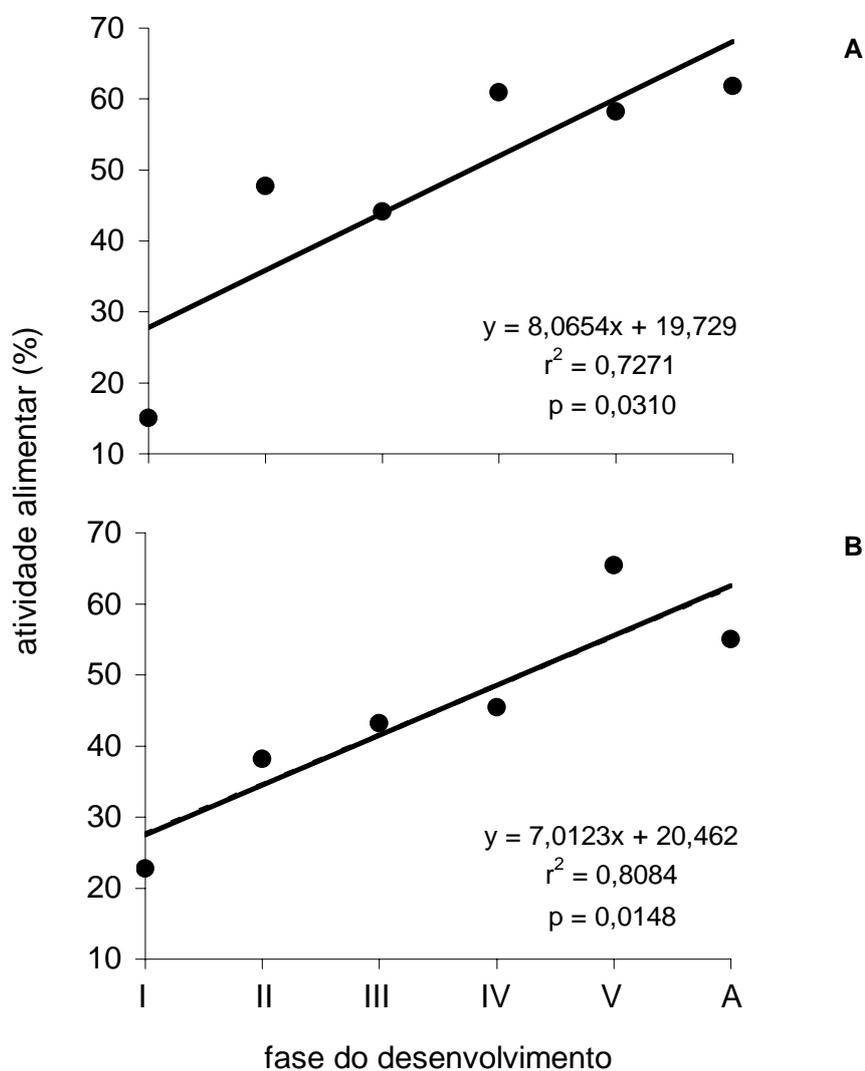


Figura 5.3. Atividade alimentar (número de inserções do estilete em função das observações totais) no decorrer do desenvolvimento de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B). No eixo x, os números romanos de I a V representam os ínstares primeiro a quinto, respectivamente; a letra A representa o estágio adulto.  $p$  = probabilidade calculada através do teste F de Fisher.

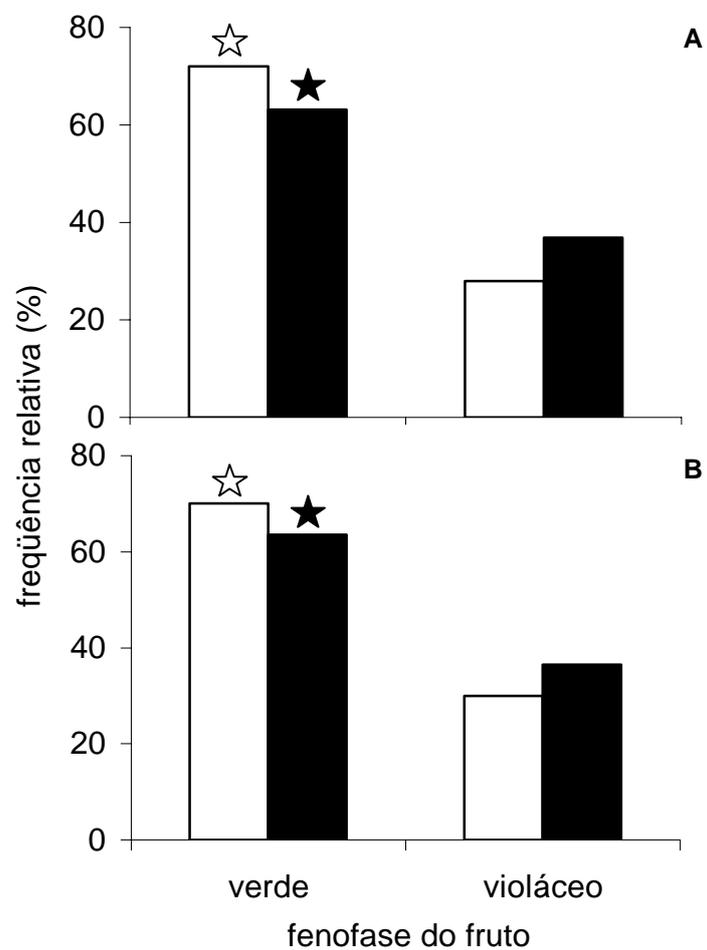


Figura 5.4. Escolha dos adultos de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B) em relação ao grau de maturação dos frutos de *P. suberosa* □ e *P. misera* ■ . Barras acompanhadas de estrelas indicam a preferência alimentar do coreídeo correspondente em relação à fenofase do fruto (teste Qui-Quadrado,  $\alpha = 0,05$ ).

respectivamente). Porém, *H. clavigera* inseriu mais o estilete nos frutos violáceos de *P. misera* quando comparado com *P. suberosa* (teste  $\chi^2$ ,  $\chi^2 = 10,90$ ), não sendo em *A. foliacea marginella* nenhuma preferência detectada na referida situação (teste  $\chi^2$ ,  $\chi^2 = 0,066$ ) (Figura 5.5.A,B).

### 5.3.3. ESCOLHA POR PASSIFLORÁCEAS

*H. clavigera* utilizou as três espécies de maracujás de forma não seletiva neste tipo de teste (teste  $\chi^2$ ,  $\chi^2 = 2,73$ ) (Figura 5.6.A), porém o mesmo não aconteceu com *A. foliacea marginella* (teste  $\chi^2$ ,  $\chi^2 = 11,2$ ). Quando as passifloráceas foram comparadas pareadamente neste último coreídeo, não houve uma diferença significativa de escolha entre *P. misera* e *P. suberosa*, os dois maracujás com maior número de inserções no estilete (teste  $\chi^2$ ,  $\chi^2 = 1,125$ ), demonstrando que a diferença se deu a um menor uso de *P. edulis* (três inserções) e não a um uso mais acentuado de uma passiflorácea em específico (Figura 5.6.B). A comparação do uso de *P. edulis* versus *P. suberosa* e *P. misera* isoladamente foi significativa em ambos os casos (teste  $\chi^2$ ,  $\chi^2 = 6,250$  e  $11,63$ , respectivamente).

Quando a natureza do tecido foi comparada, constatou-se que ambos os coreídeos utilizam mais os tecidos reprodutivos quando comparados com os vegetativos das três passifloráceas conjuntamente (teste  $\chi^2$ : *H. clavigera*,  $\chi^2 = 5,16$ ; *A. foliacea marginella*,  $\chi^2 = 6,42$ ) (Figura 5.6.A,B).

### 5.3.4. ANÁLISE QUÍMICA DOS FRUTOS

Os frutos verdes e violáceos de ambas as espécies não apresentaram acentuada variação no pH, situando-se entre a faixa do 5,5 a 6,3 (Tabela 5.1).

Os elementos carbono orgânico e nitrogênio total apresentaram variação em relação aos seus percentuais, a qual foi mais relacionada à espécie de passiflorácea que a idade do fruto. *P. suberosa* apresentou maiores percentuais de nitrogênio total quando comparado com *P. misera* em ambas as idades, sendo o padrão contrário detectado em relação ao carbono orgânico (Tabela 5.1). Os compostos que apresentaram variação de valores mais relacionada à idade do fruto quando comparado com a espécie foram os fenóis totais e as

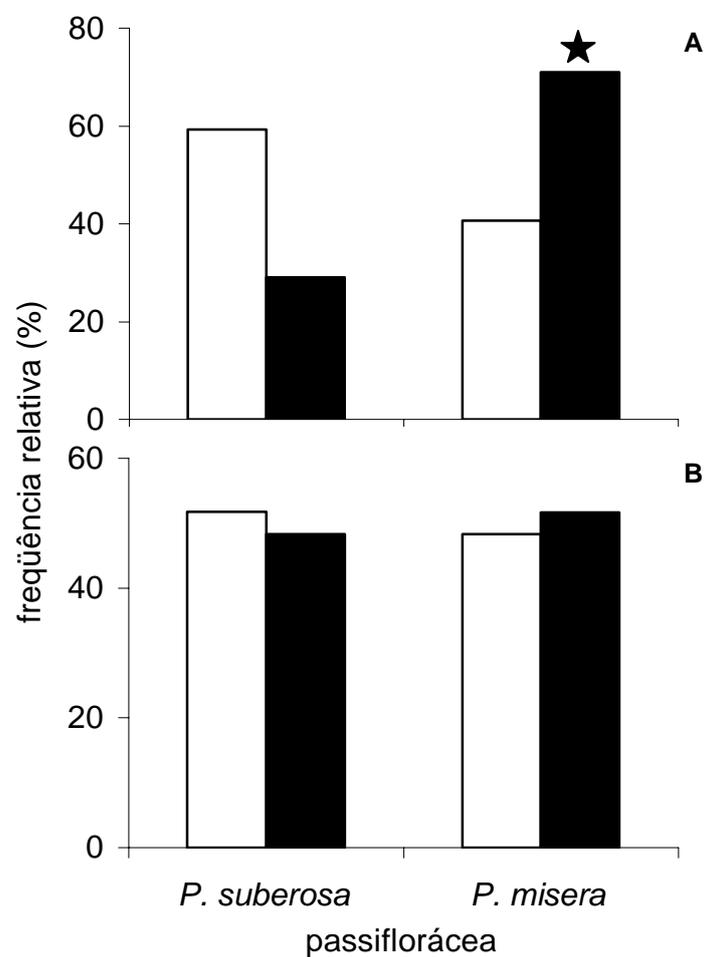


Figura 5.5. Escolha dos adultos de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B) em relação aos frutos verdes  e violáceos  de *P. suberosa* e *P. misera*. Barras acompanhadas de estrelas indicam a preferência alimentar do coreídeo correspondente em relação à espécie de passiflorácea (teste Qui-Quadrado,  $\alpha = 0,05$ ).

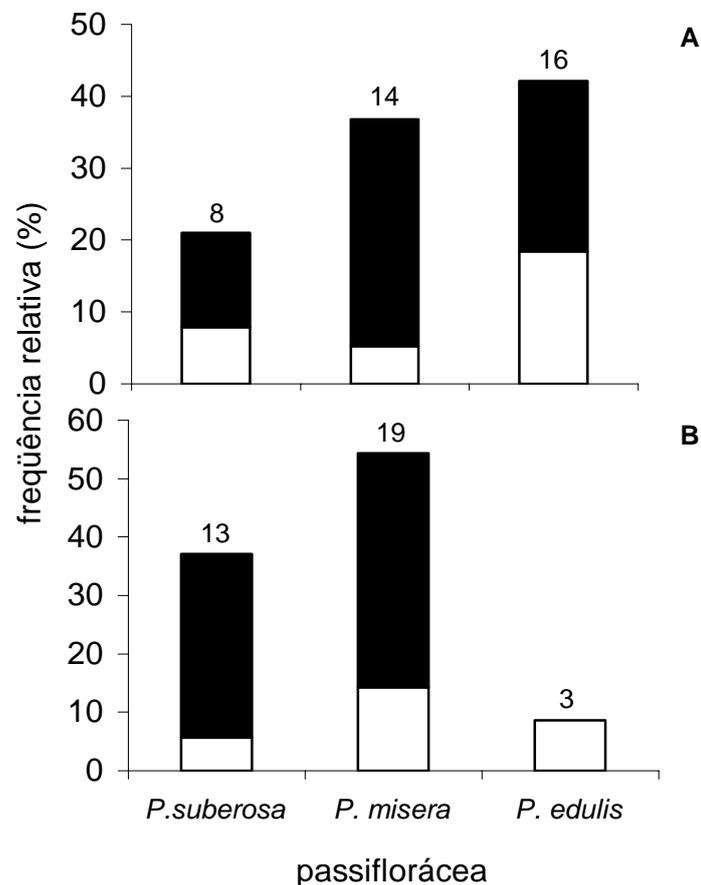


Figura 5.6. Escolha entre *P. suberosa*, *P. misera* e *P. edulis* por adultos de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B). Partes escuras das barras representam o uso de estruturas reprodutivas, sendo as brancas o uso de estruturas vegetativas das referidas hospedeiras. Números acima das barras representam o número total de inserções de estiletes por passiflorácea / coreídeo.

Tabela 5.1. Valores de pH, água, carbono orgânico, nitrogênio total, fenóis totais e antocianinas correspondentes aos frutos verde e violáceo de *P. misera* e *P. suberosa*. Os valores de pH, fenóis totais e antocianinas estão expressos em média ± erro padrão.

passiflorácea	tipo de fruto	pH*	água (%)**	C (%)**	N (%)**	fenóis totais (mg EAT/g)**	antocianinas (µg/g)***
<i>P. suberosa</i>	verde	5,59 ± 0,004	88	41	3,9	38,53 ± 0,170	20,00 ± 11,63
	violáceo	6,19 ± 0,010	75	42	3,2	16,51 ± 0,300	198,33 ± 7,31
<i>P. misera</i>	verde	6,18 ± 0,006	79	50	2,2	31,10 ± 1,680	5,00 ± 2,90
	violáceo	6,30 ± 0,050	71	54	2,1	15,55 ± 0,310	175,67 ± 14,05

\* n = 5

\*\* dados obtidos a partir de duplicatas

\*\*\* dados obtidos a partir de triplicatas

antocianinas. Os fenóis totais dos frutos verdes de ambas as espécies oscilaram em uma faixa de 30 a 40 mg EAT / g, enquanto tais valores foram próximo à metade nos frutos violáceos. As antocianinas variaram de 5 a 20  $\mu\text{g}$  / g nos frutos verdes, sendo que nos frutos violáceos este valor ocorreu na faixa dos 175 a 200  $\mu\text{g}$  / g (*P. misera* e *P. suberosa*, respectivamente). Da mesma forma, o teor de água foi maior nos frutos verdes em relação aos violáceos de ambas as espécies, sendo os maiores valores por idade de fruto encontrados em *P. suberosa* quando comparado com *P. misera* (Tabela 5.1).

#### 5.3.5. PADRÃO DE UTILIZAÇÃO DE *P. suberosa* EM CAMPO

As estruturas de *P. suberosa* oscilaram em frequência no período de estudo (Figura 5.7). A presença da região apical intacta dos ramos decresceu no tempo, oscilando de 80 a 30 %. Em todo o período amostral, foram encontradas três regiões apicais com sinal de recente sucção (duas em 09 de fevereiro e uma em 22 de fevereiro). As folhas jovens sofreram maior variação em abundância que as folhas maduras. Para as estruturas reprodutivas, observou-se uma maior oscilação, onde a estrutura menos abundante foi o fruto violáceo. Em geral, estas decresceram no início do mês de fevereiro e tornaram a aumentar numericamente em março. Os ramos grandes foram predominantemente encontrados em todo o período de estudo, seguido dos ramos de tamanhos médio e pequeno (Tabela 5.2.).

A maioria das observações registrou eventos de descanso para ambas as espécies, os quais ocorreram predominantemente nas folhas maduras. Os frutos verdes também foram utilizados com grande frequência pelos coreideos. A alimentação foi uma das atividades mais frequentes, juntamente com o deslocamento (Figura 5.8.A,B). A cópula foi apenas observada em *H. clavigera* (Figura 5.8.A). Uma ninfa de primeiro instar foi encontrada caminhando em uma folha seca, e outra de segundo, descansando em um fruto verde. Observou-se também, no decorrer do período amostral, que os imaturos foram gradualmente diminuindo em abundância até estarem ausentes na última ocasião de amostragem, em final de março de 2003.

*H. clavigera* utilizou predominantemente os frutos verdes em todo o período de estudo, tendo sido também encontrado em menores densidades em outras estruturas reprodutivas tais como flores e botões. *A. foliacea marginella*,

Figura 5.7. Presença de estruturas de *P. suberosa* durante o período de janeiro a março de 2003, município de Porto Alegre, RS. **RA**, região apical; **FIJ**, folha jovem; **FIM**, folha madura; **BOT**, botão; **FLR**, flor; **FVe**, fruto verde; **FVi**, fruto violáceo.

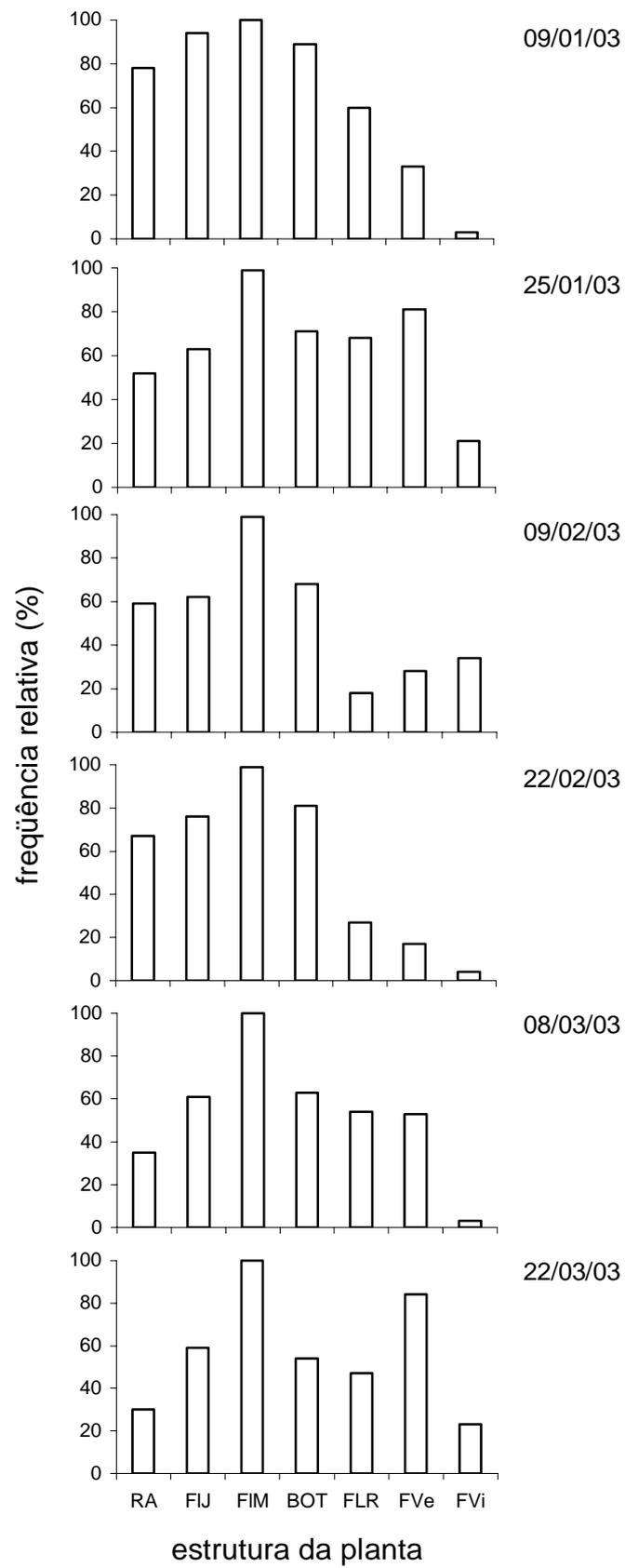


Tabela 5.2. Freqüência relativa do tamanho dos ramos de *P. suberosa* (n = 100) durante o período de janeiro a março de 2003, município de Porto Alegre, RS.

ocasião de amostragem	categoria de tamanho dos ramos de <i>P. suberosa</i> (%)		
	grande	médio	pequeno
09 / 01 / 03	82	17	1
25 / 01 / 03	86	13	1
08 / 02 / 03	94	6	0
22 / 02 / 03	95	4	1
08 / 03 / 03	96	3	1
22 / 03 / 03	98	2	0

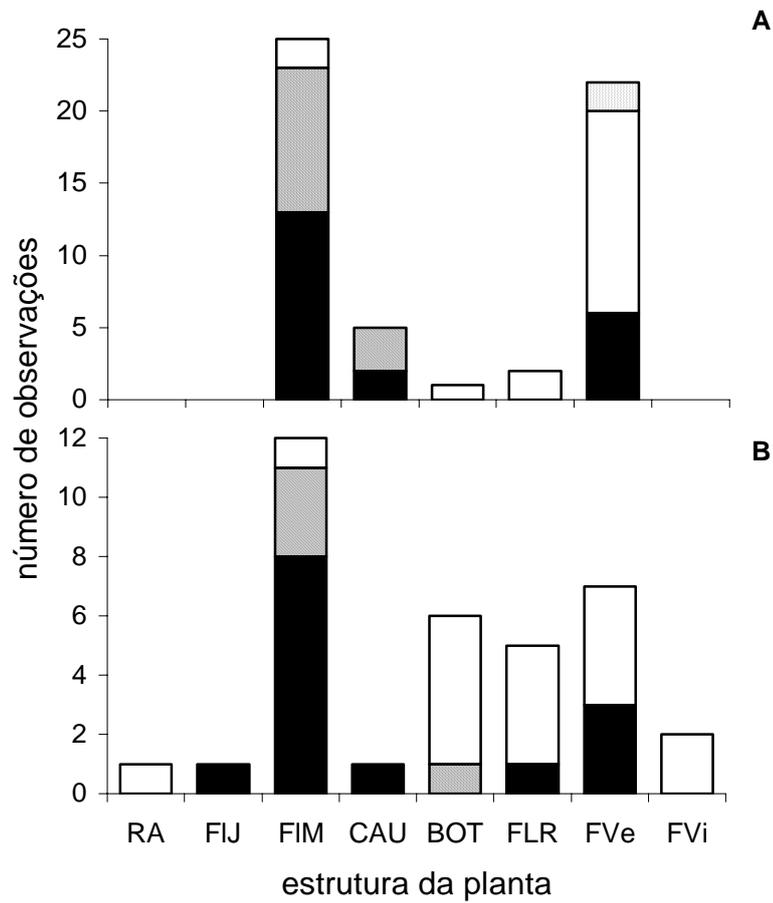


Figura 5.8. Observações de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (B) em descanso ■, caminhada ▨, alimentação □ e cópula ▤ nas estruturas de *P. suberosa* durante o período de janeiro a março de 2003, município de Porto Alegre, RS. RA, região apical; FIJ, folha jovem; FIM, folha madura; CAU, caule; BOT, botão; FLR, flor; FVe, fruto verde; FVi, fruto violáceo.

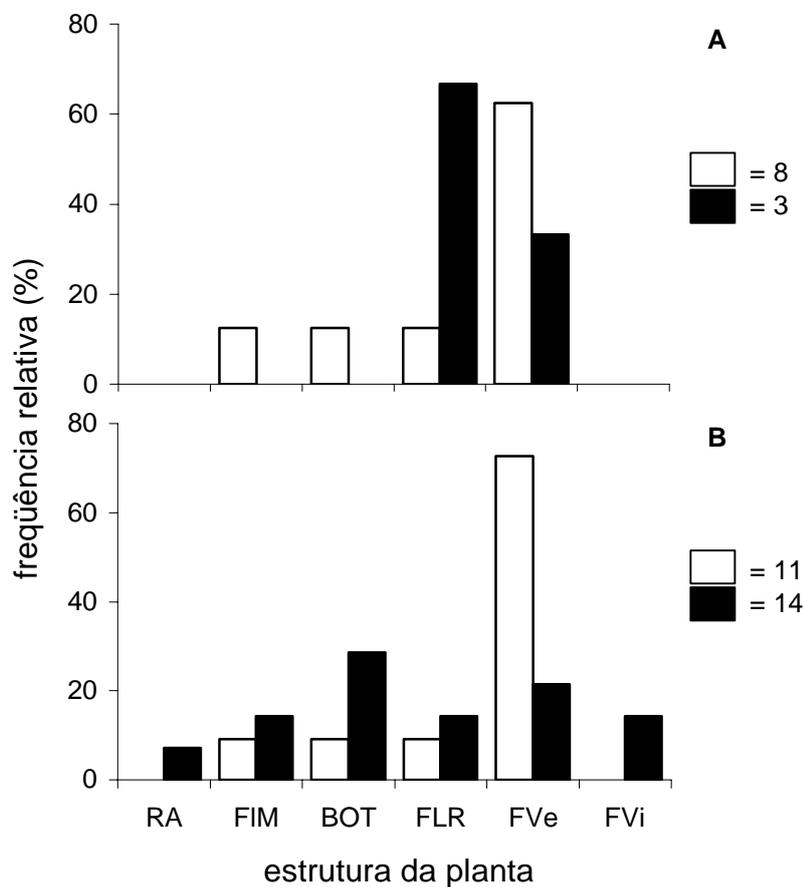


Figura 5.9. Alimentação de ninfas de terceiro e quarto ínstares (A) e quinto instar e adultos (B) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■ em estruturas de *P. suberosa* durante o período de janeiro a março de 2003, município de Porto Alegre, RS. **RA**, região apical; **FIM**, folha madura; **BOT**, botão; **FLR**, flor; **FVe**, fruto verde; **FVi**, fruto violáceo. Números associados aos símbolos referentes às espécies indicam o número de indivíduos encontrados.

a salientar os últimos ínstar e os adultos, distribuiu-se pelas estruturas da planta de *P. suberosa*, utilizando-as com frequência similar (Figura 5.9. A,B). Em todo o período de estudo, quatro ninfas de segundo instar, as quais não foi possível identificar a espécie visualmente foram encontradas alimentando-se de frutos verdes. Destas, três foram encontradas na primeira ocasião de amostragem (09 de janeiro) e uma, na segunda ocasião (25 de janeiro). Nenhuma das duas espécies, em quaisquer fases, utilizou o caule ou as folhas jovens como recurso alimentar nas ocasiões de observação (Figura 5.9.A).

#### 5.4. DISCUSSÃO

Há dentro de Hemiptera a assertiva geral de que os antigos homópteros teriam se especializado nas estruturas vegetativas e os heterópteros, nas estruturas reprodutivas de suas plantas hospedeiras (Strong *et al.*, 1984; Schaefer & Panizzi, 2000). Este estudo considera o desenvolvimento como um fator adicional que restringe ou permite o uso de certa fase a um dado tecido. Ninfas de primeiro instar podem utilizar preferencialmente gavinhas tanto por questões químicas (nutrição ou aquisição de, ou moderação no contato com compostos do metabolismo secundário) quanto físicas (textura e dureza apropriadas para a inserção do estilete). Em relação a esta última suposição, deve ser considerada a natureza mais coriácea de tecidos de maior dureza ou rigidez como o caule ou fruto, que provavelmente restringe o uso destas estruturas por ninfas de primeiro instar. A escolha por tecidos meristemáticos, logo, poderia representar uma alternativa mecanicamente viável de alimentação neste instar (para uma revisão de mudanças no comportamento alimentar no decorrer do desenvolvimento em outras ordens de Insecta, ver Browne, 1995).

De um modo geral, as estruturas reprodutivas – em especial o fruto – foram selecionadas em detrimento das vegetativas. Sabe-se que folhas e caules são usados por sugadores de sementes quando estas não estão disponíveis (Panizzi, 2000). No entanto, *A. foliacea marginella* utilizou mais estruturas vegetativas quando comparado com *H. clavigera*, sendo que tal padrão já havia sido previamente constatado no capítulo anterior. Similarmente, este padrão é caracterizado mais uma vez através das observações de campo.

As possíveis explicações para este fato residem em uma necessidade maior de *A. foliacea marginella* adquirir aleloquímicos para defesa, uma vez que *H. clavigera* aparentemente já adquire defesa em parte via mimetismo Batesiano com Ichneumonidae. Alternativamente, estes coreídeos são similares quimicamente, apresentando o mesmo odor liberado das glândulas repugnatórias em todos os estágios e talvez não necessitando seqüestrar, reciclar ou transformar tais compostos para defesa. Como já mencionado, esta lacuna permanece aberta e precisa ser explorada experimentalmente.

Sabe-se que as partes reprodutivas das plantas apresentam altos níveis de proteínas, os quais são relevantes para a seleção por insetos fitófagos. Por outro lado, o fato de serem recursos menos duradouros quando comparados com as estruturas vegetativas pode ser um fator contrário à esta seleção, além das folhas serem muito mais abundantes e, seguindo as partes reprodutivas, também nutricionalmente importantes. Em relação aos pecíolos e caules, estes são menos preferidos provavelmente devido ao alto conteúdo estrutural de compostos como ligninas e baixos níveis protéicos. Estes em contrapartida possuem comparativamente altos níveis de açúcares, os quais são notórios fagoestimulantes, além de baixos níveis de compostos secundários (Bernays & Chapman, 1994). Porém, a composição química dos frutos de Passifloraceae no relacionado a concentrações de açúcares é desconhecida.

Ambas as espécies apresentaram maior atividade alimentar no decorrer do desenvolvimento, padrão geral observado em Insecta. A maior atividade alimentar de últimos ínstares já foi detectada em *Edessa meditabunda* (Panizzi & Machado-Neto, 1992). Neste pentatomídeo, também foi detectada uma preferência das ninfas por partes vegetativas em detrimento das reprodutivas em soja, ocorrendo o contrário quando utilizam girassol. Similar padrão foi também detectado em *Nezara viridula* (Panizzi, 1995) e *Acrosternum hilare* (Simmons & Yeargan, 1988). Contudo, faz-se necessário ressaltar que a atividade alimentar não necessariamente significa um dado número de inserções do estilete, mas também pode ser caracterizada como a duração de cada evento alimentar. Este último fator não exclui mas complementa o primeiro, devendo também ser levado em conta em estudos de preferência alimentar, principalmente em espécies polífagas que experimentam e utilizam uma ampla gama de recursos (ver Panizzi, 1995; Ventura *et al.*, 2000).

Os frutos verdes foram escolhidos preferencialmente pelos adultos de ambas as espécies, e tal fato pode derivar de várias razões. Cabe salientar que é largamente registrado na literatura o uso mais intensivo de sementes e frutos imaturos por hemípteros, a destacar os portadores de importância econômica (Panizzi, 1997; Panizzi, 2000). Primeiramente, os frutos verdes são mais abundantes e duradouros que os violáceos, uma vez que estes últimos são praticamente senescentes. Assim, o fator abundância pode interferir na aceitabilidade dos frutos por estes coreídeos. Segundo, as sementes dos frutos maduros podem ser mais duras, o que dificulta a penetração e posterior sucção. Terceiro, os frutos verdes apresentam maior teor de água, componente alimentar importante para insetos de grande porte, como os aqui estudados. As demais razões advêm de barreiras ou estímulos químicos. Em princípio, pode-se esperar a existência ou teores maiores de glicosídeos cianogênicos em frutos violáceos destas passifloráceas, uma vez que tais já foram caracterizados em frutos violáceos de *P. edulis* (Chassagne & Crouzet, 1998).

As demais razões prováveis desta maior herbivoria em frutos verdes serão desenvolvidas de acordo com as informações geradas no presente trabalho. Inicialmente, o pH não diferiu entre e dentro espécies de passifloráceas, demonstrando que este fator não influencia a seleção de frutos verdes em detrimento de violáceos. O pH de um certo recurso alimentar, contudo, é um fator relevante na digestibilidade de muitos insetos (ver Chapman, 1998). Contrariamente, as antocianinas e os fenóis totais estiveram em diferentes concentrações nos frutos de distintas idades em ambas as passifloráceas. As antocianinas aumentaram consideravelmente suas concentrações à medida em que os frutos amadurecem, ocorrendo o contrário com os fenóis totais.

É bem estabelecido na literatura que as antocianinas – flavonóides pertencentes ao vasto grupo dos compostos fenólicos - são responsáveis pela pigmentação de frutos, flores e folhas, os quais possuem papel na atração de polinizadores e dispersores de sementes (ver Crawley, 1997; Taiz & Zeiger, 1998), o que explica grande parte do um aumento brusco de suas concentrações no decorrer da maturação dos frutos. Adicionalmente, as antocianinas podem atuar como deterrentes, o que pode explicar parte da preferência de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* pelos frutos verdes de

ambas as espécies. Como exemplo tem-se o sistema *Heliothis virescens* - algodão. As larvas de primeiro instar desta mariposa apresentam comportamento diferenciado a fim de evitar regiões da folha que possuam uma glândula de gossipol, cujo envoltório consta de células que armazenam antocianinas. As lagartas de instares subsequentes não conseguem evitar as glândulas por mastigarem pedaços maiores de folhas (Parrott *et al.*, 1983).

No presente trabalho, os fenóis totais não atuam como deterrentes ou repelentes para ambos os coreídeos, visto que os frutos verdes foram significativamente utilizados. Contudo, alguns fenóis já foram caracterizados como deterrentes para insetos herbívoros, a salientar o ortóptero oligófago *Locusta migratoria* e o hemíptero polífago *Dysdercus fulviger* (Bernays & Chapman, 1994) sendo também repelentes para alguns sugadores de sementes (Slansky Jr. & Panizzi, 1987). Os compostos fenólicos, por sua vez, também já foram caracterizados como deterrentes para alguns afídeos (e.g., Dreyer & Jones, 1981; ver Raven, 1983; Risebrow & Dixon, 1987). Adicionalmente, tais compostos são comuns em folhas de um modo geral e podem reduzir a digestibilidade de proteínas de imaturos de Lepidoptera (Chapman, 1998), embora a sua função como fagoestimulante também seja conhecida. Sabe-se que para o afídeo polífago *Aphis fabae* o teor de compostos fenólicos existentes na superfície das folhas atua como atraente, promovendo a alimentação (Jördens-Röttger, 1979). Ainda, que alguns compostos fenólicos existentes no floema da mandioca podem ser assimilados e transformados pelo pseudococídeo *Phenacoccus manihoti* (Calatayud *et al.*, 1994).

Uma vez sendo o atributo idade e não espécie de fruto o fator mais relevante na seleção por *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, torna-se necessário esclarecer os achados referentes às análises de carbono e nitrogênio – elementos que variaram basicamente de modo interespecífico - à luz dos resultados obtidos na performance. Inicialmente, a correlação positiva do nitrogênio ingerido com o crescimento e a reprodução é fato bem estabelecido na literatura (Mattson, 1980; Scriber & Slansky Jr., 1981). Esta assertiva pode explicar em parte a melhor performance em *P. suberosa* quando comparada com *P. misera*. Estudos em florestas australianas relacionaram positivamente os teores nitrogênio e água nas folhas e a densidade de insetos

(Peeters, 2002). Porém, a ingestão excessiva de nitrogênio acarreta na sua excreção e não no seu aproveitamento (ver Chapman, 1998). Em adição, o nitrogênio total é um bom indicador da qualidade total da folha para os sugadores, pois praticamente todos os compostos nitrogenados são nutritivos, o que não pode ser igualmente dito para os mastigadores (ver Scriber & Slansky Jr., 1981; Crawley, 1983). Para as folhas de *P. suberosa* e *P. misera*, os percentuais de nitrogênio total encontrados em plantas de campo são 2,86 e 2,57, respectivamente (S.M. Kerpel & G.R.P. Moreira, UFRGS, dados não publicados). Tais valores são considerados baixos quando comparados com outras plantas, estando próximos ao encontrado em gramíneas (Bernays & Barbehenn, 1987).

O maior percentual de carbono orgânico encontrado em *P. misera*, especialmente nos frutos violáceos desta espécie, pode explicar parte da preferência deste tipo de fruto quando comparado com os frutos violáceos de *P. suberosa*. Inferências mais robustas necessitam considerar a importância do carbono em um contexto mais abrangente, onde regiões vegetativas das plantas necessitam ser também analisadas. Contudo, a principal hipótese acerca do papel do carbono nas plantas e na interação destas com herbívoros em geral - a hipótese do balanceamento entre carbono e nutrientes - cuja questão central versa no dilema das plantas entre crescer ou se defender de acordo com a disponibilidade de carbono e nitrogênio no ambiente (ver Crawley, 1997), está atualmente abandonada. Fatores como as premissas e achados desta hipótese que não correspondem aos conhecimentos correntes em fisiologia vegetal, além das crescentes exceções encontradas nos sistemas herbívoro – planta de um modo geral justificam a quebra deste paradigma, não havendo atualmente uma hipótese com igual síntese e robustez em substituição (ver Hamilton *et al.*, 2000).

As concentrações diferenciais dos compostos e elementos aqui analisados acrescentam informações acerca da interação destes hemípteros com tais frutos, porém não permitem afirmar que os fenóis totais atuam como fagoestimulantes, as antocianinas como deterrentes, ou ambos. Para tanto, são necessários estudos que isolem estes compostos em dietas artificiais, sendo oferecidos aos insetos através de testes de simples ou dupla escolha.

Enquanto *H. clavigera* não mostrou preferência por nenhuma passiflorácea em particular, *A. foliacea* utilizou predominantemente *P. suberosa* e *P. misera*. Esta preferência corrobora os resultados obtidos na performance. A performance melhor em hospedeiras preferidas foi detectada no pentatomídeo *Nezara viridula* tanto em relação ao estágio ninfal quanto em relação ao estágio adulto (Panizzi & Saraiva, 1993). Porém, a ambigüidade dos dados referentes a *H. clavigera*, que não mostrou preferência mas inseriu o estilete em *P. edulis* o dobro de vezes quando comparado com *P. suberosa*, explica parte do “status” deste coreídeo como utilizador de espécies de maracujás comestíveis, o qual não é tão pronunciado em *A. foliacea marginella*. Além disso, é expressão do uso misto de estruturas e espécies de passifloráceas caracterizado no capítulo anterior.

O padrão de campo confirmou o uso de frutos verdes seguido de folhas como substrato preferencial de descanso e alimentação para ambas as espécies. Trabalhos com heterópteros tropicais demonstraram que o descanso é um evento de comum ocorrência em campo (e.g., Root & Chaplin, 1976), embora cite-se que estes animais despendam um considerável tempo alimentando-se, devido às baixas taxas de nutrientes de seus recursos (xilema e floema). Para alguns imaturos de Lepidoptera, o descanso ou ausência de movimento diminui consideravelmente as taxas de ataques por parasitóides (Bernays, 1997). O uso mais acentuado de estruturas aparentemente preferidas em campo foi demonstrado no pentatomídeo *Euschistus heros*, o qual alimenta-se mais de sementes quando comparado com folhas e caules (Malaguido & Panizzi, 1999).

## 6. TECIDOS VEGETAIS UTILIZADOS E ASPECTOS DO ROSTRO DE *Holymeria clavigera* E *Anisoscelis foliacea marginella*

### 6.1. INTRODUÇÃO

Os estudos relativos aos tecidos vegetais sugados por hemípteros em geral versam sobre os organismos que possuem importância econômica (Kingsolver & Daniel, 1995). A literatura aponta, de modo generalizado para os referidos grupos de organismos, o uso variado de tecidos vegetativos, embora tais estudos sejam centralizados em Sternorrhyncha e Auchenorrhyncha (ver Raven, 1983). Exemplificando, os cicadélídeos e os cercopídeos são conhecidos por sugarem xilema (e.g., Wiegert, 1964; Cheung & Marshall, 1973; White & Strehl, 1978; Crews *et al.*, 1998); os membracídeos usam o parênquima próximo à epiderme (ver Bernays & Chapman, 1994); a vasta maioria dos afídeos usam o floema (Pollard, 1973; Bing *et al.*, 1991; ver esquema generalizado em Bernays & Chapman, 1994). Em linhas gerais, ainda têm-se que a grande maioria dos sugadores de floema trata-se de membros pertencentes à antiga ordem Homoptera (ver Risebrow & Dixon, 1987; Press & Whittaker, 1993). Entretanto, os estudos sobre estruturas sugadas por heterópteros focam prioritariamente os sugadores de sementes devido também à sua importância econômica (ver Slansky Jr. & Panizzi, 1987).

Em relação ao uso de estruturas vegetativas por heterópteros, é considerado fato que algumas famílias como Coreidae são sugadoras de tecidos vasculares (Schuh & Slater, 1995) a salientar o floema (ver exemplos em Aldrich, 1988). Alguns coreídeos asiáticos são simbiotes de formigas e o fazem liberando açúcar de suas excreções a estas, o que pode apenas ser obtido através da sucção de floema (Maschwitz *et al.*, 1987). Estudos histoquímicos revelaram que ninfas de primeiro instar de *Anasa tristis* via de regra atingem os tecidos vasculares, utilizando mais comumente o floema em relação ao xilema (Bonjour *et al.*, 1991; Neal, 1993). Contudo, estudos com heterópteros de grande porte apontam a ingestão de compostos xilemáticos, floemáticos e parenquimáticos devido à maior magnitude dos seus estiletos que destroem vasos e tecidos quando penetram na planta. Por exemplo, danos mais significativos em plantas foram notificados em mirídeos de grande porte,

onde há uma destruição das células e uma remoção da camada que corresponde ao parênquima paliçádico. Neste caso, a saliva também atuaria na destruição de tais tecidos, caracterizando a influência conjunta de fatores químicos e mecânicos na estratégia alimentar empregada (Cohen & Wheeler Jr., 1998; ver Ribeiro, 1995). *Oncopeltus fasciatus*, um hemíptero de grande porte pertencente à família Lygaeidae, é notificado na literatura como sugador de floema (Miles, 1972). Em Aradidae, considerava-se a sucção exclusiva de Fungi devido à existência de longos estiletes e à alimentação em cascas de árvores (ver Weber, 1930; Schuh & Slater, 1995). Porém, estudos mais recentes demonstraram o uso de xilema e floema para uma espécie do gênero *Aradus* (Heliövaara, 2000).

Aliado ao conhecimento dos tecidos utilizados pelos hemípteros, diversas estratégias e componentes da história de vida são relacionados para a estruturação de tal panorama. Embora havendo controvérsias, atribui-se por exemplo o uso de xilema a hemípteros de grande porte devido à capacidade destes sugarem grandes taxas de fluidos pouco nutritivos que estão dentro de vasos que funcionam sob pressão negativa (Mattson, 1980; Press & Whittaker, 1993; Novotny & Wilson, 1997). Ainda, sabe-se que os hemípteros fitófagos apresentam diferentes modos para sugar os tecidos vegetais de suas plantas hospedeiras. O modo mais estudado corresponde à formação de uma bainha que adere o estilete aos elementos de tubo crivado, o que permite a sucção de floema. Este modo é típico de sugadores pequenos como Aphididae (Miles, 1972; Pollard, 1973). Um segundo modo corresponde à laceração de células e posterior sucção a partir da mistura da saliva com o conteúdo celular. Um terceiro tipo consta na maceração de células por enzimas pectinases produzidas na saliva, sendo o conteúdo formado então sugado. Por fim, uma quarta estratégia exclusiva de Coreidae consta em uma espécie de bomba osmótica produzida através da concentração de fluidos intercelulares de sacarases salivares, a qual suga produtos do floema e contrai células de parênquima, provocando a extração de seus produtos (ver Miles & Taylor, 1994; Hori, 2000). Ainda, é descrito na literatura um comportamento denominado “corte e serragem”, o qual consta do movimento dos estiletes para a frente e para trás em uma linha reta (Schuh & Slater, 1995). Em linhas gerais, sugadores de grande porte que maceram o alimento não necessariamente

produzem um cone salivar para auxiliar o processo de alimentação (Backus, 1988). Conseqüentemente, o estudo da morfologia, ultraestrutura e sensilas do aparelho bucal destes insetos é igualmente relevante para uma compreensão maior da biologia alimentar dos hemípteros. Um considerável volume de trabalho na área existe para Hemiptera, enfocando-se padrões filogenéticos (Cobben, 1978), comportamentais e sensoriais (e.g., Backus, 1988).

Embora sendo o componente que permitiu o angariamento das informações de grande parte dos estudos acima mencionados, as tentativas em utilizar a saliva (cones ou bainhas salivares) em técnicas histoquímicas para detecção dos tecidos sugados foram falhas para *Holymenia clavigera* e *Anisoscelis foliacea marginella* (ver revisões sobre a saliva de Hemiptera em Miles, 1972; Ribeiro, 1995 e particularidades em Coreidae em Taylor & Miles, 1994). Este estudo objetiva analisar o aparelho bucal destes dois coreídeos e inferir uma possível estratégia alimentar a partir da morfologia genérica dos estiletos. Adicionalmente, visa a determinar os tecidos vegetais e as partes dos frutos de *Passiflora suberosa* utilizados por estes coreídeos, uma vez que o referido conhecimento para Heteroptera é escasso e as respectivas informações ainda são ambíguas, contrariamente ao encontrado nos demais hemípteros. Para tanto, é empregada uma técnica alternativa à histoquímica. A partir de tal determinação, tenciona-se discutir se *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* corroboram o caracterizado em Coreidae até o estado da arte presente na literatura, a elencar a estratégia alimentar para sucção dos tecidos, o uso de tecidos relacionado ao tamanho e outros componentes da história de vida.

## 6.2. MATERIAL & MÉTODOS

A criação de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* foi conduzida de acordo com o método descrito no item 2.2. Ninfas e adultos de ambas as espécies (n = 11 / idade / espécie) foram individualizados em potes com estruturas de *P. suberosa* (ver item 2.2). Ao ser observada a alimentação, os insetos tiveram seus rostros cortados com uma tesoura microcirúrgica *in situ*. Deste modo, a região distal do estilete permaneceu aderida junto à estrutura vegetal então sugada. Devido a limitações impostas pelo método em relação

ao tamanho das ninfas de primeiros ínstaes, foram utilizados apenas as ninfas de quinto instar e os adultos de ambas as espécies.

As folhas e os frutos verdes foram selecionados por serem as estruturas vegetativa e reprodutiva mais utilizadas pelas duas espécies de coreídeos. Para as folhas, buscou-se identificar se as ninfas e os adultos fazem uso do parênquima (clorofiliano ou paliçádico), xilema ou floema. O xilema e floema são aqui considerados no sentido lato, onde cada tecido engloba os vasos (elementos traqueais e elementos de tubo crivado com células companheiras para o xilema e o floema, respectivamente), suas respectivas fibras e parênquimas associados (Isaias, R.M.S., UFMG; Salles, D.S., UFRGS, comunicações pessoais). Para os frutos, buscou-se identificar se o estilete alcançava o pericarpo, o arilo ou a semente. O pericarpo engloba o epicarpo, mesocarpo e endocarpo. Tais regiões não foram aqui diferenciadas devido à impossibilidade de delimitá-los visualmente (Oliveira, J.M.S., UFRGS, comunicação pessoal) e por tal refinamento para a estrutura fruto não constar como objetivo do presente estudo.

O pedaço de rostro cortado aderido à folha ou fruto verde era então cortado próximo ao órgão vegetal. Para as folhas, a área vegetal circundante era também cortada ao máximo próxima da região a qual estava inserido o estilete. Este material era então fixado em F.A.A. 50 %, identificado e acondicionado individualmente em recipientes plásticos com tampa, sendo que alguns exemplares foram congelados antes de serem colocados no fixador. Este material foi posteriormente levado ao laboratório de histologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC / RS). Após, os exemplares foram desidratados e corados conforme procedimento de rotina, emblocados em resina (Leicahistoresin<sup>®</sup>) e cortados em micrótomo (Leica<sup>®</sup>) a uma espessura de 10 µm. Os cortes foram colocados sobre lâmina, corados com azul de toluidina e montados sob lamínula por meio do uso de entelan.

Os frutos sugados foram seccionados com lâmina de barbear (Gillette<sup>®</sup>) em uma região adjacente àquela sugada pelo inseto, sendo tal procedimento realizado sob lupa (Wild<sup>®</sup>). Após abertos, determinava-se a parte do fruto [pericarpo, arilo (= polpa) ou semente] na qual encontrava-se a região distal do estilete. Devido ao fato do arilo constar como uma parte da semente, e este

não estar sempre presente nos frutos (indícios apontam uma diminuição ou ausência de arilo à medida em que as sementes amadurecem, embora o fruto ainda apresente coloração verde), a representação gráfica destas informações englobou o uso de arilo como correspondendo à sucção de semente.

Para fins de detecção de diferenças na ultraestrutura do aparelho bucal no decorrer do desenvolvimento e entre espécies, foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura as estruturas do aparelho bucal de ninfas e adultos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* ( $n = 3$  instar / espécie). Os procedimentos para tal seguiram o método descrito no item 2.2. Ainda, como informação complementar à existente no capítulo três, vinte aparelhos bucais de adultos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* foram medidos conforme o desenvolvido para os imaturos na morfometria univariada (item 3.2.1). Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão, sendo as respectivas médias comparadas através do teste t de Student ( $\alpha = 0,05$ ).

### 6.3. RESULTADOS

#### 6.3.1. APARELHO BUCAL DE *H. clavigera* E *A. foliacea marginella*

As ninfas de primeiro instar de ambas as espécies apresentam o aparelho bucal com suas estruturas dotadas de forma e arranjo similares às encontradas nos ínstaes subseqüentes, bem como nos adultos (Figura 6.1.A; D). Não foram detectadas diferenças entre as espécies. Externamente, o rosto é formado pelo lábio, extenso e tri segmentado, o qual encobre as mandíbulas e maxilas. Por sua vez, o labro justapõe-se anteriormente ao primeiro segmento do lábio. Observou-se que as mandíbulas apresentam formato e dentes que permitem a perfuração e o posterior ancoramento do estilete dentro dos tecidos de suas hospedeiras (Figura 6.1.C;F). Por sua vez, as maxilas (primeiro par) tornam-se afiladas em suas extremidades, possibilitando assim a perfuração dos tecidos (Figura 6.1B;E). Embora não tenham sido fotografadas transversalmente, estas formam internamente dois canais (salivar e alimentar), por onde supostamente processam e ingerem o alimento. O padrão aqui detectado corresponde àquele descrito em Snodgrass (1935) para Hemiptera.

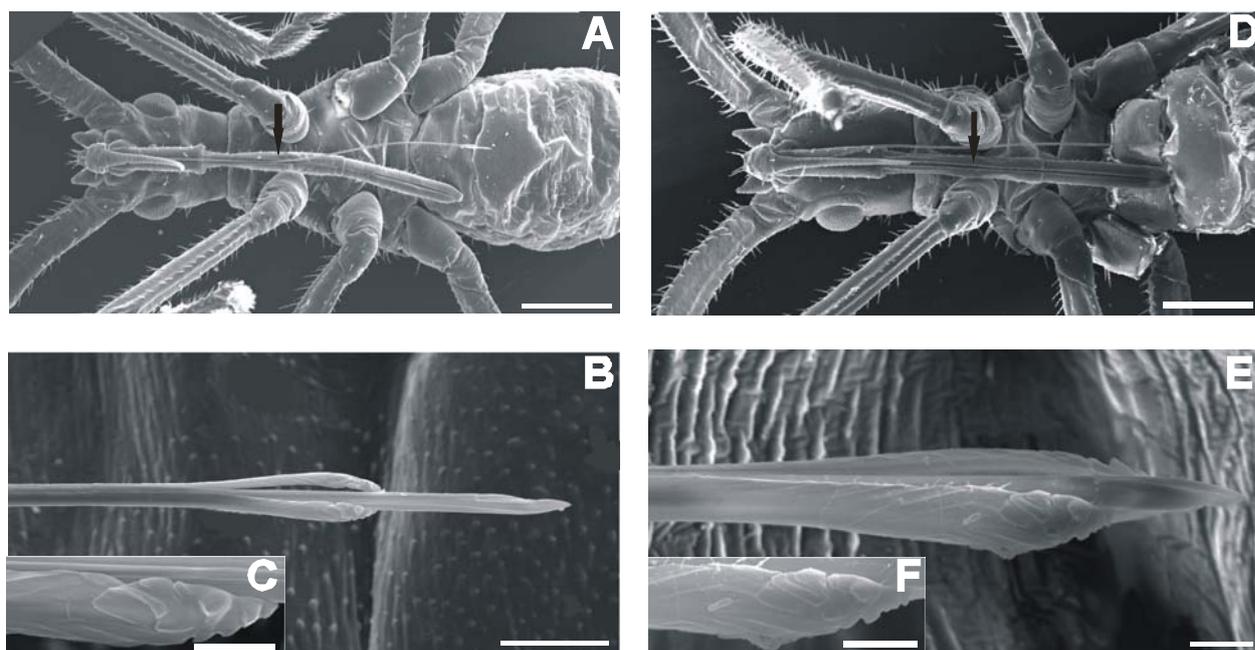


Figura 6.1. Rostro (setas) dos imaturos de primeiro instar de *H. clavigera* (A) e *A. foliacea marginella* (D) em vista ventral e os respectivos detalhes do estilete (B e E para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, respectivamente) e da mandíbula (C e F para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, respectivamente) em microscopia eletrônica de varredura. Barras = 500, 50, 10, 500, 10 e 10  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

Os adultos tiveram um comprimento do rostro de  $11,147 \pm 0,195$  (*H. clavigera*) e  $8,972 \pm 0,1726$  (*A. foliacea marginella*), sendo tais medidas significativamente diferentes (teste t de Student,  $t = 8,349$ ;  $P < 0,0001$ ).

### 6.3.2. TECIDOS UTILIZADOS NAS FOLHAS DE *P. suberosa*

Houve um aproveitamento de 79,5 % do material submetido às técnicas histológicas. Nove ninfas de quinto instar de *H. clavigera* foram aproveitadas nesta análise, estando duas com a região distal do estilete no parênquima associado ao protoxilema e sete nos elementos traqueais (Figura 6.2.A, 6.3.A). Em *A. foliacea marginella*, oito amostras apresentaram material com informação aproveitável. Destes, um apresentava sua região distal no parênquima associado ao protoxilema, seis nos elementos traqueais e um nos elementos de tubo crivado (Figura 6.2.A).

Nove adultos de *H. clavigera* apresentaram informação apropriada para uso. Destes, dois estiletos estavam com suas regiões distais localizadas no parênquima associado ao protoxilema, seis nos elementos traqueais e um nos elementos de tubo crivado (Figura 6.2.B, 6.3.B). Em relação a *A. foliacea marginella*, oito ninfas estavam no xilema e uma no floema (Figura 6.2.B).

Excetuando-se um adulto de *A. foliacea marginella* que perfurou uma nervura secundária, os demais indivíduos alimentaram-se das folhas de *P. suberosa* via nervura principal (Tabela 6.1). *H. clavigera* sugou a folha via face adaxial em 100 % das ocasiões no estágio de ninfa e 80 % no estágio adulto, perfurando via face abaxial nos demais casos. Em contrapartida, as ninfas e os adultos de *A. foliacea* utilizaram a face adaxial para perfuração apenas em 30 e 22,22 % dos casos, respectivamente, perfurando a face abaxial nas demais ocasiões (Tabela 6.1).

### 6.3.3. PARTES UTILIZADAS NOS FRUTOS VERDES DE *P. suberosa*

Das onze ninfas de quinto instar de *H. clavigera* analisadas, seis estavam sugando o pericarpo dos frutos verdes de *P. suberosa*, representando um total de 54,54 % (Figura 6.4.A). As cinco ninfas restantes continham os estiletos em partes das sementes de tais frutos, sendo duas no arilo e três internamente à semente (Figura 6.5.B-C). Para *A. foliacea marginella*, sete ninfas foram encontradas sugando o pericarpo (63,63 %) e quatro sugando a

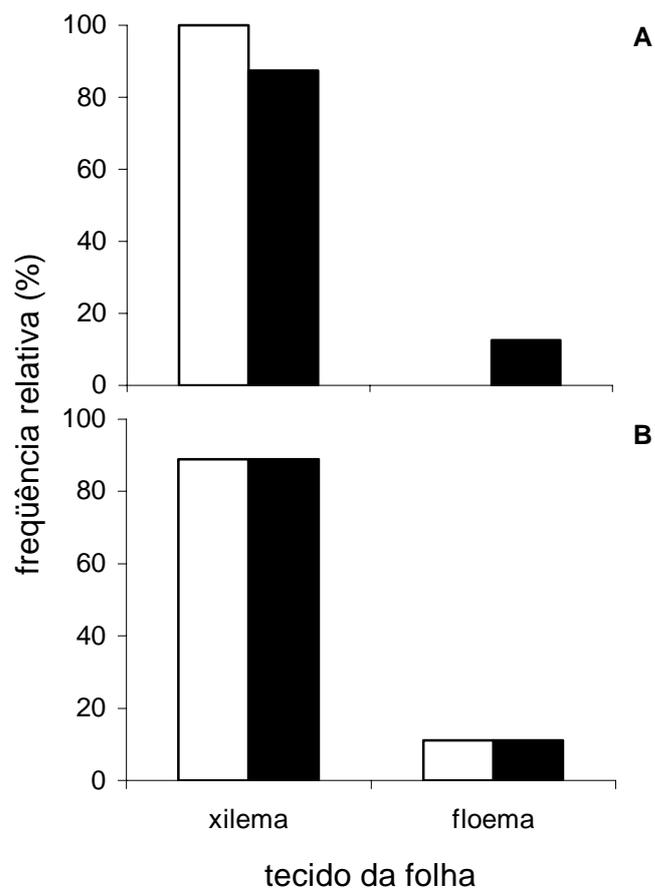


Figura 6.2. Uso de tecidos das folhas maduras de *P. suberosa* por ninfas de quinto instar (A) e adultos (B) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■. Para as ninfas de *A. foliacea marginella*, n = 8; n = 9 por categoria nos demais casos.

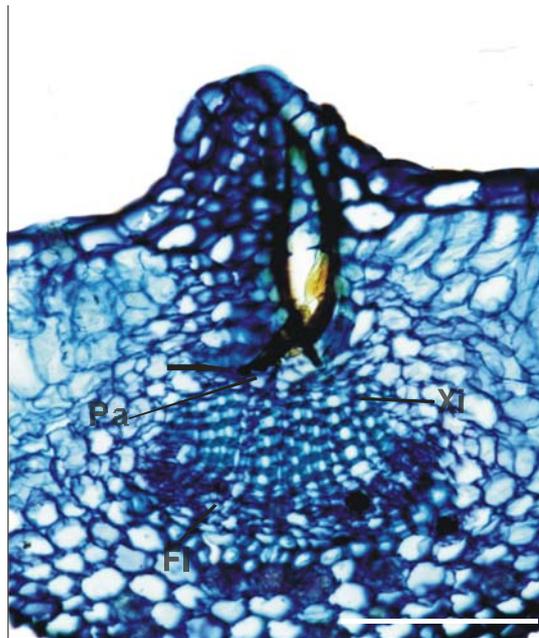
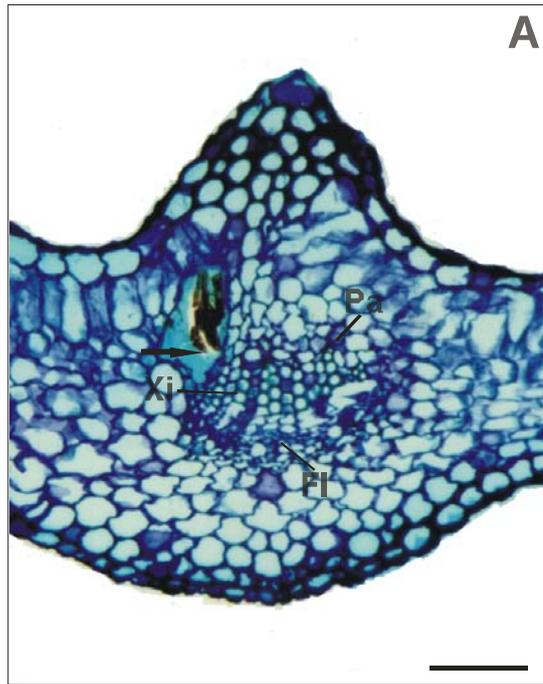


Tabela 6.1. Uso das faces abaxial e adaxial e das nervuras principal e secundária das folhas maduras de *P. suberosa* por ninfas de quinto instar e adultos de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*. Números fora dos parênteses representam a freqüência absoluta de uso, e os números em parênteses a freqüência relativa por espécie / estágio.

espécie	estágio	face de perfuração		tipo de nervura	
		adaxial	abaxial	principal	secundária
<i>H. clavigera</i>	ninfa	9 (100)	0 (0)	11 (100)	0 (0)
	adulto	8 (80)	2 (20)	11 (100)	0 (0)
<i>A. foliacea</i>	ninfa	3 (30)	7 (70)	11 (100)	0 (0)
	adulto	2 (22,22)	7 (77,78)	10 (90,90)	1 (9,09)

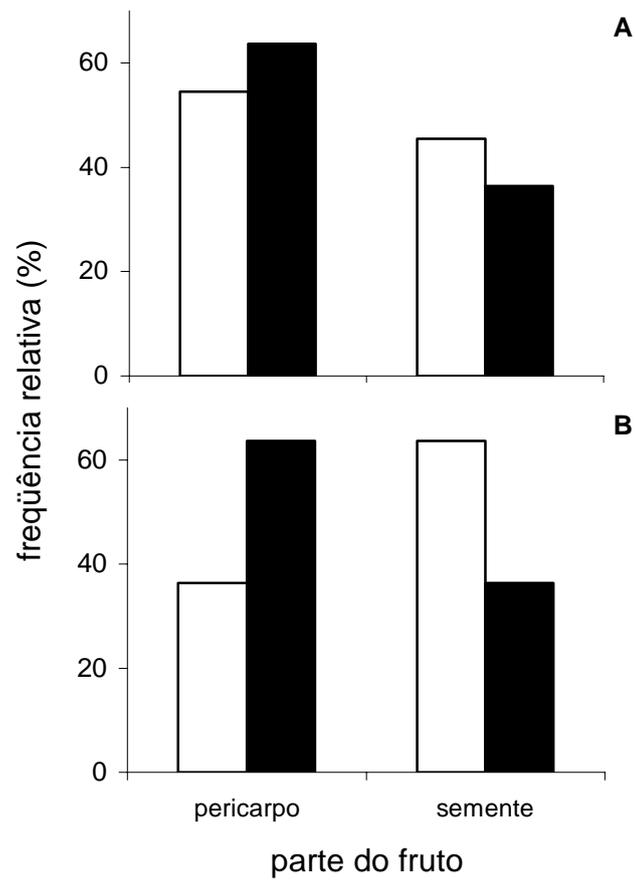


Figura 6.4. Uso de pericarpo e semente de frutos verdes de *P. suberosa* por ninfas de quinto instar (A) e adultos (B) de *H. clavigera* □ e *A. foliacea marginella* ■. n = 11 por categoria.



Figura 6.5. Inserção do estilete de um adulto de *H. clavigera* no pericarpo de um fruto de *P. suberosa* (A); estiletes de ninfas de quinto instar de *H. clavigera* no arilo (B) e na semente de frutos de *P. suberosa* (C). Setas indicam a extremidade distal dos estiletes. Barras = 5 mm.

semente (36,36 %) (Figura 6.4.A). Destas quatro ninfas, nenhuma estava sugando o arilo, mas regiões internas à semente.

Em relação aos adultos, *H. clavigera* utilizou o pericarpo dos frutos verdes de *P. suberosa* em quatro das onze ocasiões amostradas, representando um percentual de 36,36 %. (Figura 6.5.A). Nas demais ocasiões, sugou o arilo da semente quatro vezes e a semente internamente, três vezes (Figura 6.4.B). Os adultos de *A. foliacea marginella* sugaram o pericarpo em sete das onze ocasiões (63,63 %), fazendo uso do arilo da semente três vezes e da semente internamente, uma vez (Figura 6.4.B).

#### 6.4. DISCUSSÃO

As ninfas de primeiro instar de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* apresentam ultraestrutura de suas mandíbulas e maxilas semelhantes entre si e em relação aos ínstarres subseqüentes e adultos de ambas as espécies, demonstrando que são morfológica- e funcionalmente aptas para iniciar a alimentação desde o instante em que eclodem. Por conseguinte, é notória uma acentuada conservação morfológica destas peças tanto na ontogenia quanto interespecificamente, além da manutenção do maior tamanho de *H. clavigera* no estágio adulto. A região distal das mandíbulas apresenta dentes que laceram o tecido vegetal e auxiliam o ancoramento dos estiletos. Esta estratégia alimentar já foi registrada em Pentatomomorpha, especialmente para o uso de sementes (Backus, 1988). No entanto, as observações alimentares principalmente em sementes apontam o método descrito em Schuh & Slater (1995), no qual os estiletos movem-se para frente e para trás continuamente a partir de um dado ponto de perfuração. Logo, é possível que as duas estratégias não sejam excludentes nestes coreídeos, havendo períodos de ancoramento e movimento das peças bucais para utilização de regiões ainda não atingidas. Contudo, o papel da saliva nestes caso ainda permanece em aberto, embora haja uma alta probabilidade desta atuar no processo de alimentação.

As ninfas de quinto instar e os adultos de ambas as espécies apresentaram o mesmo padrão de utilização de tecidos vegetativos, sendo o xilema o tecido predominantemente utilizado. Conseqüentemente, conclui-se

que estes coreídeos fazem uso de tecidos vegetativos principalmente para obtenção de água e minerais, elemento portadores de baixo valor nutricional mas que evitam a dessecação (ver Wiegert, 1964). Este fato explica em parte a alta mortalidade obtida nos experimentos de performance, os quais foram desenvolvidos a partir de ramos seccionados do solo. Por sua vez, os frutos verdes constam como a principal fonte de nutrientes destes organismos. O uso substancial de sementes aqui constatado explicaria o meio principal de como estes herbívoros adquirem proteínas, amido e óleos, embora as concentrações de tais compostos variem grandemente entre espécies, meio abiótico e idade das sementes (Slansky Jr. & Panizzi, 1987).

Os sugadores de sementes são considerados organismos que comumente apresentam modificações morfo- e fisiológicas para utilizarem tal recurso, sendo geralmente tecido e planta hospedeira específicos (Bernays & Chapman, 1994), embora haja vastos registros de sugadores de sementes que são tanto oligo- quanto polífagos (Slansky Jr. & Panizzi, 1987). Ainda, têm-se que a maioria dos sugadores de sementes sofrem diapausa, mas possuem a possibilidade de utilizar recursos alternativos enquanto as sementes não estão disponíveis. Estes por vezes o fazem mesmo quando estas estão disponíveis para obtenção de água (Slansky Jr. & Panizzi, 1987). Este panorama corrobora parte do conhecido para *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*, considerando-se que a guilda sugadores de sementes engloba insetos com um perfil diferente daquele conhecido para estes organismos, que necessitam ter contato com partes vegetativas e reprodutivas de suas hospedeiras.

Embora ainda não quantificado, o pericarpo dos frutos de Passifloraceae é provavelmente bastante nutritivo aos seus hóspedes, uma vez que este estudo detectou um maior uso desta parte do fruto. Também, via de regra os frutos de maracujás cultivados tais como *P. edulis* e *P. alata* apresentam suas sementes situadas a uma profundidade superior àquela que permite o alcance do estilete dos adultos, o que faz do pericarpo a parte mais utilizada nestes casos. Porém, como acima explicitado, a constituição química do pericarpo e das sementes ainda não foi analisada em nenhuma espécie de Passifloraceae até o momento, o que impede uma análise mais profunda do ponto de vista nutricional. O uso e posterior lesão do epicarpo de frutos de *Pistacia vera* foi constatado para *Leptoglossus clypealis* (Bolkan *et al.*, 1984).

Uma vez sendo os estiletes de *H. clavigera* e *A. foliacea marginella* visíveis a olho nu, estes são maiores que as células de xilema e floema de passifloráceas, o que necessariamente implica em uma laceração dos tecidos até ser atingida a região desejada. Por sua vez, esta laceração libera fluidos do conteúdo citoplasmático de células do parênquima clorofiliano e parênquima xilemático quando estes organismos sugam a folha via face adaxial, bem como células de floema no caso de inserção do estilete via face abaxial. Este fato acarreta em uma ingestão indireta de produtos existentes e assimilados em células parênquimáticas e floemáticas principalmente por *A. foliacea marginella*, que sugou as folhas via face abaxial com maior frequência quando comparado com *H. clavigera*. Ainda, a literatura aponta que os sugadores de xilema e floema evitam vacúolos e zonas que possam conter o armazenamento de compostos do metabolismo secundário, o que gera um padrão de penetração de estiletes entre as paredes celulares. Este mecanismo também evita o encontro de metabólitos produzidos ao momento em que a planta é predada (ver Bernays & Chapman, 1994). Nos casos aqui estudados, é improvável que tal mecanismo ocorra ou seja eficiente. Em contrapartida, estes insetos podem ainda liberar uma grande quantidade de compostos químicos depositados nas paredes celulares (ver Bernays & Chapman, 1994). Este aspecto ainda está descoberto no presente sistema.

O uso mais pronunciado de *H. clavigera* pela região adaxial das folhas de *P. suberosa*, e o padrão contrário observado para *A. foliacea marginella* inferem possíveis partilhas de recurso neste sistema em caso de escassez deste. Embora não sendo objetivo do presente trabalho, e não sendo detectada em campo, a escassez de alimento e a possível conseqüente competição entre tais coreídeos pode ter sido fator relevante para interação destes com as hospedeiras no passado, os quais supostamente geraram o padrão aqui vislumbrado.

O uso de xilema por estes coreídeos corrobora os modelos de coações de tamanho para uso deste tecido e magnitude limiar da bomba de cibário para permitir a sucção, ao menos no concernente aos estágios aqui trabalhadas (Raven, 1983; Novotny & Wilson, 1997). Embora ainda não haja uma síntese consenso entre fisiologia vegetal e animal sobre as pressões necessárias para

funcionamento do xilema e as taxas de sucção deste por herbívoros (ver Milburn, 1996; Crews *et al.*, 1998), avanços têm sido feitos na área.

A exemplo do encontrado na literatura recente, a evolução do tamanho em Hemiptera relaciona conseqüências na mobilidade, comportamento, longevidade, possibilidade de uso de vários recursos, inferências sobre hábitos alimentares de hemípteros ancestrais antes do surgimento de Heteroptera e Homoptera, entre outros têm sido tratados conjuntamente. Algumas inferências sobre uso de xilema e longevidade, por exemplo, já foram tecidas para grupos melhor estudados como Cicadelidae (Slansky Jr., 1980). Ainda, os utilizadores de xilema necessitam ter no mínimo oito milímetros de comprimento para possuir um aparelho bucal e uma bomba de cibário eficiente para a sucção de água e minerais e a uma taxa maior que os sugadores de floema (Novotny & Wilson, 1997), uma vez que o xilema é pouco nutritivo e este move-se na planta sob pressão negativa. O contrário ocorreria do floema (ver Raven, 1983), embora os volumes a serem ingeridos em ambos os casos sejam maiores quando comparados com sugadores de sangue ou néctar, os quais são recursos mais viscosos e nutritivos (Kingsolver & Daniel, 1995). Auchenorrhyncha e Sternorrhyncha sugadores de floema são organismos mais diminutos e restritos de mobilidade, o que faz deste tecido o seu único recurso alimentar. No entanto, o uso de variadas partes da folha já foi constatado em cochonilhas (Sadof & Neal, 1993).

No caso dos insetos aqui estudados, o uso de xilema por estes indivíduos provavelmente indica a necessidade nutricional de águas e minerais *per se*, uma vez que estes organismos possuem alta mobilidade e fazem uso de diversas partes de suas hospedeiras. Os demais nutrientes são provavelmente extraídos dos frutos e sementes das passifloráceas nativas silvestres, recursos já possível de ser utilizado no segundo instar tanto em *H. clavigera* quanto em *A. foliacea marginella*. De forma complementar, os resultados obtidos nos capítulos três (tamanho de estiletos de ninfas de primeiros ínstars), quatro (performance melhor em *P. suberosa* seguido de *P. misera* e uso misto de estruturas) e cinco (uso preferencial de frutos a partir do segundo instar), aliado ao tamanho dos frutos das passifloráceas (Sacco, 1980; Acioli, 1999; ver magnitudes nos capítulos quatro e cinco) corroboram estas informações. Por outro lado, a hipótese das sementes serem inviáveis

mecanicamente (por exemplo, um elevado grau de dureza) ou quimicamente em ninfas de primeiros ínstaes deve ser levada em conta. Sabe-se que a dureza medeia o uso de sementes em *N. viridula* (Slansky Jr. & Panizzi, 1987).

Como direcionamento de futuros estudos, a detecção de quais partes da semente são utilizadas por estes sugadores na hipótese de haver uma especificidade tecidual, e se há alguma variação no uso por idade e espécie deve ser considerada (ver estrutura da semente em Koslowski & Gunn, 1972). Sabe-se que o endosperma e o embrião são regiões acentuadamente utilizadas pelos sugadores de sementes (Slansky Jr. & Panizzi, 1987). É possível que exista algum tipo de seleção frente à idade das sementes especificamente, uma vez que este estudo observou que as sementes verdes foram mais sugadas que as sementes marrons. O conhecimento dos tecidos vegetativos utilizados nos ínstaes aqui não trabalhados, bem como em outras partes da planta como caule, nectários extra-florais e outras passifloráceas é igualmente importante. É possível que ninfas de primeiros ínstaes não usem os tecidos vasculares e mantenham-se no parênquima indiferenciado quando usam as gavinhas, mesófilo da folha e pericarpo dos frutos embora possuam aparelho bucal com tamanho suficiente para atingir regiões mais profundas (ver capítulo três). Este uso diferenciado de tecidos no decorrer da ontogenia foi detectado em *Parabemisia myricae*, um Sternorrhyncha utilizador de *Citrus lemon* (Walker, 1985).

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

*Holymeria clavigera* e *Anisoscelis foliacea marginella* são morfológica- e ultraestruturalmente idênticos no estágio de ovo e nos quatro primeiros instares ninfais, excetuando-se a crescente dilatação na tíbia do último par de pernas presente em *A. foliacea marginella*. Contudo, as trajetórias de crescimento de ambas as espécies diferem, e muitas estruturas apresentam diferentes coeficientes alométricos. Adicionalmente, *H. clavigera* apresenta maior tamanho absoluto em todas as fases quando comparado com *A. foliacea marginella*.

Ambas as espécies apresentam melhor performance em *P. suberosa*, seguidas da condição onde as três passifloráceas estão presentes, *P. misera* e *P. edulis*. Em campo e em laboratório, de um modo geral, ambas as espécies utilizam tecidos mais tenros com região apical no primeiro instar. Após, passam a utilizar os frutos verdes mais intensamente, sendo o uso de frutos mais acentuado em *H. clavigera*. O teor de fenóis totais e água decrescem quando os frutos amadurecem, ocorrendo contrariamente um significativo aumento da concentração de antocianinas. Todavia, as diferenças nos percentuais de carbono e nitrogênio nos frutos expressam diferenças entre hospedeiras e não entre as fenofases destes. Como ocorrente também nas folhas, *P. suberosa* apresenta maior teor de nitrogênio nos frutos quando comparada com *P. misera*. O maior teor de nitrogênio e água em partes de *P. suberosa* intensamente utilizadas por estes coreídeos pode explicar parte da melhor performance atingida nesta hospedeira. O uso de todas partes do fruto verde e de xilema em caso de sucção da folha é fato para ambos os coreídeos, e expressa um padrão distinto ao encontrado na literatura sobre Coreidae.

Por conseguinte, assume-se que a principal fonte nutricional destes insetos são as sementes, sendo a aquisição de água, minerais e alguns aminoácidos também importantes na dieta e hidratação destes. Tal importância foi detectada na considerável mortalidade obtida nos experimentos de performance, cujas hospedeiras estão na água e não no solo. Alguns componentes da história de vida dos adultos como potencial dispersivo, longevidade e reprodução podem estar grandemente relacionados com este padrão alimentar, os quais ainda não foram explorados neste grupo.

O fato de ambos os coreídeos apresentarem uma pior performance em *P. edulis* pode levar no norteamento de algumas estratégias que podem ser adotadas para minimizar o impacto destes sugadores nos frutos dos maracujás cultivados. Por exemplo, o estabelecimento de “zonas tampão” contendo plantas com maior grau de aceitabilidade, ou seja, áreas com grande abundância de hospedeiras preferidas que circundam o cultivo dos maracujás comestíveis, levariam a uma maior densidade destes coreídeos nestas áreas e conseqüentemente a uma maior herbivoria nestas plantas (ver Panizzi & Parra, 1991). Sabe-se que *P. suberosa* e *P. misera* necessitam de um certo grau de sombreamento para desenvolverem folhas com maior biomassa e mais palatáveis aos seus herbívoros (Gauer, 2000), o que implica no estabelecimento de ambientes semelhantes aos de bordas de mata como “zonas tampão”. Esta estratégia provavelmente minimizaria a herbivoria destes sugadores mas não a evitaria por completo, visto que a diversidade de recursos alimentares tanto intra- quanto interespecificamente é vantajosa para estes insetos, os quais não preferem uma passiflorácea em específico. As razões e implicações para este uso misto, tanto no estágio ninfal quanto adulto, necessitam ser futuramente investigadas à luz das teorias de balanceamento de nutrientes e moderação no contato com toxinas. Igualmente, parâmetros da história de vida dos adultos, como performance reprodutiva frente às hospedeiras, potencial dispersivo, entre outros, são informações que acrescentam na tomada de decisões de certa estratégia.

Uma vez sendo o fator alcance da semente um provável determinante do uso dos frutos por estes sugadores, estudos envolvendo preferência frente à idade dos frutos importantes comercialmente seriam relevantes para o presente sistema. Em *P. edulis* e *P. alata*, o amadurecimento do fruto implica em um murchamento do pericarpo, que torna-se mais macio e menos profundo. O alcance das sementes nestes frutos seria então facilitado por estes dois fatores, implicando no estabelecimento de fenofases mais apropriadas para a colheita do maracujá. Adicionalmente, não está elucidado na literatura o real impacto destes coreídeos nesta cultura, o que leva ao questionamento do papel destes como “insetos-praga”.

Sumarizando as diferenças encontradas entre os coreídeos aqui estudados são elencadas o tamanho, as trajetórias ontogenéticas, os

coeficientes alométricos das estruturas medidas, a forma das tíbias a partir do segundo instar, um uso menos intenso de frutos por *A. foliacea marginella* e as faces das folhas perfuradas. Estas diferenças provavelmente foram relevantes no suposto processo de especiação destes coreídeos. Exemplificando, na hipótese destes coreídeos terem competido por recursos no passado, a diferença na intensidade do uso dos frutos e as diferentes faces da folha perfuradas entre as espécies podem ter sido soluções alternativas à esta suposta limitação. Adicionalmente, o fato de tanto *A. foliacea marginella* quanto *H. clavigera* apresentarem atividade alimentar no primeiro instar, em associação à alta semelhança fenotípica entre os imaturos – aqui considerados morfologia, ultraestrutura, coloração, odor, mobilidade, comportamento alimentar, de forrageio, performance, preferência e tecidos sugados, - indica que pode tal padrão ter sido gerado a fim de possibilitar o uso comum das estruturas de suas hospedeiras através de convergência evolutiva ou mimetismo Mülleriano. Alternativamente, estas duas espécies podem ter um ancestral comum ou uma derivar da outra, o que pode implicar em uma total parcimônia ou falta de pressão seletiva nos estágios imaturos, que os manteve idênticos em praticamente todos os caracteres morfológicos.

A melhor performance em *P. suberosa* detectada em ambos os coreídeos, e a ausência de preferência por esta espécie indica que os fenômenos preferência e performance não estão relacionados de forma adaptativa. Porém, *A. foliacea marginella* selecionou negativamente *P. edulis*, indicando uma possível mudança evolutiva em tempo presente no relativo à relação preferência-performance neste sugador.

Deve-se levar em conta os imaturos em um sentido lato para a sistemática filogenética de grupos de Insecta. Como caracterizado neste estudo, as ninfas são acentuadamente semelhantes porém os adultos são distintos, exemplificando a relativa independência dos estágios na evolução em Insecta. Esta independência é mais constatada em insetos holometábolos, cuja mudança morfológica no decorrer da ontogenia é abrupta (senso Wilbur, 1980), sendo pouco explorada em hemimetábolos. A não consideração deste fato pode levar a conclusões que não expressam a realidade da trajetória evolutiva de certo grupo. Uma vez senso tais atributos levados em conta conjuntamente para o estabelecimento da filogenia da tribo, é possível que modificações em

nível de gênero possam ser feitas. Tais cenários, contudo, são pouco visíveis no presente momento face ao desconhecimento das formas imaturas de outros anisoscelidíneos tais como *H. histrio* e *A. foliacea foliacea*.

Por fim, o uso misto de recursos, demonstrado nestes organismos, trata-se de um fenômeno que atualmente auxilia no entendimento da evolução de estratégias como a onivoria, devido às altas capacidades de forrageio e sensorial para o amplo espectro de decisões tomadas na escolha do recurso, tempo de alimentação, entre outros (Singer & Bernays, em preparação). Ainda, corrobora teorias recentes tecidas acerca do hábito alimentar dos protohemípteros. Estas predizem que estes organismos possuíam um hábito onívoro e detritívoro, além de serem dotados de alta mobilidade, potencial dispersivo, capacidade para competição e predação, e grande porte (Schaefer & Panizzi, 2000). Parte destes caracteres podem ser encontrados em alguns heterópteros viventes, entre os quais *H. clavigera* e *A. foliacea marginella*.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABISGOLD, J.D., SIMPSON, S.J. & DOUGLAS, A.E. Nutrient regulation in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: application of a novel geometric framework to sugar and amino acid consumption. Physiological Entomology **19**: 95-102, 1994.
- ABRAHAMSON, W.G. & WEIS, A.E. Evolutionary ecology across three trophic levels: goldenrods, gallmakers, and natural enemies. Princeton, Princeton University Press, 1997. 456p.
- ACIOLI, M.F. Estudo preliminar da biologia floral de *Passiflora suberosa* Linnaeus (Passifloraceae). Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999. 23p. (Dissertação de Bacharelado).
- ADAMS, D.C. & FUNK, D.J. Morphometric inferences on sibling species and sexual dimorphism in *Neoclhamisus bebbianae* leaf beetles: multivariate applications of the thin-plate spline. Systematic Biology **46**: 180-194, 1997.
- ALDRICH, J.R. Chemical ecology of the Heteroptera. Annual Review of Entomology **33**: 211-238, 1988.
- ALDRICH, J.R., KOCHANSKY, J.P, LUSBY, W.R. & DUTKY, S.R. Volatile male-specific natural products of a coreid bug (Hemiptera: Heteroptera). Journal of Chemical Ecology **8**: 1369-1376, 1982.
- AMARAL F<sup>o</sup>, B.F. Efeito das dietas naturais e de fatores ambientais na biologia de *Phthia picta* (Drury, 1770) sob condições de laboratório (Hemiptera, Coreidae). Revista Brasileira de Biologia **41**: 845-853, 1981.
- AMARAL F<sup>o</sup>, B.F. Observações sobre o ciclo biológico de *Crinocerus sanctus* (Fabricius, 1775) (Hemiptera; Coreidae) sob condições de laboratório. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil **15**: 5-18, 1986.
- AMARAL F<sup>o</sup>, B.F. & CAJUEIRO, I.V.M. Observações sobre o ciclo biológico de *Veneza stigma* (Herbst, 1784) Osuna, 1975 (Hemiptera, Coreidae) em laboratório. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil **6**: 164-172, 1977.
- AMARAL F<sup>o</sup>, B.F. & STORTI F<sup>o</sup>, A. Estudos biológicos sobre *Leptoglossus gonagra* (Fabricius, 1975), (Coreidae, Hemiptera) em laboratório. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil **5**: 130-137, 1976.
- BACKUS, E.A. Sensory systems and behaviours which mediate hemipteran plant-feeding: a taxonomic overview. Journal of Insect Physiology **34**: 151-165, 1988.

- BALDIN, E.L.L. & BOIÇA Jr., A.L. Desenvolvimento de *Holhymenia histrio* (Fabr.) (Hemiptera: Coreidae) em frutos de cinco genótipos de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) Anais da Sociedade Entomológica do Brasil **28**: 421-427, 1999.
- BENSON, W.W., BROWN, K.S.Jr., & GILBERT, L.E. Coevolution of plants and herbivores: passion flower butterflies. Evolution **29**: 659-680, 1976.
- BERNAYS, E.A. Evolution of insect morphology in relation to plants. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B **333**: 257-264, 1991.
- BERNAYS, E.A. Feeding by lepidopteran larvae is dangerous. Ecological Entomology **22**: 121-123, 1997.
- BERNAYS, E.A. & BARBEHENN, R. Nutritional ecology of grass foliage chewing insects. In Slansky Jr. F. & Rodriguez, J.G. (eds.): Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. New York, John Wiley & Sons, 1987. 147-175.
- BERNAYS, E.A. & CHAPMAN, R.F. Host-plant selection by phytophagous insects. New York, Chapman & Hall, 1994. 312p.
- BERNAYS, E.A. & GRAHAM, M. On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. Ecology **69**: 886-892, 1988.
- BERNAYS, E.A. & MINKENBERG, P.J.M. Insect herbivores: different reasons for being a generalist. Ecology **78**: 1157-1169, 1997.
- BING, J.W.; NOVAK, M.G., OBRYCKI, J.J. & GUTHRIE, W.D. Stylet penetration and feeding sites of *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae) on two growth stages of maize. Annals of the Entomological Society of America **84**: 549-554, 1991.
- BLISS, C.I. & BEARD, R.L. The growth of the head capsule in individual milkweed bugs. Annals of the Entomological Society of America **47**: 388-392, 1954.
- BOLKAN, H.A., OGAWA, J.M., RICE, R.E., BOSTOCK, R.M. & CRANE, J.C. Leaf-footed bug (Hemiptera: Coreidae) and epicarp lesion on pistachio fruits. Journal of Economic Entomology **77**: 1163-1165, 1984.
- BONJOUR, E.L. & FARGO, W.S. Host effects on the survival and development of *Anasa tristis* (Heteroptera: Coreidae). Environmental Entomology **18**: 1083-1085, 1989.
- BONJOUR, E.L., FARGO, W.S., WEBSTER, J.A., RICHARDSON, P.E. & BRUSEWITZ, G.H. Probing behavior comparisons of squash bugs (Heteroptera: Coreidae) on cucurbit hosts. Environmental Entomology **20**: 143-149, 1991.

- BOOKSTEIN, F.L. "Size and shape": a comment on semantics. Systematic Zoology **38**: 173-180, 1989.
- BOOKSTEIN, F.L. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. Medical Image Analysis **1**: 225-243, 1997.
- BOWERS, M.D. Recycling plant natural products for insect defense. In Evans, D.L & Schmidt, J.O. (eds.): Insect Defenses. Albany, State University of New York Press, 1990. 353-386.
- BOWLING, C.C. The stylet sheath as an indicator of feeding activity by the southern green stink bug on soybeans. Journal of Economic Entomology **73**: 1-3, 1980.
- BROWN, K.S.Jr. & MIELKE, O.H.H. The heliconians of Brazil (Lepidoptera: Nymphalidae). Part II. Introduction and general comments, with a supplementary revision of the tribe. Zoologica **57**: 1-40, 1972.
- BROWNE, L.B. Ontogenetic changes in feeding behavior. In Chapman, R.F. & de Boer, G. (eds.): Regulatory mechanisms in insect feeding. New York, Chapman & Hall, 1995. 307-342.
- BUNDY, C.S. & McPHERSON, R.M. Morphological examination of stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) eggs on cotton and soybeans, with a key to genera. Annals of the Entomological Society of America **93**: 616-624, 2000.
- CAETANO, A.C., BOIÇA Jr., A.L. & RUGGIERO, C. Avaliação da ocorrência sazonal de percevejos em cinco espécies de maracujazeiro, utilizando dois métodos de amostragem. Bragantia **59**: 45-51, 2000.
- CALATAYUD, P.A., RAHBÉ, Y., DELOBEL, B., KHUONG-HUU, F., TERTULIANO, M. & Le RU, B. Influence of secondary compounds in the phloem sap of cassava on expression of antibiosis towards the mealybug *Phenacoccus manihoti*. Entomologia Experimentalis et Applicata **72**: 47-57, 1994.
- CALDAS, B.H.C., REDAELLI, L.R. & DIEFENBACH, L.M.G. Descrição dos estágios imaturos de *Corecoris dentiventris* Berg (Hemiptera: Coreidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil **27**: 405-412, 1998.
- CAMPBELL, B.C. & SHEA, P.J. A simple staining technique for assessing feeding damage by *Leptoglossus occidentalis* Heidemann (Hemiptera: Coreidae) on cones. Canadian Entomologist **122**: 963-968, 1990.
- CARROLL, S.P. & BOYD, C. Host race radiation in the soapberry bug: natural history with the history. Evolution **46**: 1052-1069, 1992.
- CHAPMAN, R.F. The insects: structure and function. 4<sup>a</sup> ed., Cambridge, Cambridge University Press, 1998. 770p.

- CHASSAGNE, D. & CROUZET, J. A cyanogenic glycoside from *Passiflora edulis* fruits. Phytochemistry **49**: 757-759, 1998.
- CHENG, G. & BREEN, P.J. Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. Journal of the American Society of Horticultural Science **116**: 865-869, 1991.
- CHEUNG, W.W.K. & MARSHALL, A.T. Water and ion regulation in cicadas in relation to xylem feeding. Journal of Insect Physiology **19**: 1801-1816, 1973.
- COBBEN, R.H. Evolutionary trends in Heteroptera. Part I: Eggs, architecture of the shell, gross embryology and eclosion. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1968. 475p.
- COBBEN, R.H. Evolutionary trends in Heteroptera. Part II: Mouthpart-structures and feeding strategies. Wageningen, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1978. 407p.
- COHEN, A.C. & WHEELER Jr., A.G. Role of saliva in the highly destructive fourlined plant bug (Hemiptera; Miridae: Mirinae). Annals of the Entomological Society of America **91**: 94-100, 1998.
- CRAWLEY, M.J. Herbivory: the dynamics of animal – plant interactions. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1983. 437p.
- CRAWLEY, M.J. Plant ecology. 2<sup>a</sup> ed. Oxford, Blackwell Science, 1997. 717p.
- CREWS, L.J., McCULLY, M.E., CANNY, M.J., HUANG, C.X. & LING, L.E.C. Xylem feeding by spittlebug nymphs: some observations by optical and cryo-scanning electron microscopy. American Journal of Botany **85**: 449-460, 1998.
- DALY, H.V. Insect morphometrics. Annual Review of Entomology **30**: 415-438, 1985.
- DINGLE, H. Factors influencing spatial and temporal variation in abundance of the large milkweed bug (Hemiptera: Lygaeidae). Annals of the Entomological Society of America **84**: 47-51, 1991.
- DREYER, D.L. & JONES, K.C. Feeding deterrence of flavonoids and related phenolics towards *Schizaphis graminum* and *Myzus persicae*: aphid feeding deterrents in wheat. Phytochemistry **20**: 2489-2493, 1981.
- DYAR, H.G. The number of molts of lepidopterous larvae. Psyche **5**: 175-176, 1890.
- EBERHARD, W.G. Sexual behavior of *Acanthocephala declivis guatemala* (Hemiptera: Coreidae) and the allometric scaling of their modified hind legs. Annals of the Entomological Society of America **91**: 863-871, 1998.

- FAIRBAIN, D.J. The origins of allometry: size and shape polymorphism in the common waterstrider, *Gerris remigis* Say (Heteroptera, Gerridae). Biological Journal of the Linnean Society 45: 167-186, 1992.
- FARGO, W.S. & BONJOUR, E.L. Developmental rate of the squash bug, *Anasa tristis* (Heteroptera: Coreidae), at constant temperatures. Environmental Entomology 17: 926-929, 1988.
- FERNANDES, J.A.M. & GRAZIA, J. Estudo dos estágios imaturos de *Leptoglossus zonatus* (Dallas, 1852) (Heteroptera - Coreidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 21: 179-188, 1992.
- GAUER, E.A. Caracterização de duas formas de *Passiflora suberosa* Linnaeus (Passifloraceae) e seleção por *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae). Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 98p. (Dissertação de Mestrado).
- GONZÁLEZ, H.E.S. Biologia de *Phthia picta* (Drury) (Hemiptera, Coreidae). Fitotecnia Latino Americana 9: 3-9, 1973.
- GOULD, S.J. Allometry and size in ontogeny and phylogeny. Biological Reviews 41: 587-640, 1966.
- HAMILTON, J.G., ZANGERL, A.R., DeLUCIA, E.H., BEREMBAUM, M.R. The carbon-nutrient balance hypothesis: its rise and fall. Ecology Letters 3: 1-10, 2000.
- HELIÖVAARA, K. 2000. Flat bugs (Aradidae). In Schaefer, C.W & Panizzi, A.R. (eds.): Heteroptera of economic importance. Boca Raton, CRC Press, 2000. 513-517.
- HINTON, H.E. Biology of insect eggs. Vols. I, II e III. Oxford, Pergamon Press, 1981. 1125p.
- HORI, K. Possible causes of disease symptoms resulting from the feeding of phythophagous Heteroptera. In Schaefer, C.W. & Panizzi, A.R. (eds.): Heteroptera of economic importance. Boca Raton, CRC Press, 2000. 11-35.
- HUXLEY, J.S. Problems of relative growth. Baltimore, Johns Hopkins University Press, 1932. 276p.
- JÖRDENS-RÖTTGER, D. The role of phenolic substances for host-selection behaviour of the black bean aphid, *Aphis fabae*. Entomologia Experimentalis et Applicata 26: 49-54, 1979.
- JOSHI, A. & THOMPSON, J.N. Trade-offs and the evolution of host specialization. Evolutionary Ecology 9: 82-92, 1995.

- KINGSOLVER, J.G. & DANIEL, T.L. Mechanics of food handling by fluid-feeding insects. In Chapman, R.F. & de Boer, G. (eds.): Regulatory mechanisms in insect feeding. New York, Chapman & Hall, 1995. 32-73.
- KLINGENBERG, C.P. Multivariate allometry. In Marcus, L.F.; Corti, M., Loy, A.; Naylor, G.J.P. & Slice, D.E. (eds.): Advances in morphometrics. New York, Plenum Press, 1996. 23-49.
- KLINGENBERG, C.P. & ZIMMERMANN, M. Dyar's rule and multivariate allometric growth in nine species of water striders (Heteroptera: Gerridae). Journal of Zoology London **227**: 453-464, 1992a.
- KLINGENBERG, C.P. & ZIMMERMANN, M. Static, ontogenetic, and evolutionary allometry: a multivariate comparison in nine species of water striders. American Naturalist **140**: 601-620, 1992b.
- KOSLOWSKI, T.T. & GUNN, C.R. Importance and characteristics of seeds. In Koslowski, T.T. (ed.): Seed biology. Vol. I. New York, Academic Press, 1972. 1-20.
- LETHIERRY, L. & SEVERIN, G. Catalogue général des hémiptères. Tome II: Hétéroptères. Bruxelles, Musée royal d'histoire naturelle de Belgique, 1894. 78p.
- LIMA, A.C. Insetos do Brasil: Hemípteros. Tomo II. Rio de Janeiro, Escola Nacional de Agronomia, 1940. 351p.
- LYE, B.H. & STORY, R.N. Feeding preference of the southern green stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) on tomato fruit. Journal of Economic Entomology **81**: 522-526, 1988.
- MACINELLI, A.L. Interaction between light quality and light quantity in photoregulation of anthocyanin production. Plant Physiology **92**: 1191-1195, 1990.
- MALAGUIDO, A.B. & PANIZZI, A.R. Nymph and adult biology of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) and its abundance related to planting date and phenological stages of sunflower. Annals of the Entomological Society of America **92**: 424-429, 1999.
- MARCUS, L.F.; CORTI, M., LOY, A.; NAYLOR, G.J.P. & SLICE, D.E. Advances in morphometrics. New York, Plenum Press, 1996. 587p.
- MARICONI, F.A.M. O percevejo do maracujá *Diactor bilineatus* (Fabr., 1803). Q Biológico **18**: 116-120, 1952a.
- MARICONI, F.A.M. Contribuição para o conhecimento do *Diactor bilineatus* (Fabricius, 1803) (Hemiptera-Coreidae), praga do maracujazeiro (*Passiflora* spp.) . Arquivos do Instituto Biológico **21**: 21-42, 1952b.

- MASCHWITZ, U., FIALA, B. & DOLLING, W.R. New trophobiotic symbioses of ants with south east asian bugs. Journal of Natural History 21: 1097-1107, 1987.
- MATSUDA, R. Studies of relative growth in Gerridae (Hemiptera-Heteroptera). I-III. Annals of the Entomological Society of America 54: 578-598, 1961.
- MATTSON Jr., W.J. Herbivory in relation to plant nitrogen content. Annual Review of Ecology and Systematics 11: 119-161, 1980.
- MEDEIROS, L. & MOREIRA, G.R.P. Moving on hairy surfaces: modifications of *Gratiana spadicea* larval legs to attach on its host plant *Solanum sisymbriifolium*. Entomologia Experimentalis et Applicata 102: 295-305, 2002.
- MILBURN, J.A. Sap ascent in vascular plants: challengers to the cohesion theory ignore the significance of immature xylem and the recycling of munched water. Annals of Botany 78: 399-407, 1996.
- MILES, P.W. The saliva of Hemiptera. Advances in Insect Physiology 9: 183-255, 1972.
- MILES, P.W. & TAYLOR, G.S. "Osmotic pump" feeding by coreids. Entomologia Experimentalis et Applicata 73: 163-173, 1994.
- MONTEIRO, L.R. & REIS, S.F. Princípios de morfometria geométrica. São Paulo, Holos Editora, 1999. 188p.
- MORAN, N.A. Morphological adaptation to host plants in *Uroleucon* (Homoptera: Aphididae). Evolution 40: 1044-1050, 1986.
- MUGRABI-OLIVEIRA, E. & MOREIRA, G.R.P. Conspecific mimics and low host plant availability reduce egg laying by *Heliconius erato phyllis* (Fabricius) (Lepidoptera: Nymphalidae) Revista Brasileira de Zoologia 13: 929-937, 1996.
- NEAL, J.J. Xylem transport interruption by *Anasa tristis* feeding causes *Cucurbita pepo* to wilt. Entomologia Experimentalis et Applicata 69: 195-200, 1993.
- NOVOTNY, V. & WILSON, M.R. Why are there no small species among xylem-sucking insects? Evolutionary Ecology 11: 419-437, 1997.
- OSUNA, E. Monografía de la tribu Anisoscelidini (Hemiptera, Heteroptera Coreidae) I. Revisión genérica. Boletín de Entomología Venezolana 3: 77-148, 1984.
- PANIZZI, A.R. Desempenho de ninfas e adultos de *Leptoglossus zonatus* (Dallas, 1852) (Hemiptera: Coreidae) em diferentes alimentos. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 18: 375-389, 1989.

- PANIZZI, A.R. Feeding frequency, duration and preference of the southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) as affected by stage of development, age, and physiological condition. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 24: 437-444, 1995.
- PANIZZI, A.R. Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. Annual Review of Entomology 42: 99-122, 1997.
- PANIZZI, A.R. Suboptimal nutrition and feeding behavior of hemipterans on less preferred plant food sources. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 29: 1-12, 2000.
- PANIZZI, A.R. & MACHADO-NETO, E. Development of nymphs and feeding habits of nymphal and adult *Edessa meditabunda* (Heteroptera: Pentatomidae) on soybean and sunflower. Annals of the Entomological Society of America 85: 477-481, 1992.
- PANIZZI, A.R. & PARRA, J.R.P. A ecologia nutricional e o manejo de pragas. In Panizzi, A.R. & PARRA, J.R.P. (eds.): Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas. São Paulo, Manole, 1991. 313-336.
- PANIZZI, A.R. & SARAIVA, S.I. Performance of nymphal and adult southern green stink bug on an overwintering host plant and impact of nymph to adult food-switch. Entomologia Experimentalis et Applicata 68: 109-115, 1993.
- PANIZZI, A.R., VIVAN, L.M., CORRÊA-FERREIRA, B.S. & FOERSTER, L.A. Performance of southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs and adults on a novel food plant (japanese privet) and other hosts. Annals of the Entomological Society of America 89: 822-827, 1996.
- PARROTT, W.L., JENKINS, J.N. & McCARTY, J.C. Feeding behavior of first-stage tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) on three cotton cultivars. Annals of the Entomological Society of America 76: 167-170, 1983.
- PEETERS, P.J. Correlations between leaf constituent levels and the densities of herbivorous insect guilds in an australian forest. Austral Ecology 27: 658-671, 2002.
- POLLARD, D.G. Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera, Aphidoidea): a review. Bulletin of Entomological Research 62: 631-714, 1973
- PRESS, M.C. & WHITTAKER, J.B. Exploitation of the xylem stream by parasitic organisms. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B 341: 101-111, 1993.
- PRESTWICH, G.D. Composition of the scents of eight east african hemipterans. Nymph-adult chemical polymorphism in coreoids. Annals of the Entomological Society of America 69: 812-814, 1976.

- QUERINO, R.B., MORAES, R.C.B. & ZUCCHI, R.A. Relative warp analysis to study morphological variations in the genital capsule of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Neotropical Entomology **31**: 217-224, 2002.
- RALPH, C.P. Effect of host plant density of populations of a specialized, seed sucking bug, *Oncopeltus fasciatus*. Ecology **58**: 799-809, 1977.
- RAVEN, J.A. Phytophages of xylem and phloem: a comparison of animal and plant sap-feeders. Advances in Ecological Research **13**: 135-234, 1983.
- RIBEIRO, J.M.C. Insect saliva: function, biochemistry, and physiology. In Chapman, R.F. & de Boer, G. (eds.): Regulatory mechanisms in insect feeding. New York, Chapman & Hall, 1995. 74-97.
- RISEBROW, A. & DIXON, A.F.G. Nutritional ecology of phloem-feeding insects. In Slansky Jr. F. & Rodriguez, J.G. (eds.): Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. New York, John Wiley & Sons, 1987. 421-448.
- RODRIGUES, D. Fatores envolvidos na variação do tamanho corporal e conseqüências na história de vida de Heliconius erato phyllis. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999. 82p. (Dissertação de Mestrado).
- ROHLF, F.J. Morphometrics. Annual Review of Ecology and Systematics **21**: 299-316, 1990.
- ROOT, R.B. & CHAPLIN, S.J. The life-styles of tropical milkweed bugs, *Oncopeltus* (Hemiptera: Lygaeidae) utilizing the same hosts. Ecology **57**: 132-140, 1976.
- SACCO, J.C. Passifloráceas. In Reitz, R. (ed.): Flora ilustrada catarinense. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues, 1980. 130p.
- SADOF, C.S. & NEAL, J.J. Use of host plants resources by the euonymus scale, *Unaspis euonymi* (Homoptera: Diaspididae). Annals of the Entomological Society of America **86**: 614-620, 1993.
- SANTOS, C.H. & PANIZZI, A.R. Nymphal and adult performance of *Neomegalotomus parvus* (Hemiptera: Alydidae) on wild and cultivated legumes. Annals of the Entomological Society of America **91**: 445-451, 1998.
- SANTOS, R.S.S., REDAELLI, L.R. & DIEFENBACH, L.M.G. Ocorrência de parasitismo em ovos de *Spartocera dentiventris* (Berg) (Hemiptera: Coreidae) em cultura de fumo. Neotropical Entomology **30**: 731-733, 2001.
- SCHAEFER, C.W. Heteropteran trichobothria (Hemiptera: Heteroptera). International Journal of Insect Morphology & Embryology **4**: 193-264, 1975.

- SCHAEFER, C.W. & MITCHELL, P.L. Food plants of the Coreidoidea (Hemiptera: Heteroptera). Annals of the Entomological Society of America **76**: 591-615, 1983.
- SCHAEFER, C.W. & PANIZZI, A.R. Economic importance of heteroptera: a general view. In Schaefer, C.W. & Panizzi, A.R. (eds.): Heteroptera of economic importance. Boca Raton, CRC Press, 2000. 3-8.
- SCHUH, R.T. & SLATER, J.A. True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera): classification and natural history. Ithaca, Cornell University Press, 1995. 336p.
- SCHWERTNER, C.F., ALBUQUERQUE, G.S. & GRAZIA, J. Descrição dos estágios imaturos de *Acrosternum (Chinavia) ubicum* Rolston (Heteroptera: Pentatomidae) e efeito do alimento no tamanho e coloração das ninfas. Neotropical Entomology **31**: 571-579, 2002.
- SCRIBER, J.M. & SLANSKY JR. Jr., F. The nutritional ecology of immature insects. Annual Review of Entomology **26**: 183-211, 1981.
- SEIGLER, D.S. Cyanide and cyanogenic glycosides. In Rosenthal, G.A. & Berenbaum, M.R. (eds.): Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites. 2<sup>a</sup> ed. San Diego, Academic Press, 1991. 35-77.
- SHEELEY, R.D. & YONKE, T.R. Immature stages and biology of *Atheas austroriparius* and *Leptoypha costata* (Hemiptera: Tingidae). Annals of the Entomological Society of America **70**: 603-614, 1977.
- SILVA, A.G. d'A., GONÇALVES, C.R., GALVÃO, D.M., GONÇALVES, A.G.L., GOMES, J., SILVA, M.N. & de SIMONI, L. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores. Tomos I e II. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1967. 906p.
- SILVA, R.A., FLORES, P.S. & CARVALHO, G.S. Descrição dos estágios imaturos de *Phthia picta* (Drury) (Hemiptera: Coreidae). Neotropical Entomology **30**: 253-258, 2001.
- SIMMONS, A.L. & YEARGAN, K.V. Feeding frequency and feeding duration of the green stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) on soybean. Journal of Economic Entomology **81**: 812-815, 1988.
- SIMPSON, S.J., RAUBENHEIMER, D., & CHAMBERS, P.G. The mechanism of nutritional homeostasis. In Chapman, R.F. & de Boer, G. (eds.): Regulatory mechanisms in insect feeding. New York, Chapman & Hall, 1995. 251-278.
- SINGER, M.C. Reducing ambiguity in describing plant-insect interactions: "preference", "acceptability" and "electivity". Ecology Letters **3**: 159-162, 2000.

- SINGER, M.S. & BERNAYS, E.A. Understanding omnivory through food mixing behavior. em preparação.
- SINGER, M.S., BERNAYS, E.A. & CARRIÈRE, Y. The interplay between nutrient balancing and toxin dilution in foraging by a generalist insect herbivore. Animal Behaviour **64**: 629-643, 2002.
- SLANSKY Jr., F. 1980. Eating xylem not enough for longevity. Bioscience **30**: 220, 1980.
- SLANSKY Jr., F. & PANIZZI, A.R. Nutritional ecology of seed-sucking insects. In Slansky Jr. F. & Rodriguez, J.G. (eds.): Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. New York, John Wiley & Sons, 1987. 283-320.
- SNODGRASS, R.E. Principles of insect morphology. Ithaca, Cornell University Press, 1935. 667p.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. Biometry. 3<sup>a</sup> ed. New York, Freeman, 1995. 887p.
- SOLOMON, J.C. & FROESCHNER, R.C. Notes on food resources and behavior of the family Coreidae (Hemiptera) in a semi-deciduous tropical forest. Proceedings of the Entomological Society of Washington **83**: 428-431, 1981.
- SOUTHWOOD, T.R.E. A key to determine the instar of an heteropterous larva. The Entomologist **89**: 220-222, 1956a.
- SOUTHWOOD, T.R.E. The structure of the eggs of the terrestrial heteroptera and its relationship to the classification of the group. Transactions of the Royal Entomological Society of London **108**: 163-221, 1956b.
- STEARNS, S.C. The evolution of life histories. New York, Oxford University Press, 1992. 249p.
- STERN, D.L. & EMLÉN, D.J. The developmental basis for allometry in insects. Development **126**: 1091-1101, 1999.
- STRONG, D.R., LAWTON, J.H. & SOUTHWOOD, T.R.E. Insects on plants: community patterns and mechanisms. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1984. 313p.
- SWIDERSKI, D.L. Separating size from allometry: analysis of lower jaw morphology in the fox squirrel, *Sciurus niger*. em preparação.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. Plant physiology. 2<sup>a</sup> ed. Sunderland, Sinauer Associates, 1998. 792p.

- TAYLOR, G.S. & MILES, P.W. Composition and variability of the saliva of coreids in relation to phytotoxicoses and other aspects of the salivary physiology of phytophagous Heteroptera. Entomologia Experimentalis et Applicata **73**: 265-277, 1994.
- THOMPSON, D.W. On growth and form. New York, Dover Publications, 1917. 1116p.
- THOMPSON, J.N. Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. Entomologia Experimentalis et Applicata **47**: 3-14, 1988.
- VALENTIN, J.L. Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos. Rio de Janeiro, Interciência, 2000. 117p.
- VENTURA, M.U.; MONTALVÁN, R. & PANIZZI, A.R. Feeding preferences and related types of behaviour of *Neomegalotomus parvus*. Entomologia Experimentalis et Applicata **97**: 309-315, 2000.
- WALKER, G.P. Stylet penetration by the bayberry whitefly, as affected by leaf age in lemon, *Citrus limon*. Entomologia Experimentalis et Applicata **39**: 115-121, 1985.
- WATERMANN, P. & MOLE, S. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. London, Blackwell Scientific Publications, 1994. 238p.
- WEBER, H. Biologie der hemipteren. Berlin, Julius Springer, 1930. 543p.
- WHEELER Jr., A.G. & MILLER, G.L. *Leptoglossus fulvicornis* (Heteroptera: Coreidae), a specialist on magnolia fruits: seasonal history, habitats, and descriptions of immatures stages. Annals of the Entomological Society of America **83**: 753-765, 1990.
- WHITE, J. & STREHL, C.E. Xylem feeding by periodical cicada nymphs on tree roots. Ecological Entomology **3**: 323-327, 1978.
- WHITMAN, D.W., BLUM, W.S. & ALSOP, D.W. Allomonones: chemicals for defense. In Evans, D.L. & Schmidt, J.O. (eds.). Insect defenses. Albany, State University of New York Press, 1990. 289-351.
- WIEGERT, R.G. The ingestion of xylem sap by meadow spittlebugs, *Philaenus spumarius*. American Midland Naturalist **71**: 422-428, 1964.
- WILBUR, H.M. Complex life cycles. Annual Review of Ecology and Systematics **11**: 67-93, 1980.
- YONKE, T.R. Order Hemiptera. In Stehr, F.W. (ed.): Immature insects. Vol. II. Dubuque, Kendall / Hunt Publishing Company, 1991. 22-65.

- YONKE, T.R. & MEDLER, J.T. Description of immature stages of Coreidae. 1. *Euthochtha galeator*. Annals of the Entomological Society of America 62: 469-473, 1969a.
- YONKE, T.R. & MEDLER, J.T. Description of immature stages of Coreidae. 2. *Acanthocephala terminalis*. Annals of the Entomological Society of America 62: 474-476, 1969b.
- YONKE, T.R. & MEDLER, J.T. Description of immature stages of Coreidae. 3. *Archimerus alternatus*. Annals of the Entomological Society of America 62: 477-480, 1969c.
- ZAR, J. H. Biostatistical analysis. 4<sup>a</sup> ed. Upper Saddle River, Prentice Hall, 1999. 663p.
- ZELDITCH, M.L. The relationship between ontogeny and phylogeny. em preparação.
- ZELDITCH, M.L., SHEETS, H.D. & FINK, W.L. The ontogenetic dynamics of shape disparity. Paleobiology 29: 139-156, 2003.