

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós-Graduação em Ciências Biológicas
Mestrado em Comportamento e Biologia Animal

Ricardo de Aquino Borges

**PADRÕES DE COLORAÇÃO DAS TÉGMINAS DE *Mahanarva spectabilis*
(HEMIPTERA: CERCOPIDAE): ASPECTOS BIOLÓGICOS E
MOLECULARES**

Juiz de Fora
2015

Ricardo de Aquino Borges

**PADRÕES DE COLORAÇÃO DAS TÉGMINAS DE *Mahanarva spectabilis*
(HEMIPTERA: CERCOPIDAE): ASPECTOS BIOLÓGICOS E
MOLECULARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre

Orientador: Dr. Alexander Machado Auad

Juiz de Fora - MG

2015

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Aquino Borges, Ricardo.
PADRÕES DE COLORAÇÃO DAS TÉGMINAS DE *Mahanarva spectabilis* (HEMIPTERA: CERCOPIDAE): : ASPECTOS BIOLÓGICOS E MOLECULARES / Ricardo Aquino Borges. -- 2015.
52 f. : il.

Orientador: Alexander Machado Auad
Coorientadora: Marcy das Graças Fonseca
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, 2015.

1. cigarrinha-das-pastagens. 2. entomologia agrícola. 3. variabilidade fenotípica. 4. variabilidade genotípica. I. Machado Auad, Alexander, orient. II. das Graças Fonseca, Marcy, coorient. III. Título.

Ricardo de Aquino Borges

**PADRÕES DE COLORAÇÃO DAS TÉGMINAS DE
Mahanarva spectabilis (HEMIPTERA: CERCOPIDAE): ASPECTOS
BIOLÓGICOS E MOLECULARES**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Biológicas, área de
concentração Comportamento e
Biologia Animal, da Universidade
Federal de Juiz de Fora, como
requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre.

Aprovada em 27 de fevereiro de 2015

BANCA EXAMINADORA



Dr. Alexander Machado Auad (Orientador)
Embrapa Gado de Leite/ Universidade Federal de Juiz de Fora



Dr^a. Marcy das Graças Fonseca
Embrapa Gado de Leite



Prof^a. Dra. Melissa Vieira Leite
Centro Superior de Ensino e Pesquisa de Machado

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Alexander Machado Auad por todo o apoio e conselhos dados ao longo desse período, além da amizade verdadeira cujas raízes se estendem desde o meu período de estágio. Nunca esquecerei o incentivo, paciência e preocupação sincera nesses dois anos.

Meus sinceros agradecimentos ao Programa de Pós-Graduação em Biologia e Comportamento Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, cujos professores e demais funcionários me permitiram aumentar meu conhecimento e sempre me orientaram com profunda boa vontade nos momentos em que precisei.

Meu muito obrigado a Embrapa Gado de Leite, que me permitiu desenvolver meu projeto e a FAPEMIG, cuja ajuda financeira me permitiu desenvolver e concluir este projeto.

Agradeço imensamente à pesquisadora Ana Luisa, que me deu acesso ao Laboratório de Genética Molecular da Embrapa, e a Fernando Oliveira, sem a ajuda do qual não teria sido possível realizar a parte molecular.

Sou muito grato a todos os meus colegas de laboratório (Tiago Teixeira (por toda a ajuda técnica tanto no laboratório quanto em campo, como pela amizade), Heloíse Parchen (pelas mil vezes em que me socorreu nas minhas dúvidas diversas), Marcy Fonseca, Thiago Souza, Antônio Marcos, Daniela Silva, Nayara Braga), e a outros pesquisadores da Embrapa (Wadson Rocha, Fausto de Sousa e Flávio Gandolf), que com bom humor e valiosa ajuda contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal.

Agradeço também aos pesquisadores que enviaram espécimes usados nos testes moleculares. Rafael Major Pitta, da Embrapa Agrossilvipastoril e Carlos Maurício Soares de Andrade, pesquisador da Embrapa Acre.

Não posso citar aqui todas as pessoas que participaram dessa fase importante da minha vida, mas nunca esquecerei o apoio e os momentos bons que me fizeram viver.

Por fim agradeço imensamente a meus pais, que sempre apoiaram incondicionalmente todos os meus projetos.

RESUMO

A variabilidade quanto ao padrão de coloração da asa é uma característica de *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909), importante praga em forrageiras. O objetivo deste trabalho foi avaliar se há diferenças de fertilidade e predominância dos padrões alares obtidos de cruzamento de *M. spectabilis*, bem como diferenças moleculares entre os padrões alares. Espécimes de *M. spectabilis* foram separados conforme o padrão alar ((AN) amarelo-palha com manchas negras, (VN) avermelhado com manchas negras, (V) totalmente avermelhada, (N) totalmente negra) e separados para reprodução, tendo a prole avaliada quanto ao padrão alar. A fertilidade, medida em número de ovos, e os padrões obtidos na geração F1 foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de média Scott-Knott ($P < 0,05$). No teste de variabilidade genética, adultos das três espécies tiveram o DNA extraído com brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) e testados com marcadores moleculares. A presença ou ausência de bandas gerou uma tabela binária utilizada nos diversos tipos de análises (diversidade (índice Jaccard), componentes principais (PCA), variância molecular (AMOVA) e média aritmética de grupos de pares não ponderados (UPGMA)). Constatou-se que o número de ovos diminuiu significativamente quando o cruzamento envolveu um macho do padrão AN e que o fenótipo dos parentais foi determinante na fertilidade e no padrão da descendência. Os marcadores moleculares utilizados geraram marcas exclusivas que separou *M. spectabilis* das espécies utilizadas como padrões externos (*Mahanarva fimbriolata*, *Mahanarva tristis*), mas não com relação aos diferentes padrões alares de *M. spectabilis*. Diferenças entre as indivíduos separados geograficamente foram perceptíveis.

Palavras-Chave: cigarrinha-das-pastagens. Variabilidade fenotípica. Variabilidade genética. Entomologia agrícola.

ABSTRAT

The variability in the pattern of wing coloring is a characteristic of *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909), an important pest in forages. The objective of this study was to evaluate if there is fertility differences and dominance of alar patterns obtained from crossing *M. spectabilis* and molecular differences between the wing standards. Specimens *M. spectabilis* were separated according to the standard wing ((AN) straw yellow to black spots (RCV) to reddish black spots, (V) fully red, (C) totally black) and separated for reproduction having the offspring evaluated for standard wing. The fertility, measured in number of eggs, and the patterns obtained in the F1 generation were subjected to analysis of variance (ANOVA) test followed average Scott-Knott ($P < 0.05$). In the genetic variability test, adults of all three species had DNA extracted with cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) and tested with molecular markers. The presence or absence of bands generated binary table used in various types of analyzes (diversity (Jaccard Index), principal components (PCA), molecular variance (AMOVA) and non-weighted arithmetic average of peer groups (UPGMA)). It was found that the number of eggs decreased significantly when the crossing involved a standard male AN and that the phenotype of the parent was instrumental in fertility and the seed pattern. The molecular primers produced exclusive brands that separated *M. spectabilis* species used as external standards (*Mahanarva fimbriolata*, *Mahanarva tristis*), but not with respect to different standards of wings of *M. spectabilis*. Differences between geographically separated individuals were noticeable.

Keywords: leafhopper-of-pastures. Phenotypic variability. Genetic variability. Agricultural entomology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Diferentes padrões de coloração em tégminas de *Mahanarva spectabilis*. AN - amarelo com mancha negra; VN - avermelhado com mancha negra; V - totalmente avermelhado; N- totalmente negra.....40

Figura 2 Descendência obtida em todos os cruzamentos de *M. spectabilis*, com a geração parental representada pelas duas letras abaixo de cada conjunto de colunas, onde: AN=Amarelo palha com manchas negra; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N= Totalmente negras. Lateral direita: A: machos e fêmeas de mesmo padrão alar; B: indivíduos de padrão alar AN com demais padrões; C: indivíduos VN com demais padrões e D: indivíduos N demais padrões alares. Médias seguidas de mesma letra entre os cruzamento não diferem significativamente pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$).....41

Figura 3 Porcentagem de cada padrão alar em todos os tratamentos, onde AN=Amarelo palha com manchas negras; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N= Totalmente negras. Lateral direita: A: AN; B: V; C: VN e D: N. Médias seguidas de mesma letra entre os cruzamento não diferem significativamente pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$). 42

Figura 4 Gráfico em três eixos ilustrando a distribuição espacial das amostras, cada ponto representando um espécime avaliado 57

Figura 5 Distâncias genéticas entre os diferentes espécies de cigarrinhas e diferentes padrões (de diferentes localidades) de *M. spectabilis*, onde AN=Amarelo palha com manchas negras; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N= Totalmente negras 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Tipos de cruzamento em cada tratamento, número de casais (repetições) formados, total de ovos no estágio S4 e total de adultos obtidos (F1) para descrição dos padrões alares advindos com os diferentes cruzamentos de *Mahanarva spectabilis*, onde AN=Amarelo palha com manchas negras; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N= Totalmente negras..... .43

Tabela 2 Fertilidade em *M. spectabilis* (número de ovos/fêmeas) em função do padrão alar do macho ou da fêmea e teste de contraste fixando cada padrão alar e variando o sexo, onde AN=Amarelo palha com manchas negras; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N=Totalmente negras..... .44

Tabela 3 Marcas exclusivas encontrados nas três espécies de cigarrinhas estudadas (*M. spectabilis*, *M. fimbriolata* e *M. tristis*)... .59

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	12
1.2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
1.3 OBJETIVO GERAL	19
1.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
2 CRUZAMENTO DE <i>Mahanarva spectabilis</i> (DISTANT 1909) DE DIFERENTES PADRÕES ALARES	24
2.1 RESUMO	24
Palavras-chave.....	24
2.2 ABSTRAT	25
2.3 INTRODUÇÃO.....	26
2.4 MATERIAL E MÉTODOS	27
2.4.1 Obtenção de plantas e insetos	27
2.4.2 Bioensaios.....	27
2.4.3 Análise Estatística	29
2.5 RESULTADOS	29
2.6 DISCUSSÃO.....	31
2.7 CONCLUSÃO	35
2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
3 VARIAÇÃO INTERESPECÍFICA ANALISADA COM MARCADORES MOLECULARES EM <i>Mahanarva spectabilis</i> (Distant, 1909).....	45
3.1 RESUMO	45
Palavras-Chave.....	45
3.2 ABSTRAT:.....	46
3.2 INTRODUÇÃO.....	47
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	48
3.4 RESULTADOS	49
3.5 DISCUSSÃO	50
3.6 CONCLUSÃO	53
3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

1. INTRODUÇÃO GERAL

A criação de gado leiteiro e de corte contribui com parcela substancial da riqueza econômica nacional (JANK et al., 2011), um setor que está diretamente à qualidade da forrageira oferecida ao gado (SOUSA SOBRINHO et al., 2011), sendo as gramíneas do gênero *Brachiaria* e *Pennisetum* largamente usadas em todo território brasileiro (Auad et al., 2010). Esses gêneros de gramíneas foram introduzidos no Brasil a partir da década 1960 (WENZ et al., 2003; RAO et al., 2006; SOUSA SOBRINHO et al., 2010), e desde então tem sofrido com o ataque de vários insetos, sendo que aqueles conhecidos como cigarrinhas-das-pastagens estão entre os mais agressivos. O gênero *Mahanarva* tem causado severos danos, ameaçando a cadeia produtiva de carne e leite por ocasionarem o comprometimento da forrageira (GARCIA et al., 2006).

Há algumas décadas já era observado que várias espécies de cercopídeos apresentavam ampla variabilidade com relação à coloração das tégminas (SÁ, 1981). Auad et al., (2010) perceberam essa variabilidade em *M. spectabilis*, e descreveram quatro padrões alares: amarelo-palha com manchas negras longitudinais (AN), avermelhado com manchas negras longitudinais (VN), totalmente avermelhadas (V) e totalmente negras (N).

Borges et al., (2011) e Madallena et al., (2012); em estudos preliminares, fizeram cruzamentos entre esses diferentes padrões alares de *M. spectabilis*, porém o número de indivíduos foi insuficiente para um resultado mais consistente. A variabilidade quanto ao padrão de coloração da asa é uma importante característica em *M. spectabilis*, e segundo Kischlat (2005), a seleção natural age sobre o fenótipo, fazendo com que indivíduos menos adaptados se tornem vulneráveis e sejam eliminados, evidenciando assim a importância de se realizar mais estudos para compreender melhor essa variabilidade.

Vários pesquisadores atribuem causas genéticas a essa característica (HUTCHINSON, 1963; FARISH, 1973; HALKKA, LALLUKA, 1969 *apud* Sá, 1981), uma hipótese que, se confirmada, permitirá uma identificação livre de fatores ambientais (FERREIRA, GRATTAPAGLIA, 1995; FALEIRO, 2007). Estudar essas variedades pode ser importante não somente para a área de

taxonomia, mas também para análise de fatores bioecológicos, aspectos da distribuição geográfica e, levando-se em consideração de que se trata de insetos causadores de prejuízos, em avaliações de impacto econômico (MORAES et al., 2006). Muitos autores inclusive apontam divergências evolutivas em populações de insetos de interesse econômico causadas por mudanças antrópicas (COLLUZZI et al., 1979; LOMÔNACO; GERMANOS, 2001; GREEN, 1980; NOIREAU et al., 1999).

1.2 REFERENCIAL TEÓRICO

O Brasil é um país com características geográficas e climáticas propícias à criação de gado leiteiro e de corte, que contribuem com parcela substancial da riqueza nacional (JANK et al., 2011). No início do século XXI, o cenário mundial se tornou bastante favorável à exportação de carnes brasileiras devido a uma série de fatores: o combate à febre aftosa, o desenvolvimento de um bom sistema de controle e a crise no abastecimento mundial devido ao surgimento de doenças nos rebanhos europeus (POLANQUINI et al., 2006).

A produção de carne e leite está diretamente ligada à qualidade da forrageira fornecida como alimento ao gado, por sua vez escolhida de acordo com o parâmetro de melhor custo/benefício (SOUSA SOBRINHO et al., 2011).

Gramíneas africanas (capim-gordura, colonião, guiné, entre outros) chegaram ao Brasil ainda no século XIX, de modo involuntário, já que serviam de “cama” para os escravos nos navios negreiros. Em um primeiro momento chegaram a ser importantes no desenvolvimento da pecuária, pois elevaram a capacidade de suporte e no ganho por animal, porém tais gramíneas entravam em processo de declínio após algum tempo (COSTA et al., 2008).

O avanço da agricultura sobre áreas de pastagens nos últimos anos pressionou a pecuária para regiões de solo cada vez mais pobres, o que gerou perda da produção (JÚNIOR et al., 2007) e acarretou um processo ativo de busca por espécies que se desenvolvessem melhor (COSTA et al., 2008).

Desde a década de 1960 (WENZ et al., 2003; RAO et al., 2006; SOUSA SOBRINHO et al., 2010), forrageiras do gênero *Brachiaria* e

Pennisetum tem se mostrado boas opções, sendo largamente usadas em todo território brasileiro (AUAD et al., 2010).

O gênero *Brachiaria*, importado da Austrália (PIZARRO et al., 1996) e que se desenvolve bem em solos de baixa fertilidade (SOUZA et al., 2008), se expandiu em território brasileiro nas décadas de 70 e 80, principalmente nas regiões de clima mais quente. Na década de 90 já ocupava mais da metade de toda área de pastagens do país. Sua fácil adaptação às diferentes formas de solo e clima deu vantagens a esse gênero sobre outros (SOARES FILHO, 1994).

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), por sua vez, é uma das forrageiras mais utilizadas na alimentação do gado, com comprovada superioridade para formação de capineiras, sendo excelente para o pastejo rotativo (MARTINS et al., 1993). É uma gramínea originada da África tropical, mais especificamente do Zimbábwe, e foi introduzida no Brasil através de Cuba, na década de 1920, disseminando-se pelo território nacional (RODRIGUES et al., 2001).

Estes gêneros supracitados de forrageiras se tornaram populares na alimentação do gado brasileiro (MARTINS et al., 1993), mas sofrem os danos causados pela cigarrinha-das-pastagens (AUAD et al., 2007), já que o aumento anormal da incidência desse inseto está ligado à monocultura (AZEVEDO, 2008).

Desde a década de 1980, quando programas governamentais promoveram a intensificação da pecuária, iniciou-se um processo de melhoramento genético das forrageiras (COSTA et al., 2008), o que requer um grande entendimento da relação planta/hospedeiro (CARDONA et al., 2004), uma vez que a base para o desenvolvimento de um programa de manejo da praga está no conhecimento da biologia e dinâmica populacional (SUJII, 1994).

As cigarrinhas atacam os pastos no início do verão, quando as plantas deveriam estar se recuperando da seca no inverno (AUAD et al., 2007), reduzindo o crescimento, a produção de massa seca e qualidade de forragem, o que representa um problema significativo para o gado em toda América Tropical (VALÉRIO; NAKANO, 1988; SOUZA et al., 2008). Os prejuízos são significativos não apenas para o produtor, mas para a economia brasileira de modo geral (AUAD et al., 2010).

Na África, insetos da família Cercopidae também tem causado danos em milho, milheto, arroz, cana e sorgo, além das gramíneas (AJAYI; OBOITE, 1999). Na América do Sul, estão presentes mais de quatrocentas espécies dessa família (COSTESI; WEBB, 2004).

Cercopídeos são cigarrinhas saltadoras que variam de tamanho desde alguns milímetros até 4 centímetros, sugadoras de seivas de diversos tipos de plantas. Eles possuem uma ampla distribuição na região neotropical, com restrições influenciadas por cada bioma, o que gera regiões de endemismo (GOLDANI; CARVALHO, 2003).

O gênero *Mahanarva* foi descrito por Distant (1909), que elegeu como espécie-tipo *Mahanarva indicata*. A descrição é sucinta – atendo-se a coloração e poucas características morfológicas - e baseia-se em uma fêmea que está indicada apenas como pertencente ao Brasil. Atualmente o gênero abriga 29 espécies neotropicais, agrupadas em dois subgêneros, 15 delas encontradas no Brasil (PALADINI; CARVALHO, 2007). Posteriormente, Fennah (1968) dividiu o gênero em dois subgêneros que, segundo este autor, podem ser diferenciados de acordo com a morfologia das tégminas.

Uma descrição minuciosa dos caracteres morfológicos para identificação da espécie pode ser encontrada em Paladini & Carvalho (2007).

No Brasil, as cigarrinhas ocorrem no período de outubro a maio, em sincronismo com a estação das chuvas, apresentando três picos populacionais. Para sobreviver durante o período seco do ano, as espécies desenvolveram uma forma de resistência durante a fase de ovo, a diapausa. Os ovos diapáusicos se caracterizam por ter um período de incubação variável, podendo alcançar cerca de 300 dias até o próximo período de chuvas (PACHECO, 1981), sincronizando a ocorrência dos insetos no campo com o ciclo de crescimento das suas plantas hospedeiras (SUJII et al., 1995). O número de ovos diapáusicos colocados pelas fêmeas se torna progressivamente maior ao longo das gerações, principalmente a partir do segundo pico, atingindo valores próximos a 100% durante o terceiro pico, que ocorre de março a maio (SUJII, 1994; SOUZA et al., 2008).

Não se observou qualquer comportamento de mudança do local da postura à medida em que a densidade de ovos diapáusicos aumenta, mas uma correlação positiva foi encontrada quando se analisava a cobertura vegetal do

solo, já que estes insetos necessitam de umidade, principalmente na fase juvenil (SUJII, 1994).

O desenvolvimento do inseto é paurometabólico, passando pelas fases de ovo, ninfa e adulto. A reprodução é sexuada. O acasalamento costuma ocorrer cerca de 60 horas após a emergência; os ovos são colocados de dois a cinco dias após a cópula, são elípticos, de cor amarelo forte e medem cerca de 0,9 mm de comprimento por 0,3 de largura. A fêmea oviposita diretamente no solo e o período de incubação é de cerca de 30 dias, podendo variar muito de acordo com o clima (SOUZA et al., 2008).

Em alguns insetos, caracteres como a longevidade e o número de ovos por posturas estão relacionados ao tamanho da fêmea. Este fator, por sua vez, embora possa ter bases genéticas, está muito influenciado por fatores ambientais, como densidade populacional (BESERRA; FERNANDES; RIBEIRO, 2009).

O ciclo total para *Mahanarva* sp. sobre *B. decumbens* foi de 64.97 dias, sendo 17 dias para a fase de ovo, 44.18 dias para a fase ninfal (GASCA; RAMÍREZ, 1999) e de 10 a 15 dias para o indivíduo adulto (VALÉRIO, 2009).

Quanto à reprodução, observou-se que as fêmeas estavam aptas à cópula 38.6 horas após a emergência e que a cópula ocorria até três vezes durante a vida, com duração média de 3.19 horas cada (GASCA; RAMÍREZ, 1999).

As ninfas passam por cinco instares e são muito ativas, assemelhando-se aos adultos, exceto pelo fato de não possuírem asas nem órgãos reprodutivos (BATISTA et al., 2010; SOUZA et al., 2008). As ninfas de primeiro instar são pequenas e esbranquiçadas e já nascem com comportamento ativo de busca, dirigindo-se para a base da planta, onde começam a sugar a seiva de raízes expostas ou mesmo do caule (SOUZA et al., 2008).

As folhas mortas que caem das plantas e formam a liteira ajudam a promover um ambiente protegido do calor, mas as ninfas ainda produzem uma espuma (BATISTA et al., 2011) que as envolve completamente e as protege da dessecação, de predadores e de fungos patogênicos, além de criar um microclima ideal ao seu desenvolvimento (BATISTA et al., 2010).

A espuma é produzida através do líquido secretado pelo ânus e pelos espiráculos; a quantidade é proporcional à seiva ingerida. Uma vez iniciada a

sucção da seiva, uma substância mucilagionsa é secretada nos sétimos e oitavos segmentos abdominais (GUILBEAU, 1908). A seiva absorvida é misturada a bolhas de ar criadas pela expansão e contração do abdome e a outras secreções produzidas pelas glândulas de Batelli e tubos de Malpighi (KATO, 1958; MARSHALL, 1965); substâncias importantes para estabilizar a espuma (VALÉRIO, 2009). A ninfa agita o abdome de um lado para o outro, fazendo com que o muco seja revolvido e preenchido com ar, provavelmente expelido pelo ânus (BATISTA et al., 2010). Aquelas que não conseguem encontrar um lugar adequado para sugarem o alimento acabam morrendo (GARCIA et al., 2007).

A fase adulta é dirigida para a reprodução, os machos vivem cerca de 10 dias e as fêmeas 19 dias. Os adultos sugam seiva da parte aérea da planta (SOUZA et al., 2008), constituindo o estágio que provoca maior injúria (VALÉRIO, 2009).

O vôo é curto e inábil (VALÉRIO, 2009). De 80 a 95% das cigarrinhas movimentam-se por saltos baixos (até 1m de altura) e curtos, e mesmo assim geralmente apenas quando são perturbadas (MENEZES et al., 1983), fazendo concluir que o principal padrão de movimento seja por dispersão, com uma taxa reduzida de migração (SUJII, GARCIA, FONTES, 2000). Porém, o aparecimento súbito de adultos em locais onde antes não foram observadas muitas ninfas (FONTES et al., 1995), ou pelo contrário, redução brusca de adultos em pastagens onde se observava um número elevado deles (NILAKHE; BUAINAIN, 1988), sugerem que o movimento migratório não é tão raro e podem influenciar na dinâmica populacional. Estudos mostram que a flutuação populacional, com extinção e recolonização das áreas (FONTES et al., 1995) pode estar associada ao nível de dano causado pelos insetos adultos (VALÉRIO; NAKANO, 1987, 1988).

Os altos níveis populacionais, as ocorrências generalizadas e a severidade dos danos tem feito deste um dos maiores problemas na produção bovina do país (AZEVEDO, 2008) (Os primeiros relatos datam de 1918 (GUAGLIUMI, 1968)).

Constatou-se que o ataque de espécies do gênero *Mahanarva* em capim-elefante, dependendo do período do ano e densidade populacional, pode até matar a forrageira (AUAD et al., 2007).

De acordo com Valério (1985), 25 adultos de cigarrinhas por metro quadrado durante 10 dias, reduziram a produção de matéria seca de *Brachiaria decumbens* em 30%.

O sintoma mais comum é conhecido como “queima” das folhas, que apresentam um aspecto amarelado, devido às substâncias tóxicas presentes na saliva do inseto (PEREIRA, 2006). Os danos são causados a nível celular, já que os compostos presentes na saliva do inseto, usados para facilitar a ingestão, se espalham pela folha, causando destruição de cloroplastos, entupimento de vasos e consequente morte tecidual (GUAGLIUMI, 1972/1973). Os sintomas costumam aparecer horas depois do ataque (VALÉRIO, 1985), geralmente visíveis por meio de um amarelamento e retorcimento da folha, começando a partir da ponta (VALÉRIO, NAKANO, 1988).

Estudos envolvendo *Prosapia bicincta* e *P. plagiata* revelaram que os danos causados aparecem 24 horas depois da alimentação do inseto, na forma de uma mancha amarelada que surge acima do local da alimentação (VALÉRIO, 1985).

A penetração do estilete é feita de forma intracelular e a liberação das secreções salivares é feita antes da sucção dos fluidos. As secreções se difundem através dos tecidos, avançando através das paredes celulares, destruindo a clorofila e levando à conhecida descoloração. Os feixes vasculares carregam as secreções rapidamente, fazendo com que os danos apareçam primeiro nas células do parênquima que lhes são adjacentes, daí as manchas em sentido longitudinal que se tornam visíveis num primeiro estágio de dano (VALÉRIO, 1985).

A morte da porção apical da folha pode ser explicada pela interrupção do trânsito da seiva, provocada pelas secreções do inseto (VALÉRIO, 1985).

Em um período de 25 horas, machos e fêmeas de *Zulia entreriana* conseguem sugar 10 vezes seu peso corporal. Valério (1985) calculou que uma população dessa espécie com densidade de 30 indivíduos por metro quadrado espalhados por uma área de 1 hectare forrageada com *B. decumbens* por um período de 10 dias, seria capaz de drenar, no mínimo, 470 kg de seiva. Tal valor possibilitaria se transformar, mantidas as outras condições, em 20kg de carne bovina, caso o pasto estivesse livre dos insetos.

Embora os experimentos envolvendo a melhoria genética das forrageiras seja a estratégia mais promissora para a diminuição dos danos causados, outros mecanismos de combate incluem aplicação de fungos entomopatogênicos (SOUZA et al., 2008; SUJII, 1994) e a introdução de inimigos naturais (SOUZA et al., 2008, KOLLER, 1988; VALÉRIO; OLIVEIRA, 2005).

1.3 OBJETIVO GERAL

Objetivou-se com esse trabalho avaliar se há diferentes graus de predominância e fertilidade dos padrões alares obtidos de cruzamento de *M. spectabilis* com diferentes padrões de coloração e se existem diferenças genéticas significativas entre diferentes populações e diferentes padrões alares nessa espécie, discutindo possíveis causas para essa variação.

1.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJAYI, O.; OBOITE, F.A. 1999. Importance of spittle bugs, *Locris rubens* (Erichson) and *Poophilus costalis* (Walker) on sorghum in West and Central Africa, with emphasis on Nigeria. **Annals of Applied Biology**, v.136, p.9-14.
- AUAD, A. M.; DOMINGUES, R; MACHADO; SOUZA, L.S.; CARVALHO, G.S; PAULA-MORAES, S.V. 2010. Genetic variability of *Mahanarva* sp (Hemiptera: Cercopidae) collected from different sites in Brazil. **Genetics and Molecular Research** v.9, n.2, p.1005-1010.
- AUAD, A.M.; SIMÕES, A.D.; PEREIRA, A.V.; BRAGA, A.L.F.; SOUZA SOBRINHO, F.; LEDO, F.J.S.; PAULA-MORAES, S.V.; OLIVEIRA, S.A.; FERREIRA R.B. 2007. Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.8, p.1077-1081.
- AZEVEDO, V.R. 2008. Monitoramento de pragas de pastagens em áreas de assentados rurais no município de Parauapebas, Pará. Trabalho apresentado no VI Seminário de Iniciação Científica da UFRA e XII Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA Amazônia Oriental, Belém, 2008.
- BATISTA, E.; AUAD, A.M.; BRAGA, A.L.F; FERREIRA, R.B.; HALLACK, N. M. R 2010. Aspectos do Comportamento da Cigarrinha-das-Pastagens *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera:Cercopidae) na Produção de Espuma. **EntomoBrasilis**, v.3, n.2, p.25-28.
- BATISTA, E.S.P.; AUAD, A.M.; RESENDE, T.T.; MONTEIRO, C.M.O. 2011. Screening of entomopathogenic nematodes to control *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). **Revista Colombiana de Entomología** v.37, n2, p.198-202.
- BESERRA, E.; FERNANDES, C. R.; RIBEIRO, P. 2009. Relação entre Densidade Larval e Ciclo de Vida, Tamanho e Fecundidade de *Aedes* (*Stegomyia*) *egypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em Laboratório. **Neotropical Entomology** v.38, n.6, p.847-852.
- CARDONA, C.; FORY, P.; SOTELO, G.; PABÓN, A.; DIAZ, G.; MILES, J. W. 2004. Antibiosis and tolerance to Five species of spittlebug (Homoptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: Implications for breeding for resistance, **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 5, p. 635-645.
- CARDONA, C.; MILES, J. W.; SOTELO, G. 1999. An improved methodology for massive screening of *Brachiaria* spp. Genotypes for resistance to *Aeneolamia varia* (Homoptera: Cercopidae), **Journal or Economic Entomology**. v. 92, n.2, p. 490-496.

COSTA, C.; MEIRELLES, P.R.L.; SILVA, J.J.; FACTORI, M.A. 2008. Evolução das pastagens cultivadas e do efetivo bovino no Brasil. **Veterinária e Zootecnia**. v.15, n.1, p.8-17.

COSTESI, D.H.; WEBB, M.D. 2004. Four new species of Neotropical spittlebugs (Hemiptera, Cercopidae, Tomaspidinae). **Revista Brasileira de Entomologia** v.48, n.3, p.391-393.

FONTES, E.M.G.; PIRES, C.S.S.; SUJII, E.R. 1995. Mixed riskspreading strategies and the population dynamics of a Brazilian pasture pest, *Deois flavopicta*. **Journal of Economic Entomology**, v.88, n.5, p.1256-1262.

GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P. 2007. Técnica de criação, em laboratório, de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae). **Scientia Agricola** v.64, p.73-76.

GASCA, Y.X.B.; RAMÍREZ, C.P.G. 1999. **Biología y comportamiento de Mahanarva sp. (Homoptera: Cercopidae) bajo condiciones de invernadero**. Universidad de La Amazonía, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Zootecnia, Florencia, 1999.

GOLDANI, A.; CARVALHO, G.S. 2003. Análise de parcimônia de endemismo de cercopídeos neotropicais (Hemiptera, Cercopidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.47, n.3, p.437-442.

GUAGLIUMI, P. 1968. As cigarrinhas dos canaviais no Brasil. **Brasil Açucareiro**, v.72, p.34-43.

GUAGLIUMI, P. 1972/1973. Cigarrinha da raiz. In Guagliumi, P. (Ed). Pragas da cana de açúcar. Nordeste do Brasil. Rio de Janeiro: **Coleção canavieira**, v.10, p.69-103.

GUILBEAU, B.H. 1908. The origin and formation of the froth in spittle-insects. **The American Naturalist**, v.42, p.783-798.

JANK, L.; VALLE, C. B.; RESENDE, R. M. S. 2011. Breeding tropical forages, **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.1, p.27-34.

JÚNIOR, M.C.S.; PINTO, F.A.C.; QUEIROZ, D.M.; JUNIOR, D.G.S.; ABRAHÃO, S.A. 2007. Utilização de imagens multiespectrais para detectar diferentes níveis nutricionais na forrageira *Brachiaria decumbens*. In: **Anais XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Florianópolis, Brasil, 21-26 abril 2007, INPE, p.401-406, 2007.

KATO, K. 1958. Origin and composition of spittle made by spittlebugs. **ScienceReports of the Saitama University**, v.3, p.33-53.

KOLLER, W.W. 1988. **Ocorrência de cigarrinha-das-pastagens e de seu predador natural *Salpingogaster nigra* Schiner sob o efeito de sombreamento**. EMBRAPA-CNPQC. Documentos 37, Campo Grande, 1988.

MARSHALL, A.T. 1965. Batelli glands of cercopoid nymphs (Homoptera). **Nature** v.205, p.925.

- MARTINS, C.E.; DERESZ, F.; MATOS, L. L. 1993. Produção intensiva de leite em pasto de capim-elefante. **Informações Agronômicas**, v.62, p.1-4.
- MENEZES, M.; EL-KADI, M.K.; PEREIRA, J.M.; RUIZ, M.A.M. **Bases para o controle integrado das cigarrinhas das pastagens na região sudeste da Bahia**. Ilhéus : CEPLAC-CEPEC, 1983. 33p.
- NILAKHE, S.S.; BUAINAIN, C.M. 1988. Observations on movement of spittlebug adults. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.123-134.
- PACHECO, J.M. 1981 *Aspectos da biologia e ecologia de Deois (Achantodeois) flavopicta (Stal, 1854) na região de São Carlos*. 1981. 111f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1981.
- PALADINI, A.; CARVALHO, G. S. 2007. Descrição de três novas espécies de *Mahanarva* (Hemiptera, Cercopidae, Ischnorhininae). **Iheringia**, v.97, n.1, p.57-66.
- PEREIRA, J. R. 2006. **Controle das cigarrinhas-das-pastagens**. In: Instrução técnica para o produtor de leite. n.16. ISS nº 1518-3254.
- PIZARRO, E. A.; VALLE, C. B.; KELLER-GREIN, G.; SCHULTZE-KRAFT, R.; ZIMMER, A. H.. 1996. Regional experience with *Brachiaria*: tropical America savannas, p. 225-246. In J. W. Miles, B. L. Maass, and C. B. do Valle (eds.), **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. CIAT, Cali, Colombia, and CNPGC/EMBRAPA, Campo Grande, MS, Brazil.
- POLANQUINI, L.E.; SOUZA, J.G.; GEBARA, J.J. 2006. Transformações técnico-produtivas e comerciais na pecuária de corte brasileira a partir da década de 90. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.321-327.
- RAO, I. M.; MILES, J. W.; GARCIA, R.; RICAURTE, J. 2006. Selección de híbridos de *Brachiaria* com resistencia a alumínio. **Pasturas Tropicales**, v. 28, p.12-15.
- RODRIGUES, L.R.A., MONTEIRO, F.A., RODRIGUES, T.J.D. Capim elefante. In: PEIXOTO, A.M., PEDREIRA, C.G.S., MOURA, J.V., FARIA, V.P. In: **Anais do Simpósio sobre manejo da pastagem**, Piracicaba, 2001, p.203-224.
- SOARES FILHO, C.V. 1996. **Brachiaria: espécies e variedades recomendadas para diferentes condições**. Campinas: CATI, Boletim Técnico, 226, 26p.
- SOUSA SOBRINHO, F.; AUAD, A. M.; LÉDO, F. J. S. 2010. Genetic variability in *Brachiaria ruziziensis* for resistance to spittlebugs. **Crop Breeding and Applied Biotechnonology**, v.10, p.83-88.
- SOUSA-SOBRINHO, F.; AUAD, A. M.; LÉDO, F. J. S.; KOPP, M. M. 2011. Estacionalidade e estabilidade de produção de forragem de progênies de *Brachiaria ruziziensis*. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v.35, p.684-691.

- SOUZA J.C.; SILVA RA, REIS P.R.; QUEIROZ, D.S.; SILVA, D.B. 2008. **Cigarrinhas-das-pastagens: histórico, bioecologia, prejuízos, monitoramento e medidas de controle**. Circular EPAMIG, 2008, 8p.
- SUJII, E. R. 1994. **Padrão de distribuição das populações anuais e modelo fenológico para o manejo da cigarrinha-das-pastagens, *Deois flavopicta* (Homoptera: cercopidae)**. Tese apresentada à Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.
- SUJII, E.R.; GARCIA, M.A.; FONTES E.M.G.; CARVALHO, V. 1995. Efeito da temperatura e umidade sobre o término da diapausa de ovos e densidade populacional da cigarrinha-das-pastagens, *Deois flavopicta* (Stal) (Homoptera: Cercopidae). In: **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.24, n.3, p.465-478, 1995.
- SUJII, E.R.; GARCIA, M.A.; FONTES E.M.G.; CARVALHO, V. 1995. Efeito da temperatura e umidade sobre o término da diapausa de ovos e densidade populacional da cigarrinha-das-pastagens, *Deois flavopicta* (Stal) (Homoptera: Cercopidae). In: **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.24, n.3, p.465-478.
- VALÉRIO, J. R. **Caracterização e avaliação de dano causado pelo adulto da cigarrinha-das-pastagens *Zulia entreriana* (Berg, 1879) em *Brachiaria decumbens* Stapf. Cv. BASILISK**. Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.
- VALÉRIO, J. R. Cigarrinhas das pastagens. Circular Técnica, Documento 179. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Embrapa Gado de Corte, 2009.
- VALÉRIO, J. R.; NAKANO, O. 1998. Danos causados pelo adulto da cigarrinha *Zulia entreriana* na produção e qualidade de *Brachiaria decumbens*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, n. 5, p. 447-453.
- VALÉRIO, J.R.; NAKANO, O. 1988. Danos causados pelo adulto da cigarrinha *Zulia entreriana* na produção e qualidade de *Brachiaria decumbens*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.23, p.447–453.
- VALÉRIO, J.R.; OLIVEIRA, C.M. 2005. Parasitismo de Ovos de Cigarrinhas-das-Pastagens (Homoptera: Cercopidae) pelo Microhimenóptero *Anagrus urichi* Pickles (Hymenoptera:Mymaridae) na Região de Campo Grande, MS. **Neotropical Entomology**, v.34, n.1, p.137-138.
- WENZ, L. P.; MANCILLA, L. I.; MAYER, J. E.; ALBERT, R.; RAO, I. M. 2003. Simulating infertile acid soils with nutrient solutions: The effects on *Brachiaria* species. **Soil Science Society of America Journal**, v.67, p.1457-1469.

2 CRUZAMENTO DE *Mahanarva spectabilis* (DISTANT 1909) DE DIFERENTES PADRÕES ALARES

2.1 RESUMO: A variabilidade quanto ao padrão de coloração da asa é uma característica de *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909), importante praga em forrageiras. Objetivou-se avaliar se há diferenças de fertilidade e predominância dos padrões alares obtidos de cruzamento de *M. spectabilis* com diferentes padrões de coloração. Ninfas e adultos virgens de *M. spectabilis* foram coletados em Coronel Pacheco-MG, separados conforme o padrão alar ((AN) amarelo-palha com manchas negras, (VN) avermelhado com manchas negras, (V) totalmente avermelhada, (N) totalmente negra), separados em casais e mantidos em plantas de capim-elefante cobertas com sacos de voil. Os ovos gerados foram acondicionados em câmara de crescimento e acompanhados até a eclosão. As ninfas obtidas foram transferidas para plantas de capim-elefante e acompanhadas até a fase adulta, quando os espécimes foram categorizados quanto ao seu padrão alar. Utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso, com 10 tratamentos. A fertilidade e padrões alares gerados dos cruzamentos dos indivíduos de diferentes padrões alares foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de média Scott-Knott ($P < 0,05$). Constatou-se que o número de ovos diminuiu significativamente quando o cruzamento envolveu um macho do padrão AN. Nos cruzamentos envolvendo os diferentes padrões, constatou-se diferenças significativas na predominância da prole, ficando evidente que o fenótipo dos parentais foi um fator determinante na fertilidade e no padrão alar da descendência.

Palavras-chave: Cigarrinha-das-pastagens. Fertilidade. Efeito-paterno. Variabilidade fenotípica. Entomologia agrícola.

2.2 ABSTRAT: The variability in the pattern of wing coloring is a characteristic of *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909), an important pest in forages. The objective was to evaluate whether fertility differences and dominance of wings patterns obtained from crossing *M. spectabilis* with different color patterns. Nymphs and adults of *M. spectabilis* virgins were collected in Coronel Pacheco, MG, separated according to the standard wing ((AN) straw-yellow with black spots, (VN) red with black spots, (V) completely reddish, (N) completely black), separated couples and kept in elephant grass plants covered with cheesecloth bags. The eggs generated were placed in a growth chamber and escorted to the outbreak. The obtained nymphs were transferred to campim elephant plants and followed up until adulthood when the specimens were categorized as to their standard wing. The design was used completely randomized with 10 treatments. Fertility and wing patterns generated from crosses of the alar patterns of different individuals were subjected to analysis of variance (ANOVA) test followed average Scott-Knott ($P < 0.05$). It was found that the number of eggs decreased significantly when the crossing involved a standard male AN. In crosses involving different standards, there was significant differences in the prevalence of offspring, evidencing that the phenotype of parents was a factor in fertility and wing pattern of descent.

Keywords: Cigarrinha-of-pastures. Fertility. Effect-father. Phenotypic variability. Agricultural entomology.

2.3 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com características geográficas e climáticas propícias à criação de gado leiteiro e de corte, que contribuem com parcela substancial da riqueza nacional (JANK et al., 2011). A produção de carne e leite está diretamente ligada à qualidade da forrageira oferecida ao gado (SOUSA SOBRINHO et al., 2011), sendo as gramíneas do gênero *Brachiaria* e *Pennisetum* largamente usadas em todo território brasileiro (Auad et al., 2010). Esses gêneros de gramíneas foram trazidos da África a partir da década 60 (WENZ et al., 2003; RAO et al., 2006; SOUSA SOBRINHO et al., 2010), e desde então tem sofrido com o ataque de vários insetos, sendo que aqueles conhecidos como cigarrinhas-das-pastagens estão entre os mais agressivas. O gênero *Mahanarva* tem causado severos ataques em pastagens, ameaçando a cadeia produtiva de carne e leite por ocasionarem o comprometimento da forrageira (GARCIA et al., 2006). As ninfas sugam constantemente a seiva, causando o amarelecimento de toda a planta, enquanto o adulto se alimenta da parte aérea, causando fitotoxicidade (SÁ, 1981).

Há algumas décadas já era observado que várias espécies de cercopídeos apresentavam ampla variabilidade com relação à coloração das tégminas (SÁ, 1981). Segundo Townsend, Begon & Happer (2006), variações fenotípicas podem ser resultados de diferenças no comportamento de corte, nos sinais de atração ou de barreiras geográficas. Se uma população apresenta variações fenotípicas perceptíveis entre os indivíduos que a compõe, é provável que forças evolutivas estejam agindo.

Uma vez conhecida a relação entre variação morfológica e adaptação ao meio, tal variabilidade deve ser levada em consideração tanto em estudos de taxonomia quanto em avaliações de impacto econômico (MORAES et al., 2006).

Auad et al., (2010) perceberam também ampla variabilidade quanto a coloração das asas em *M. spectabilis*, e descreveram quatro padrões alares: amarelo-palha com manchas negras longitudinais (AN), avermelhado com

manchas negras longitudinais (VN), totalmente avermelhadas (V) e totalmente negras (N).

Borges et al., (2011) e Madallena et al., (2012); em estudos preliminares, fizeram cruzamentos entre esses diferentes padrões alares de *M. spectabilis*, porém o número de indivíduos foi insuficiente para um resultado mais consistente. A variabilidade quanto ao padrão de coloração da asa é uma importante característica em *M. spectabilis*, e segundo Kischlat (2005), a seleção natural age sobre o fenótipo, fazendo com que indivíduos menos adaptados se tornem vulneráveis e sejam eliminados, evidenciando assim a importância de se realizar mais estudos para compreender melhor essa variabilidade.

Dessa forma, objetivou-se com este trabalho avaliar se há diferentes graus de predominância e fertilidade dos padrões alares obtidos de cruzamento de *M. spectabilis* com diferentes padrões de coloração.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1 Obtenção de plantas e insetos

Estacas de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach) foram obtidas no Campo Experimental da Embrapa Gado de Leite em Coronel Pacheco e transplantadas para copos descartáveis de 500 mL, contendo solo. Essas foram mantidas em casa de vegetação telada para seu desenvolvimento.

Ninfas e adultos virgens de *M. spectabilis* foram coletados no Campo Experimental de Coronel Pacheco e levados para o Laboratório de Entomologia da Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora. As ninfas foram transferidas para vasos contendo plantas de capim-elefante como substrato para alimentação. Diariamente adultos virgens foram retirados e classificados quanto ao seu padrão alar ((AN) amarelo-palha com manchas negras, (VN) avermelhado com manchas negras, (V) totalmente avermelhada, (N) totalmente negra), de acordo com a descrição de Auad et al., (2010) (Fig. 1).

2.4.2 Bioensaios

Cruzamento de *Mahanarva spectabilis* de Diferentes Padrões Alares:

Os adultos com padrões alares diferentes foram utilizados na formação dos casais. Utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso, com 10 tratamentos. O número de repetições variou para cada tratamento devido a flutuação populacional dos padrões alares (Tab. 1).

Os casais formados foram individualizados e acondicionados na parte superior das plantas de capim-elefante, dentro de sacos de voil. Uma gaze foi envolvida na base do saco, servindo como substrato para oviposição. Após a morte das fêmeas, os ovos foram retirados da gaze. Para isso, a gaze foi colocada sobre um conjunto de peneiras e submetida à um jato de água corrente, onde os ovos ficaram retidos na peneira mais fina (400 mesh de abertura). Os ovos obtidos por casal foram contabilizados e individualizados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com papel filtro e armazenados em câmaras climatizadas tipo BOD ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 14 h de fotofase, 70% UR) até o estágio embrionário próximo a eclosão (S4). Avaliou-se o número de ovos obtidos dos cruzamentos, relacionando-os tanto com relação aos padrões das fêmeas quanto dos machos em cada tratamento.

Para avaliar o padrão alar da geração F1, ovos em estágio S4 foram colocados em tiras de papel de filtro de 1x1 cm e transferidos para copos de 500 mL contendo uma planta de capim-elefante, cujas raízes foram submetidas a jatos de água, objetivando a exposição das raízes como substrato de alimentação para as ninfas. Para cada planta foi colocado no máximo 40 ovos. Os copos foram vedados com tampa plástica e gaze e mantidos em bandejas em casa-de-vegetação. Diariamente foi acompanhada a emergência dos adultos, o quais foram usados para descrição dos padrões alares da geração F1.

Os cruzamentos realizados em cada tratamento, o número total de casais em cada tratamento (repetição), o número de ovos que alcançaram o estágio S4 e o número de adultos obtidos de cada tratamento podem ser vistos na tabela 1.

2.4.3 Análise Estatística

O teste de contraste do programa Sisvar (2010) foi usado para avaliar o número de ovos com relação ao padrão alar de machos e fêmeas separadamente: Fêmeas de padrão alar AN com machos dos demais padrões (♀AN-♂VN; ♀AN-♂V e ♀AN-♂N) com os machos de padrão AN com fêmeas dos demais padrões (♀VN-♂AN; ♀V-♂AN e ♀N-♂AN); fêmeas de padrão alar VN com machos dos demais padrões (♀VN-♂V e ♀VN-♂N) e machos do padrão alar VN com fêmeas dos demais padrões (♀V-♂VN e ♀N-♂VN); assim como fêmeas com padrão alar V com machos do padrão alar N (♀V-♂N) com aqueles que envolveram machos do padrão V com fêmeas do padrão N (♀N-♂V).

A porcentagem de descendência da geração F1 do cruzamento de macho e fêmea de *M. spectabilis* de mesmo padrão alar e entre os padrões alares; assim como a porcentagem de cada padrão alar obtido em todos os cruzamentos foram submetido à análise de variância (ANOVA) seguida do teste de média Scott-Knott ($P < 0,05$).

2.5 RESULTADOS

O número médio de ovos/fêmea, quando analisados em separado para cada um dos padrões de fêmea, mas sem levar em consideração o padrão do macho, não diferiu significativamente ($F=2,51$ e $p=0,0594$) (Tabela 2). Porém, quando o número médio de ovos foi contabilizado com relação a cada um dos quatro padrões alares presentes nos machos, percebeu-se uma diminuição significativa desse número para machos do padrão AN ($F= 3,136$; $p = 0,0260$) (Tab. 2). Quando se contrastou os cruzamentos em que envolveram fêmeas com padrão alar AN com machos dos demais padrões (♀AN-♂VN; ♀AN-♂V e ♀AN-♂N) com aqueles que envolveram machos do padrão AN com fêmeas dos demais padrões (♀VN-♂AN; ♀V-♂AN e ♀N-♂AN) observou-se que os machos do padrão AN induziram uma redução significativa no número médio de ovos/fêmea em todos os cruzamentos ($F=11,71$, $p=0,0007$). Por outro lado, quando se contrastou os cruzamentos em que envolveram fêmeas com padrão

alar VN com machos dos demais padrões (♀VN-♂V e ♀VN-♂N) com aqueles com machos do padrão alar VN com fêmeas dos demais padrões (♀V-♂VN e ♀N-♂VN) ($F=0,39$; $p=0,8429$) e fêmeas com padrão alar V com machos do padrão alar N (♀V-♂N) com aqueles que envolveu os machos do padrão V com fêmeas do padrão N (♀N-♂V) ($F=2,618$; $p=0,1069$) não foram constatadas diferenças significativas no número de ovos (Tab. 2).

Quando se avaliou a descendência da geração F1 do cruzamento de macho e fêmea de *M. spectabilis* de mesmo padrão alar, obteve-se indivíduos com os 4 padrões alares, exceto o cruzamento do padrão VN-VN, em que não houve a ocorrência do padrão N. Além disso, constatou-se predominância significativa na geração F1 do mesmo padrão alar usado na geração parental advindos dos cruzamentos AN-AN ($F=27,49$, $p=0,0001$) e V-V ($F=17,98$, $p=0,0001$). Para o cruzamento entre indivíduos com padrão VN-VN houve predominância parental significativa ($F=18,98$, $p=0,0001$), porém essa não diferiu da ocorrência de descendentes com padrões alares AN e V. No cruzamento entre indivíduos do padrão negro (N-N) não foi observada predominância significativa de nenhum padrão na descendência ($F=1,51$, $P=0,2105$) (Fig. 2 A).

O padrão amarelo com mancha negra (AN) proporcionou descendência significativamente diferente quando cruzados com VN ($F=5,70$; $p=0,0008$), V ($F=36,30$; $p=0,0001$) e N ($F=5,58$; $p=0,0009$). No cruzamento entre indivíduos AN e VN, observou-se redução significativa do padrão N na descendência, enquanto os demais padrões não diferiram significativamente. No cruzamento entre indivíduos AN-V, predominou-se significativamente descendentes do padrão V, seguido por AN, VN e N. Houve predominância significativa do padrão AN, quando indivíduos desse padrão foram cruzados com indivíduos do padrão N (Fig. 2 B).

O padrão avermelhado com mancha negra (VN) proporcionou descendência significativamente diferente quando cruzados com indivíduos do padrão V ($F=6,22$; $p=0,0004$) e N ($F=4,03$; $p=0,0076$). Apesar do padrão AN não estar envolvido nos cruzamentos VN-V e VN-N a porcentagem de descendentes foi significativamente igual ao dos progenitores (VN-V) ou a um dos progenitores (VN-N). O número de descendentes com o padrão N foi significativamente inferior aos demais, mesmo quando um dos progenitores era desse padrão (Fig. 2 C).

No cruzamento envolvendo o padrão V-N (Fig. 2 D), observou-se uma predominância significativa do padrão V ($F=5,59$, $p=0,0009$).

Quando se compara a porcentagem de cada padrão alar dos descendentes obtidos entre os 10 cruzamentos (Fig. 3) constatou-se que a porcentagem de descendência de indivíduos com padrão AN foi significativamente reduzida quando o padrão V esteve presente em um dos parentais (Fig. 3 A).

Foi observada diferença significativa na porcentagem de descendentes com padrão V em função dos diferentes cruzamentos ($F=6,82$; $p=0,0001$) em que esse padrão foi significativamente predominante apenas quando estava presente em um dos progenitores. Uma exceção é o cruzamento AN-VN, onde a predominância de V na descendência também foi significativa (Fig. 3 B).

Por outro lado não houve diferença significativa na porcentagem de descendentes com o padrão VN ($F=1,70$; $p=0,0912$) e N ($F=0,97$; $p=0,4622$) em função dos cruzamentos com progenitores de diferentes padrões alares (Fig. 3 C e 3 D).

2.6 DISCUSSÃO

Variações de fertilidade em espécies de insetos e nos padrões alares de cercopídeos são encontradas na literatura, onde os autores apontam causas diversas para explicar sua origem. Ferreira et al., (2012) constataram variação de 9,57 a 32,44 ovos/fêmea de *M. spectabilis* alimentadas em diferentes genótipos de capim elefante. Garcia (2006) e Garcia et al., (2006) registraram valores de fertilidade entre 140 e 342 ovos/fêmeas de *M. fimbriolata*, respectivamente. Grisoto (2008) para a mesma espécie observou de 21 a 187 ovos/fêmeas em função da planta hospedeira utilizada.

Até o momento é encontrado na literatura que ocorre variação na fertilidade do gênero *Mahanarva* em função da temperatura (GARCIA, 2006), fotoperíodo (GARCIA et al., 2006), planta hospedeira (GRISOTO, 2008) e dióxido de carbono (FERREIRA et al., 2012).

Além dos fatores citados acima, a variação do padrão alar dos insetos também pode influenciar na fertilidade das fêmeas. Populações selvagens tendem a apresentar uma enorme variabilidade fenotípica, boa parte dela devido ao efeito materno, porém pouco ainda se estudou a respeito dos efeitos paternos (BONDURIANSKY; HEAD, 2007), cuja influência foi encontrada pelo presente estudo. Pesquisas mostram que a fecundidade de algumas espécies de insetos é dependente da idade do macho (SRIVASTAVA; OMKAR, 2004; OMKAR et al., 2006; OMKAR et al., 2010), uma vez que os mais jovens transferem maior volume de fluido seminal e assim aumentam as chances de fertilidade da fêmea (MARKOW et al., 1990; BONDURIANSKY et al., 2004). Estudos mais recentes tem demonstrado a grande importância de certas proteínas presentes no líquido seminal (BOES et al., 2014), que modulam aspectos do comportamento pós-cópula e fisiologia da fêmea e influenciam, assim, a fertilidade (ÁVILA et al., 2011) e a reprodução de forma geral (BOES et al., 2014). Sugere-se que as taxas de proteína transferidas podem depender do ambiente social dos insetos antes ou durante o acasalamento. Em algumas espécies, as respostas das fêmeas são menos pronunciadas se os machos se acasalaram com outras fêmeas pouco tempo antes (ÁVILA et al., 2011).

No presente trabalho foi denotado que essa variação na fertilidade ocorreu em função do padrão alar do macho de *M. spectabilis*, visto que machos de padrão alar amarelo-palha com manchas negra (AN) reduziram significativamente o número de ovos das fêmeas. Porém, ressalta-se que esse padrão foi predominante na descendência F1, quando esteve presente ou ausente nos progenitores.

Um objetivo central da biologia evolutiva é entender a relação entre a variabilidade fenotípica de organismos e da variabilidade dos ambientes em que vivem, um interesse que pode servir como base para estratégias de controle que visem alterar a taxa reprodutiva de inúmeras espécies praga (ÁVILA et al., 2011).

Já foi mencionado em pesquisas anteriores que várias espécies de cercopídeos apresentam ampla variabilidade morfológica com relação a coloração das tégminas. Kellog (1904) estudou cigarrinhas Typhlocybae (uma subfamília de Cicadellidae), observando padrões de manchas do pronoto. Foram coletados 221 indivíduos e a variação foi tão grande que o autor não

conseguiu definir um padrão ideal. No Brasil, o primeiro trabalho sobre polimorfismo alar em cigarrinhas foi realizado por Mendonça Filho (1972) estudando *Aeneolamia selecta* (Walker, 1858) e *Zulia entreriana* (Berg, 1879) no nordeste. Guagliumi (1972/73) notou polimorfismo cromático em *M. fimbriolata* também no nordeste, evidenciando que elas possuíam distribuição tão definida que estabeleceu três raças ou coespécies baseado nesse caráter. Ramos (1976) encontrou variações cromáticas em *Z. entreriana* no sul da Bahia. No Mato Grosso do Sul, Valério (1979) encontrou polimorfismo não apenas em *Z. entreriana* como também em *Deois flavopicta* (Stal, 1954). Milanez (1980) também encontrou tais variações cromáticas nessas duas espécies, coletadas no estado de São Paulo. Naves (1980) relatou um alto grau de variabilidade de desenhos e coloração nas asas de *Z. entreriana* na região dos cerrados.

Diferenças morfológicas entre populações de uma mesma espécie dispersas por gradientes de latitude e altitude têm sido relatados por vários grupos de insetos (SMITH et al., 2000) e também são geralmente associadas com condições de temperatura, umidade e fotoperíodo (TAUBER et al., 1986).

Halkka (1962) estudou populações de *Philaenus spumarius* (Linnaeus, 1758) em quatro localidades da Finlândia, e concluiu que a variedade de coloração devia-se a fatores comportamentais e ecológicos. Em *Deois schach* (Fabricius, 1787), Sá (1981) sugere que fatores como temperatura e umidade, sejam preponderantes para a distribuição mais ou menos dominante de uma variedade.

Halkka et al., (1980) investigaram a frequência de coloração do gênero *Philaenus* na Rússia ocidental e descobriram uma relação positiva entre altitude e a frequência de certos tipos de coloração.

Wittaker (1972) percebeu que certos padrões de coloração em *P. spumarius* eram raras ou ausentes em certas localidades da Rússia. Tais padrões tendiam a surgir mais tardiamente nas populações e nos locais onde fortes geadas tornavam o período de cultivo significativamente menor. Na Finlândia, Halkka et al., (1974), estudou populações de *P. spumarius* e percebeu que a variabilidade aumentava no sentido norte-sul, onde os tipos e idade das plantas hospedeiras também aumentava em diversidade. No Brasil, Sá (1981) encontrou pelo menos 24 tipos diferentes de indivíduos da espécie

Z. entreriana, 15 padrões em *D. flavopicta* e 9 em *D. schach*, ressaltando que quando a coleta foi realizada em Monte Verde – MG, em alta altitude e baixa temperatura, apenas dois tipos de *Deois* foram obtidos.

O presente trabalho corrobora os resultados de Auad et al., (2010), que observaram quatro padrões na coloração das asas em *M. spectabilis* (Fig. 1).

Apesar das pesquisas acima terem mostrado que as causas externas foram preponderantes na diversidade dos padrões alares, esse fato não se pode estender para o presente estudo, uma vez que o experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, onde todos os tratamentos estiveram sob as mesmas condições ambientais e o mesmo tipo de planta hospedeira. Trabalhando com abelhas, Kellog (1904) já havia observado que as larvas vivem todas sob as mesmas condições de umidade, temperatura e luminosidade, recebem a mesma quantidade de alimento e estão fisicamente próximas, condições tão uniformes quanto as que seriam possíveis em laboratório. Desse modo, se as variações morfológicas fossem causadas por fatores ambientais, estes indivíduos deveriam apresentar uma ampla uniformidade, o que não foi observado pelo autor.

Os quatro padrões alares observados no presente trabalho foram iguais ao observado em campo nas regiões de Coronel Pacheco - MG (AUAD et al., 2012), Presidente Prudente - SP e Brasília - DF (AUAD et al., 2010). Nas regiões de Valença - RJ e Campo Grande - MS foi encontrado apenas o padrão alar amarelo palha com manchas negras (AUAD et al., 2010).

Nos cruzamentos entre macho e fêmea de *M. spectabilis* de mesmo padrão alar, obteve-se praticamente todos os padrões alares na geração F1, denotando que nem todos estavam em homozigose. Por outro lado, homozigose parece ocorrer nos indivíduos de *M. spectabilis* das regiões de Valença - RJ e Campo Grande - MS, onde apenas um padrão alar é encontrado (AUAD et al., 2010).

Embora outros trabalhos tenham mostrado a importância do estudo de diferenças cromáticas em tégminas de cigarrinhas, este foi o primeiro estudo realizado para conhecer o grau de predominância dos padrões alares obtidos de cruzamento de *M. spectabilis* com diferentes padrões de coloração, onde ficou evidente que o fenótipo dos parentais, em relação a coloração alar, é um fator determinante no número de ovos e descendência da geração F1. Tais

informações, embora incipientes, podem ser úteis para futuras estratégias que envolvam controle populacional dessas pragas.

2.7 CONCLUSÃO

A fertilidade das fêmeas de *M. spectabilis* foi afetada pelo padrão alar paterno AN. O padrão alar dos parentais influencia diretamente a sua descendência.

2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUAD, A. M.; MARTINS, M. F.; FONSECA, I.; PAULA MORAES, S. V.; KOOP, M. M.; CORDEIRO, M. C. 2012. Spittle protein profile of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) fed various elephant grass genotypes. **Genetics and Molecular Research**, v.11, n.4, p.3601-3606.

AUAD, A.M., DOMINGUES, R., MACHADO, M.A., SOUZA, L.S., CARVALHO, G.S., PAULA-MORAES, S.V. 2010. Genetic variability of *Mahanarva* sp (Hemiptera: Cercopidae) collected from different sites in Brazil. **Genetics and Molecular Research** v.9, n.2, p.1005-1010.

ÁVILA, F.W., SIROT, L.K., LAFLAMME, B.A., RUBINSTEIN, C.D., WOLFNER, M.F. 2011. Insect seminal fluid proteins: Identification and function. **Annual Review of Entomology** v.56, p.21–40.

BOES, K., RIBEIRO, J. C., WONG, A., HARRINGTON, L., WOLFNER, M.F., SIROT., L.K. 2014. Identification and characterization of seminal fluid proteins in the asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*. **PLOS Neglected Tropical Diseases** v.8, p.1-10.

BONDURIANSKY, R.; WHEELER, J.; ROWE, L. 2004. Ejaculate feeding and female fitness in the sexually dimorphic fly *Prochyliza xanthostoma* (Diptera: Piophilidae). **Animal Behaviour**, v.69, p.489-497.

BONDURIANSKY., R., HEAD, M. 2007. Maternal and paternal condition effects on offspring phenotype in *Telostylinus angusticollis* (Diptera: Neriidae). **Journal of Evolutionary Biology**, v.20, p.2379–2388.

BORGES, R. A.; MADDALENA, I. S. C. P.; FONSECA, M. G.; RESENDE, T. T.; AUAD, A. M. 2011. **Caracterização e avaliação dos diferentes padrões alares obtidos do cruzamento de diferentes espécimes de *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1990) (Hemiptera: cercopidae)**. Trabalho apresentado no X Congresso de Ecologia do Brasil, I Simpósio de Sustentabilidade, 2011, São Lourenço, MG. Resumo 1677, inscrição 1794.

FERREIRA,R.B., MORAES, J.C., AUAD, A.M., FONSECA, M. 2012. Interaction of spittlebug and forage grass under different carbon dioxide concentrations. **Journal of Pest Science** v.86, p.161-166.

GARCIA, J.F. 2006. **Bioecologia e manejo da cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em cana de açúcar**. Tese (Doutor: Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 100p.

GARCIA, J.F., BOTELHO, P.S.M., PARRA, J.R.P. 2006. Biology and Fertility Life of *Mahanarva fimbriolata* (STÅL) (Hemiptera: Cercopidae) in sugarcane. **Scientia Agricola** v.63, p.317-320.

GRISOTO, E. 2008. **Resistência de gramíneas a *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1845) (Hemiptera: Cercopidae)**. Tese (Mestre em Ciências:

Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 57p.

GUAGLIUMI, P. 1972/73. Cigarrinha da raiz. **Coleção canavieira**, v.10, p. 69-103.

HALKKA, O. 1962. Polymorphism in population of *Philaenus spumarius* close to equilibrium. **Academiae Scientiarum Fennicae**, v.59, p.1-22.

HALKKA, O. VILBASTE, J.; RAATIKAINEM, M. 1980. Colour gene allele frequencies correlated with altitude of habitat in *Philaenus* populations. **Hereditas**, v.92, p.243-246.

HALKKA, O., RAATIKAINEM, M., HALKKA, M. 1974. Radial and peripheral clines in northern polymorphic populations of *Philaenus spumarius*. **Hereditas**, v.78, p.85-96.

JANK, L.; VALLE, C.B.; RESENDE, R.M.S. 2011. Breeding tropical forages, **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.1, p.27-34.

KELLOG, V. L. 1904. Influence of the primary reproductive organs on the secondary sexual characters. **Journal of Experimental Zoology** v.1, p.601-605.

KISCHLAT, E-E. 2005. Os conceitos de espécie: uma abordagem prática. **Caderno La Salle** v.11, n.2, p.11-35.

MADDALENA, Í.S.C.P.; AUAD, A.M.; FONSECA, M. G.; RESENDE, T.T.; SANTOS, T.H.F.; VIEIRA, T.M. 2012. **Padrões de coloração das tégminas obtidos do cruzamento de diferentes espécimes de Mahanarva spectabilis (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae)**. In: Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, Curitiba, 2012.

MARKOW, T. A.; GALLANGHER, P. D.; KREBS, R.A. 1990. Ejaculate-derived nutritional contribution and female reproductive success in *Drosophila mojavensis* (Patterson and Crow). **Functional Ecology** v.4, p.67-73.

MENDONÇA FILHO, A.F. 1972. **Variações específicas no padrão de asas de *Zulia entreriana* e *Aeneolamia selecta* (Homoptera: Cercopidae)**. In: Anais da Reunião de Entomologia Agrícola, Itabuna, 1972.

MILANEZ, J. M.; 1980. Dinâmica populacional de *Zulia (Notozulia) entreriana* (Berg, 1879) e *Deois (Acanthodeois) flavopicta* (Stal, 1854) (Homoptera: Cercopidae) em diferentes gramíneas. **Tese** (Mestre em Ciências: Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 79p.

MORAES, S. V.; FALEIRO, F. G.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, K. P.; CARVALHO, G. S.; RAMOS, A. K. B.; AUAD, A. M.; OLIVEIRA, C. M. 2006. **Variabilidade genética molecular e morfológica de “*Mahanarva spectabilis*” (Distant, 1909) em duas pastagens no cerrado**. In: Anais da XLIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, João Pessoa, 2006.

- NAVES, M. A. 1980. **As cigarrinhas das pastagens e sugestões para o seu controle (Contribuição ao manejo integrado das pragas das pastagens)**. Circular Técnica, Embrapa Cerrados, Brasília.
- OMKAR, S., MISHRA, G.; SINGH, S.K. 2006. Optimal number of matings in two aphidophagous ladybirds. **Ecological Entomology**, v.31, p.1-14.
- OMKAR, S.; SINGH, S.K.; MISHRA, G. 2010. Parental age at mating affects reproductive attributes of the aphidophagous ladybird beetle, *Coelophora saucia* (Coleoptera: Coccinellidae). **European Journal of Entomology**, v.107, p.341-347.
- RAMOS, I. 1976. **Biologia da cigarrinha de pastagem *Zulia entreriana* (Berg, 1879) (Homoptera: Cercopidae)**. Tese (Mestre em Ciências: Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 72p.
- RAO, I. M.; MILES, J. W., GARCIA, R.; RICAURTE, J. 2006. Selección de híbridos de *Brachiaria* com resistência a alumínio. **Pasturas Tropicales** v.28, p.12-15.
- SÁ, A. N. **Cigarrinhas das pastagens (Homoptera, cercopidae): distribuição geográfica e variabilidade genética**. Tese (Mestre em genética e biologia molecular), Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1981.
- SISVAR versão 5.3 (Biud 75). 2010. **Sistemas de análise de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos**. Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG.
- SMITH, R.J., HINES, A., RICHMOND, S., MERRICK, M. 2000. Altitudinal variation in body size and population density of *Nicrophorus investigator* (Coleoptera: Silphidae). **Environmental Entomology** v.29, p.290-298.
- SOUSA SOBRINHO, F., AUAD, A. M.; LÉDO, F.J.S.; KOPP, M. M. 2011. Estacionalidade e estabilidade de produção de forragem de progênies de *Brachiaria ruziziensis*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.684-691.
- SOUSA-SOBRINHO, F.; AUAD, A. M.; LÉDO, F. J. S. 2010. Genetic variability in *Brachiaria ruziziensis* for resistance to spittlebugs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.10, p.83-88.
- SRIVASTAVA, S.; OMKAR, M. S. 2004. Age-specific mating and reproductive senescence in the seven-spotted ladybird, *Coccinella septempunctata*. **Journal of Applied Entomology**, v.128, p.452-458.
- TAUBER, J.M.; TAUBER, A.C.; MASAKI, S. 1986. **Seasonal Adaptations of Insects**. New York: Oxford University Press, 411p.
- TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. 2006. **Fundamentos em ecologia**. Porto Alegre: Artmed, 592 p.

VALÉRIO, J.R. 1979. Cigarrinhas das pastagens: um problema de difícil solução. **Revista Campo**.

WENZ, L. P.; MANCILLA, L. I.; MAYER, J. E.; ALBERT, R.; RAO, I. M. 2003. Simulating infertile acid soils with nutrient solutions: The effects on *Brachiaria* species. **Soil Science Society of America Journal**, v.67, p.1457-1469.

WHITTAKER, J.B. 1972. Polymorphism of *Philaenus spumarius* (Homoptera) in the USSR. **Oikos**, v.23, p.366-369.

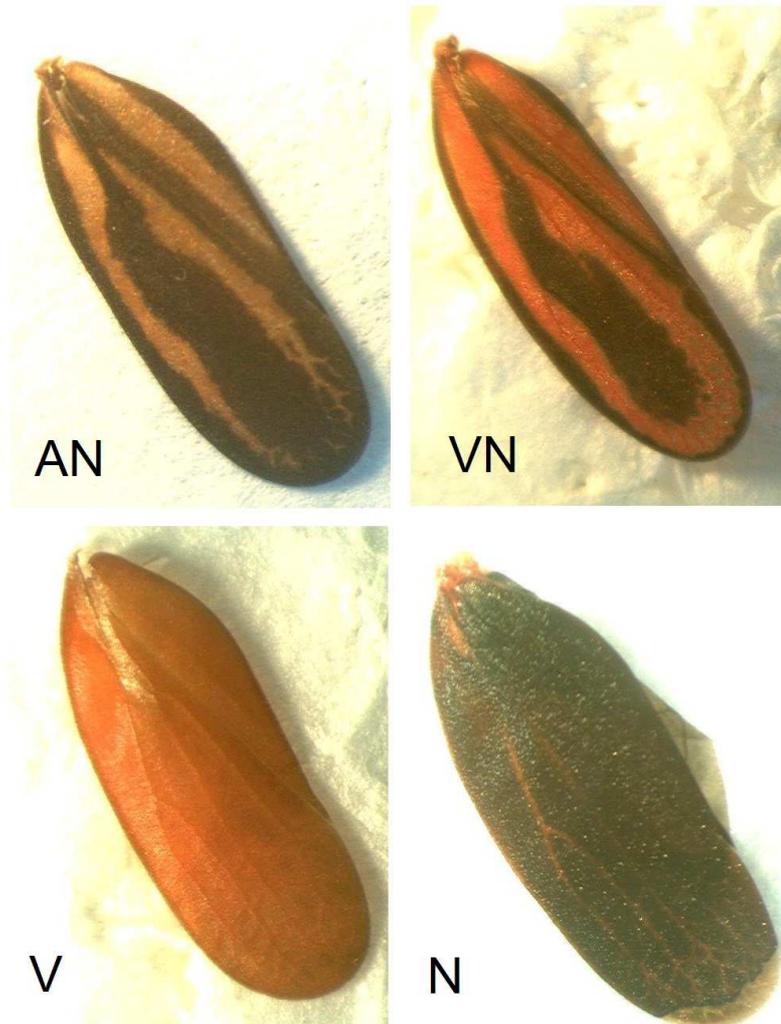


Figura 1 Diferentes padrões de coloração em tégminas de *Mahanarva spectabilis*. AN - amarelo com mancha negra; VN - avermelhado com mancha negra; V - totalmente avermelhado; N- totalmente negra.

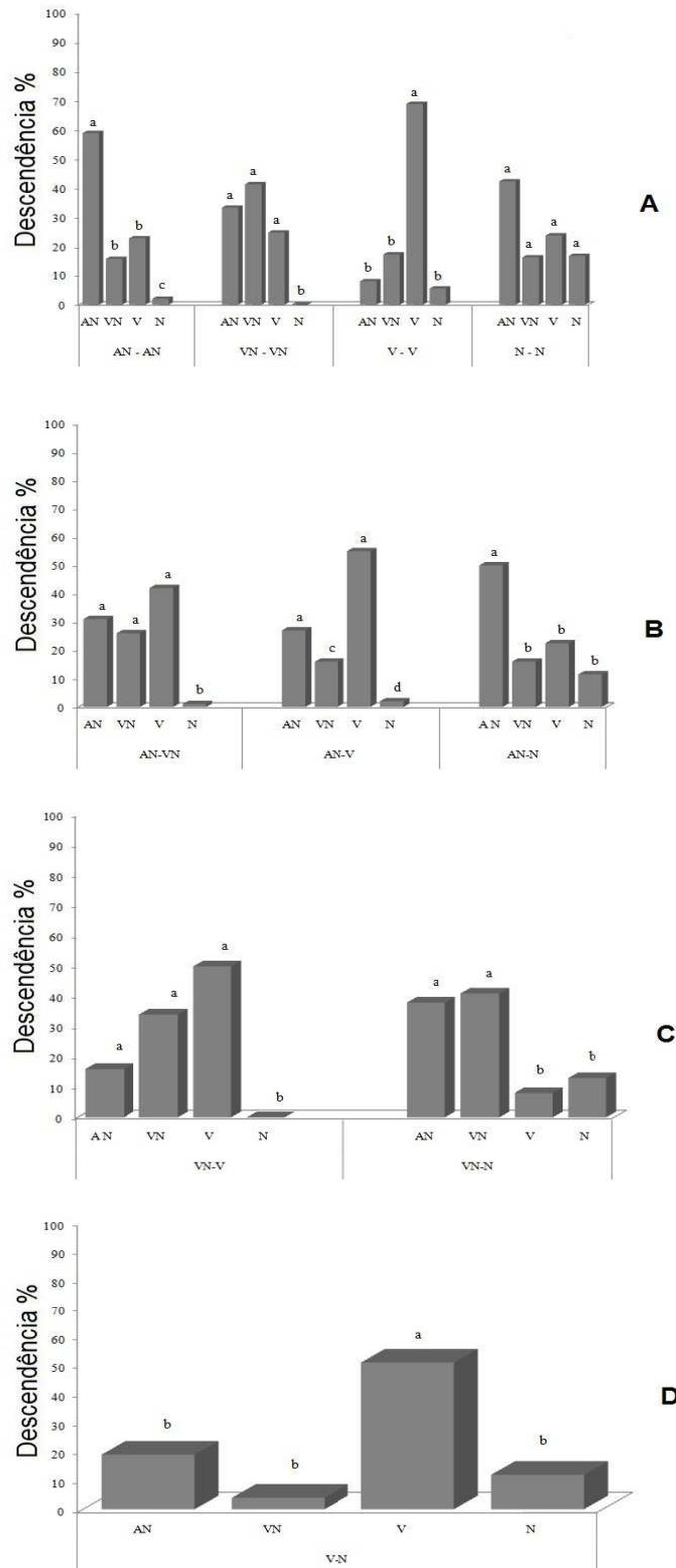


Figura 2 Descendência obtida em todos os cruzamentos de *M. spectabilis*, com a geração parental representada pelas duas letras abaixo de cada conjunto de colunas, no qual: AN=Amarelo palha com manchas negra; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N= Totalmente negras. Lateral direita: A: machos e fêmeas de mesmo padrão alar; B: indivíduos de padrão alar AN com demais padrões; C: indivíduos VN com demais padrões e D: indivíduos N demais padrões alares. Médias seguidas de mesma letra entre os cruzamentos não diferem significativamente pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$).

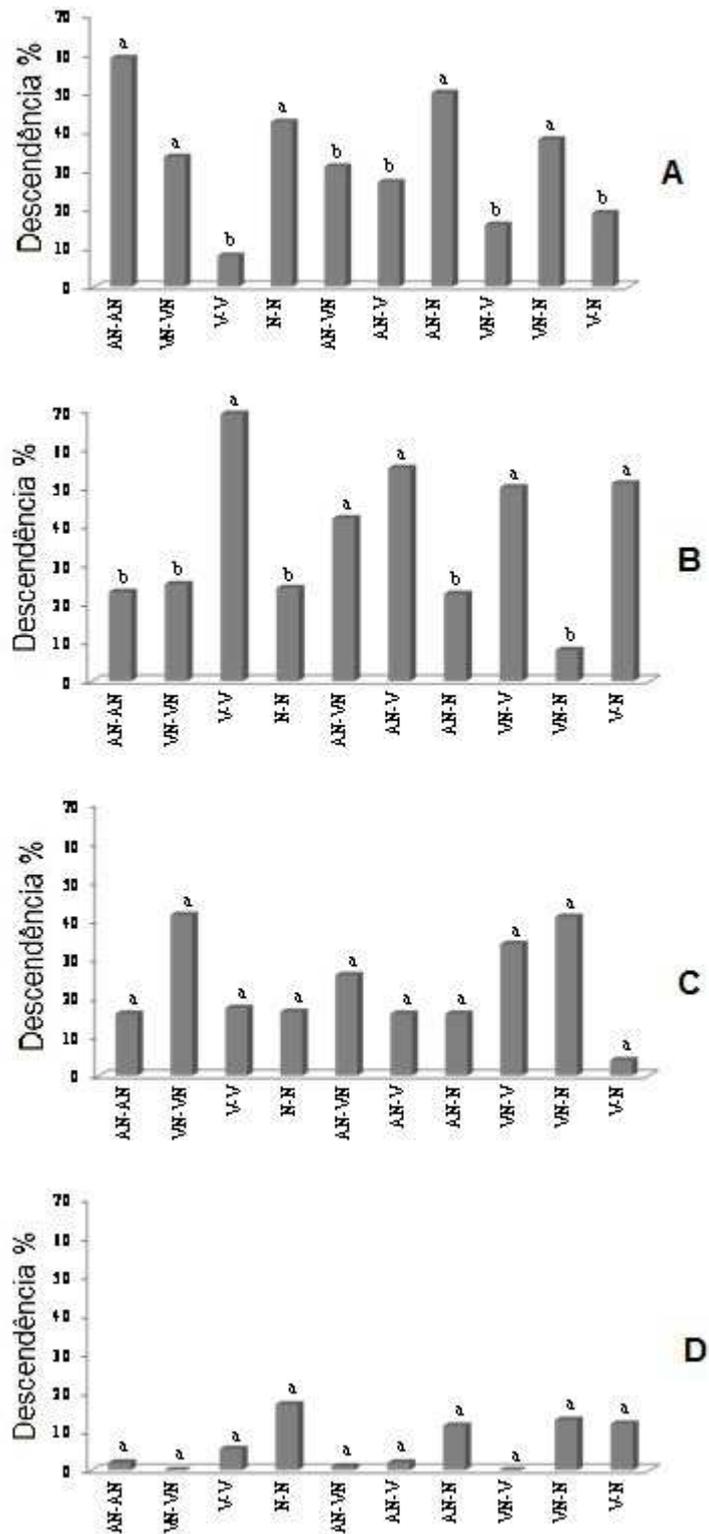


Figura 3 Porcentagem de cada padrão alar em todos os tratamentos, no qual: AN=Amarelo palha com manchas negras; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N= Totalmente negras. Lateral direita: A: AN; B: V; C: VN e D: N. Médias seguidas de mesma letra entre os cruzamentos não diferem significativamente pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$).

Tabela 1 Tipos de cruzamento em cada tratamento, número de casais (repetições) formados, total de ovos no estágio S4 e total de adultos obtidos (F1) para descrição dos padrões alares advindos com os diferentes cruzamentos de *M. spectabilis*, onde AN=Amarelo palha com manchas negras; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N= Totalmente negras.

Tratamento	Repetições	Ovos em S4	Adultos
1 (AN-AN)	33	1617	408
2(VN-VN)	11	410	14
3 (V-V)	30	817	94
4 (N-N)	7	555	55
5 (AN-VN)	23	659	109
6 (AN-V)	64	2585	451
7 (AN-N)	28	724	123
8 (VN-V)	25	757	44
9 (VN-N)	19	825	69
10 (V-N)	25	778	138

Tabela 2 Fertilidade em *M. spectabilis* (número de ovos/fêmeas) em função do padrão alar do macho ou da fêmea e teste de contraste fixando cada padrão alar e variando o sexo, onde AN=Amarelo palha com manchas negras; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N= Totalmente negras.

Fêmea		Macho	Média ovos	Fêmea		Macho	Média ovos
AN		AN, VN, V, N	76,87 a	AN, VN, V, N		AN	44,32 b
VN	X	AN, VN, V, N	53,18 a	AN, VN, V, N	X	VN	76,51 a
V		AN, VN, V, N	48,26 a	AN, VN, V, N		V	65,91 a
N		AN, VN, V, N	72,56 a	AN, VN, V, N		N	76,71 a
Teste de contraste							
Macho x Fêmea ovos	Média		Macho x Fêmea	Média ovos		F	P
AN - VN	19,92		VN - AN	96,60			
AN - V	39,47	X	V - AN	82,91		11,71	0,0007
AN - N	30,65		N - AN	74,73			
Macho x Fêmea ovos	Média		Macho x Fêmea	Média ovos		F	P
VN - V	73,00	X	V - VN	44,64		0,39	0,8429
VN - N	61,00		N - VN	98,50			
Macho x Fêmea ovos	Média		Macho x Fêmea	Média ovos		F	P
V - N	77,33	X	N - V	32,50		2,62	0,1069

3 VARIAÇÃO INTERESPECÍFICA ANALISADA COM MARCADORES MOLECULARES EM *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909)

3.1 RESUMO: A variabilidade quanto ao padrão de coloração da asa é uma característica de *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909), importante praga em forrageiras. Objetivou-se avaliar se há diferenças genéticas entre diferentes indivíduos de *M. spectabilis* coletados em diferentes locais e entre os diferentes padrões alares de um mesmo local ((AN) amarelo-palha com manchas negras, (VN) avermelhado com manchas negras, (V) totalmente avermelhada, (N) totalmente negra)), e entre esta espécie e dois grupos controle externo (*M. fimbriolata* e *M. tristis*). Adultos desses insetos foram coletados em três localidades do território nacional, individualizados e macerados em nitrogênio líquido. Posteriormente o DNA foi extraído com CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) e testado com marcadores moleculares. A presença ou ausência de bandas gerou uma tabela binária utilizada nos diversos tipos de análises (diversidade (índice Jaccard), componentes principais (PCA), variância molecular (AMOVA) e média aritmética de grupos de pares não ponderados (UPGMA)). Os marcadores geraram 27 marcas exclusivas entre as três espécies, nitidamente diferenciadas entre si, tanto nos gráficos quanto no dendrograma gerados pelas análises. Nota-se a ausência de diferenças perceptíveis com relação aos diferentes padrões alares de *M. spectabilis*. Diferenças entre indivíduos dessa espécie coletadas em diferentes locais foram perceptíveis, com maiores diferenças dentro do que entre as populações.

Palavras-Chave: Variabilidade genotípica. Variabilidade fenotípica. Marcadores moleculares. Cigarrinha-das-pastagens. Entomologia agrícola.

3.2 ABSTRAT: The variability in the pattern of wing coloring is a characteristic of *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909), an important pest in forages. The objective was to assess whether there are genetic differences between different individuals of *M. spectabilis* collected in different place and between different wings standards of one place ((AN) straw-yellow with black spots, (VN) red with black spots, (V) completely reddish, (N) completely black)), and between this species and two external control (*M. fimbriolata* and *M. tristis*). Adults of these insects were collected in three localities of the national territory, individualized and macerated in liquid nitrogen. Subsequently the DNA was extracted using a CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) and tested with molecular markers. The presence or absence of bands generated binary table used in various types of analyzes (diversity (Jaccard Index), principal components (PCA), molecular variance (AMOVA) and non-weighted arithmetic average of peer groups (UPGMA)). The markers generated 27 exclusive brands among the three species, clearly differentiated from each other, both in graphics and in the dendrogram generated by analysis. Note the absence of perceptible differences with regard to different standards of wings of *M. spectabilis*. Differences between individuals of that species collected at different sites were noticeable, with larger differences within than between populations.

Keywords: genotypic variability. Phenotypic variability. Molecular markers. Leafhopper-of-pastures. Agricultural entomology.

3.2 INTRODUÇÃO

Apesar de ser uma praga limitante, pouco ainda se sabe sobre o gênero *Mahanarva* (Cercopidae) quanto à identificação no âmbito da espécie, distribuição geográfica, variabilidade genética ou mesmo impacto econômico (PAULA-MORAES et al., 2006). Estudando a variação alar em diversas espécies de cigarrinhas, vários pesquisadores atribuem causas genéticas a essa característica (HUTCHINSON, 1963; FARISH, 1973; HALKKA, LALLUKA, 1969 *apud* Sá, 1981).

Populações de *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) também apresentam diferentes padrões de coloração das tégminas, dependendo da localização geográfica em que são encontradas, o que poderia sugerir um caso de isolamento genético (AUAD et al., 2010).

A utilização de estudos genéticos parte do pressuposto de que muitas características fenotípicas podem ter raízes genotípicas, permitindo uma identificação livre de fatores ambientais (FERREIRA, GRATTAPAGLIA, 1995; FALEIRO, 2007). Estudar essas variedades pode ser importante para a área de taxonomia, para análise de fatores bioecológicos e aspectos da distribuição geográfica, visando o conhecimento da cigarrinhas-das-pastagens, levando em consideração de que esses insetos são causadores de prejuízos econômicos (MORAES et al., 2006). Muitos autores inclusive apontam divergências evolutivas em populações de insetos de interesse econômico causadas por mudanças antrópicas (COLLUZZI et al., 1979; LOMÔNACO; GERMANOS, 2001; GREEN, 1980; NOIREAU et al., 1999).

Desse modo, objetivou-se com esse trabalho investigar se existem diferenças genéticas entre diferentes populações e diferentes padrões alares em *M. spectabilis*.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

No Laboratório de Entomologia da Embrapa Gado de Leite, espécimes de diferentes localidades e de cada padrão alar (conforme descrição de Auad et al., 2010), bem como os grupos de controle externo, conservados em álcool 70%, foram separados para as análises, totalizando 45 espécimes (repetições), 26 das quais foram efetivamente utilizadas no trabalho, com base na qualidade da resposta nos testes. Das amostras usadas, foram 12 indivíduos de Coronel Pacheco (MG) (3 de cada padrão alar), 7 de Sinop (MT) (2 indivíduos AN, 4 indivíduos VN, 1 indivíduo V), 1 de Brasília (DF) (padrão V). Também foram incluídos dois grupos de controle externo, compostos por três indivíduos da espécie *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854), coletados em Coronel Pacheco (MG) e três indivíduos da espécie *Mahanarva tristis* (Fabricius, 1803), coletada no estado do Pará.

Os apêndices (asas e pernas) e a cabeça foram extraídos de cada inseto com uma pinça. A parte restante foi transferida individualmente para tubos de Eppendorf e macerados com nitrogênio líquido. No Laboratório de Genética Molecular da Embrapa Gado de Leite o DNA foi extraído da parte residual com brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) de acordo com o protocolo de Ferreira & Grattapaglia (1995).

Foram selecionados 15 marcadores RAPD para a realização da genotipagem de todas as 26 amostras. Os produtos gerados foram separados por eletroforese em gel de agarose 2% e as imagens digitalizadas para posterior análise.

A presença ou ausência de bandas gerou uma tabela com dados binários (1 para presença e 0 para ausência de anelamento). Estes valores foram utilizados para a realização da análise de diversidade utilizando o índice de Jaccard, que mede o grau de similaridades entre amostras. Os valores obtidos com esse índice estão presentes em uma matriz de semelhança, na qual é possível analisar o grau de similaridade entre quaisquer amostras tomadas.

Uma análise de componentes principais foi realizada com os dados obtidos na matriz, gerando gráficos para avaliar as diferenças entre os

diferentes padrões alares e entre indivíduos coletados em diferentes localidades (oriundos de Coronel Pacheco (MG), Sinop (MT) e Brasília (DF)).

Os dados foram ainda submetidos a uma análise de variância molecular (AMOVA), gerando um gráfico tridimensional para avaliação das distâncias entre as três espécies de cigarrinhas amostradas. A matriz de similaridade foi utilizada ainda para realizar a análise de média aritmética de grupos de pares não ponderados (UPGMA), gerando um dendrograma com as três espécies (*M. spectabilis*, *M. fimbriolata* e *M. tristis*) de insetos envolvidas na avaliação.

Os 15 primers/marcadores (Tab. 3) utilizados geraram 103 bandas no gel, a partir das quais foram utilizadas na avaliação de semelhança e diferenças entre espécimes de diferentes padrões alares e localidades.

3.4 RESULTADOS

No total, 27 marcas exclusivas foram obtidas entre as três espécies (7 para *M. spectabilis*, 7 para *M. fimbriolata* e 13 para *M. tristis*), sendo que em *M. spectabilis*, excetuando-se o padrão VN, foi possível obter marcadores exclusivos para os diferentes padrões (4 para o padrão AN, 1 para o padrão V e 2 para o padrão N) (Tab. 3).

No gráfico gerado a partir da matriz de semelhança (Fig. 4) com análise de variância molecular (AMOVA), é possível perceber três agrupamentos nítidos entre as espécies avaliadas (*M. spectabilis*, *M. fimbriolata* e *M. tristis*).

Levando-se em consideração os diferentes padrões morfológicos de *M. spectabilis*, a análise de componentes principais (PCA) apontou para uma variação maior dentro de cada padrão (66%) do que entre os diferentes padrões (34%), demonstrando que não há paralelismo entre as diferenças fenotípicas e moleculares

Considerado-se apenas indivíduos de *M. spectabilis* de Coronel Pacheco (MG) e Sinop (MT), sem levar em consideração os diferentes padrões, e os resultados revelaram uma diferença maior dentro de cada amostra (90%) do que entre as amostras (10%).

O dendrograma permite uma melhor visualização do grau de aproximação entre os diferentes padrões alares em *M. spectabilis* (Fig. 5). Nele percebemos que o grupo externo (*M. tristis*) está realmente mais distanciado das outras

duas espécies (*M. fimbriolata* e *M. spectabilis*), mas dentro desta última, não existe qualquer tendência de agrupamento em relação a padrões alares semelhantes. Por outro lado existe uma clara tendência de agrupamento entre espécimes oriundos de localidades diferentes, embora não de forma tão clara. Os espécimes de Coronel Pacheco aparecem em dois ramos principais, com a população de Sinop bem delineada entre eles, dividindo um agrupamento com o único espécime de Brasília cuja qualidade da amostra o fez aparecer nos testes.

3.5 DISCUSSÃO

Dentro dos últimos anos as abordagens moleculares tornaram-se cada vez mais importantes para a biologia (HADRYN, 1992), contribuindo com informações que vão de estudos taxonômicos e dinâmica populacional até a detecção de resistência de insetos à métodos de controle químicos (CERUTI; LÁZZARI, 2003).

Sabe-se que a interferência humana no ambiente pode causar o surgimento e isolamento de variantes genéticas (COLUZZI et al., 1979), às vezes gerando padrões intrincados de adaptação (COLUZZI et al., 1979; LOMÔNACO; GERMANOS, 2001; NOIREAU et al., 1999; GREEN, 1980). Estudar essas variantes é importante porque possibilita a elaboração de modelos preditivos de trajetória evolutiva de populações naturais ou populações que precisam ser controladas para fins sanitários ou econômicos (LOMÔNACO; GERMANOS, 2001; NOIREAU et al., 1999). Em vista disso, parece altamente importante estudar esse aspecto em cigarrinhas-das-pastagens, que além de estarem sujeitas à influência antrópica, ainda representam importância econômica por se constituírem insetos praga.

Em concordância ao presente trabalho, o estudo de Auad et al., (2010), envolveu a análise de três espécies do gênero *Mahanarva* (*M. spectabilis*, *M. fimbriolata* e *M. liturata*), utilizando 29 primers RAPD e gerando 501 marcadores polimórficos, o que possibilitou a identificação de marcas exclusivos para cada uma das três espécies estudadas (6 para *M. spectabilis*, 8 para *M. fimbriolata* e 4 para *M. liturata*), além de uma marca exclusivo para

indivíduos de Presidente Prudente e Brasília (Auad et al., 2010). Ambos os trabalhos confirmaram que trata-se de três espécies distintas.

Além disso, a definição de marcas exclusivas para cada espécie é importante porque a identificação desses insetos é geralmente realizada através do tamanho, coloração e genitália do macho, caracteres passíveis de variabilidade fenotípica.

Porém, sugere-se cautela no sentido de inferir que tais marcas realmente são exclusivas dessas espécies e/ou dos diferentes padrões de *M. spectabilis*, como obtido no presente estudo. Ainda que tais marcas possam servir de referência a futuros trabalhos, estes são necessários antes que uma classificação definitiva seja padronizada.

Quando se analisou os diferentes padrões alares de *M. spectabilis*, não encontramos evidências de diferenciação a nível genético, um resultado que concorda com o de Moraes et al., (2006), que encontraram alta variabilidade entre as amostras de *M. spectabilis*, tanto a nível genético quanto morfológico, porém não conseguiram traçar um paralelo entre eles. Além disso, a variabilidade encontrada está dentro do esperado para diferentes populações de uma espécie. Em concordância, Auad et al., (2010), constataram não existe correlação entre variabilidade genética e morfológica.

Perondini et al., (1979 *apud* SÁ) encontraram variações cromáticas em *Zulia entreriana* e *Deois flavopicta* coletadas na Serra Negra (SP), e submeteu os espécimes a análises moleculares, encontrando relação positiva entre polimorfismo alar e enzimático, mas este é um caso raro. De modo geral, a literatura apresenta relatos em que ao se cruzar dados morfológicos e genéticos em cigarrinhas, encontra-se um paradoxo: enquanto o primeiro é muito variável, o segundo é bastante reduzido quando comparado ao outros insetos. E mesmo quando se analisa espécies em específico, a contradição persiste, como no caso de *D. flavopicta* do Mato Grosso do Sul e Goiás, onde se encontrou baixo polimorfismo alar e acentuada variabilidade enzimática. O mesmo se deu com populações de *Deois* estudadas em São Paulo (NEVO, 1978 *apud* SÁ, 1981) ou mesmo no estudo de Auad et al., (2010), em que populações fenotipicamente semelhantes apresentaram maior variabilidade genética do que as mais distintas, resultados que corroboram àqueles encontrados pelo presente estudo.

Diante dessa ausência de relação entre aspectos morfológicos e genéticos, em diversos trabalhos citados por SÁ (1981), os autores se dividem em hipóteses. Sugere-se que a morfologia esteja relacionada a fatores como latitude, temperatura, umidade (TAUBER et al., 1986), tipos de predadores e principalmente a espécie da planta parasitada. Para GERLING (2002), o uso de plantas hospedeiras, tanto quanto a distribuição geográfica, pode levar ao surgimento de divergências. Inclusive é sugerido que atividades agrícolas que oferecem vasta fonte de alimentação homogênea, associado à pressão de seleção do ambiente pelo uso descontrolado de inseticidas são fatores que contribuem para uma rápida especialização e posterior especiação dos insetos que se proliferam nesse meio.

Em nosso estudo, correlações geográficas foram observadas na medida em que espécimes de localidades diferentes foram quase completamente segregadas (Fig. 5), um resultado semelhante ao obtido por vários autores (BRENIÈRE et al., 1998; DUJARDIN et al., 1996; PÉREZ DE ROSAS et al., 2008; PICCINALI et al. 2009) que também encontraram correlações positivas entre distâncias geográficas e genéticas em insetos.

Porém, quando se analisou as diferenças dentro e entre espécimes de diferentes regiões, constatou-se uma relação inversa a que seria esperada, ou seja, a variabilidade genética foi maior dentro de cada amostra do que entre as amostras.

Sem recorrer a fatores do meio ambiente, a literatura também mostra como os resultados podem variar dependendo do tamanho da amostra, do tipo de espécie em questão e das técnicas utilizadas na avaliação. De acordo com Ridley (2009), resultados negativos podem surgir quando a área do genoma escolhida para se fazer os testes é muito pequena, o que diminui as probabilidades de ser encontrada por um marcador. Stearns et al., (1991) salientam que o tamanho da amostra para detectar diferenças estatisticamente significativas entre duas populações de uma espécie pode ser grande demais em termos práticos. Como fator complicador, as estimativas do quanto as amostras devem variar não apresentam valores universais tabelados, mas flutuam em diferentes níveis taxonômicos, além de poderem sofrer influência da idade do espécime analisado ou mesmo da parte do corpo do indivíduo que

é coletada para amostra, sendo necessários estudos variados para se determinar a melhor abordagem para cada grupo taxonômico.

Em muitos casos, o caráter que se está estudando é formado por diversos caracteres, cada um deles controlado por um gene específico (RAMALHO; SANTOS; PINTO, 2000) ou, pelo contrário, alguma característica altamente conspícua é controlada por apenas um gene (RIDLEY, 2009). Estes são alguns dos fatores que podem contribuir para um resultado negativo de comparação entre variedades presentes em uma mesma espécie, como foi o caso de nosso estudo. As pesquisas genéticas com cigarrinhas-das-pastagens são ainda muito incipientes para se afirmar que um resultado negativo seja devido a uma verdadeira ausência de correlação entre as variedades.

3.6 CONCLUSÃO

Diferentes padrões de coloração em tégminas de *M. spectabilis* não demonstraram diferenças.

3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUAD, A. M.; DOMINGUES, R; MACHADO; SOUZA, L.S.; CARVALHO, G.S; PAULA-MORAES, S.V. 2010. Genetic variability of *Mahanarva* sp (Hemiptera: Cercopidae) collected from different sites in Brazil. **Genetics and Molecular Research** v.9, n.2, p.1005-1010.

BRENIÈRE, S.F; BOSSE, N.,O.,M.,F.; VARGAS, F; YAKSIC, N; NOIREAU F; NOEL, S; DUJARDIN, J.,P.; TIBAYRENCL, M. 1998. Smallness of the panmictic unit of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Journal of Medical Entomology**, v.35, p.911–917.

CERUTI, F.C.; LÁZZARI, S.M.N. 2003. Utilização de bioensaios e marcadores moleculares para detecção da resistência de coleópteros de produtos armazenados a inseticidas. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.47, n.3, p.447-453.

COLUZZI, M., SABATIN, P., PETRARCA, V., DECO, M.A. 1979. Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. **Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene** v.73, p.5.

DUJARDIN, J.P. 1996. Biosistemática, tendencias adaptativas y definición de poblaciones blanco. In: Schofield, C.J.; Dujardin, J.P.; Jurberg, J., editors. Proceedings of the International Workshop on Population Biology and Control of Triatominae. Mexico: INDRE, Cdad. de Mexico; p. 97-98.

FALEIRO, F.G. 2007. **Marcadores genético-moleculares aplicados aos programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Circular Técnica: Embrapa Cerrados, Brasília.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. 1995. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2a. ed. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN, 220 pp.

- GERLING, D. 2002. Una reinterpretación sobre las moscas blancas. **Manejo Integrado de Plagas** v.63, p.13-21.
- GREEN, C.A., HUNT, R.H. 1980. Interpretation of variation in ovarian polytene chromosomes of *Anopheles funestus* Giles, *An. parensis* and *An. aruni*. **Genetics**, v.51, p.187-195.
- HADRYIS, H., BALICK, M., SCHUERWATER, B. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. **Molecular Ecology** v.1, p.55-63.
- LOMÔNACO, C., GERMANOS, E. 2001. Variações fenotípicas em *Musca domestica* L. (Diptera: muscidae) em resposta à competição larval por alimento. **Neotropical Entomology**, v.30, p.223-231.
- MORAES, S. V.; FALEIRO, F. G. B. G.; JUNQUEIRA, K. P.; CARVALHO, G. S.; RAMOS, A. K. B.; AUAD, A. M.; OLIVEIRA, C. M. 2006. **Variabilidade genética molecular e morfológica de “*Mahanarva spectabilis*” (Distant, 1909) em duas pastagens no cerrado**. 43º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 24 a 27 de julho de 2006, João Pessoa – PR.
- NOIREAU, F.; ZEGARRA, M.; ORDOÑEZ, J.; GUTIERREZ, T.; DUJARDIN, J.P. 1999. Genetic Structure of *Triatoma sordid* (Hemiptera: Reduviidae) Domestic Populations from Bolivia: Application on Control Interventions. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.94, n.3, p.347-351.
- PAULA-MORAES, S.V.; FALEIRO, F.G.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, K.P.; CARVALHO, G.S.; AUAD, A.M. 2006. **Metodologia de Coleta de Amostras, Extração de DNA e Obtenção de Marcadores Moleculares para Estudos de *Mahanarva spectabilis***. Boletim Técnico, 161, Embrapa Cerrados: Brasília.
- PÉREZ DE ROSAS, A.,R; SEGURA, E.,L; FICHERA, L; GARCÍA, B., A. 2008. Macrogeographic and microgeographic genetic structure of the Chagas' disease vector *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Catamarca, Argentina. **Genetica**, v.133, p.247–260.
- PICCINALI, R.V.; MARCET, P.L.; NOIREAU, F.; KITRON, U.; GÜRTLER, R.E.; DOTSON, E.M. 2009. Molecular Population Genetics and Phylogeography of the Chagas Disease Vector *Triatoma infestans* in South America. **Journal Medical Entomology**, v.46, n.4, p.796–809.
- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. 2000. **Genética na Agropecuária**. UFLA: Lavras-MG.
- RIDLEY, M. 2009. Darwins modernos. **National Geographic** v.107, p.56-71.
- SÁ, A. N. 1981. **Cigarrinhas das pastagens (Homoptera, cercopidae): distribuição geográfica e variabilidade genética**. Tese apresentada a Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

STEARNS, S. C., JONG, G.; NEWMAN, R. 1991. The effects of phenotypic plasticity on genetic correlations. **Trends in Ecology & Evolution**, v.6, p.122-126.

TAUBER, J.M.; TAUBER, A.C.; MASAKI, S. 1986. Insect Adaptation to Environmental Change. **Oxford University Press**, New York.

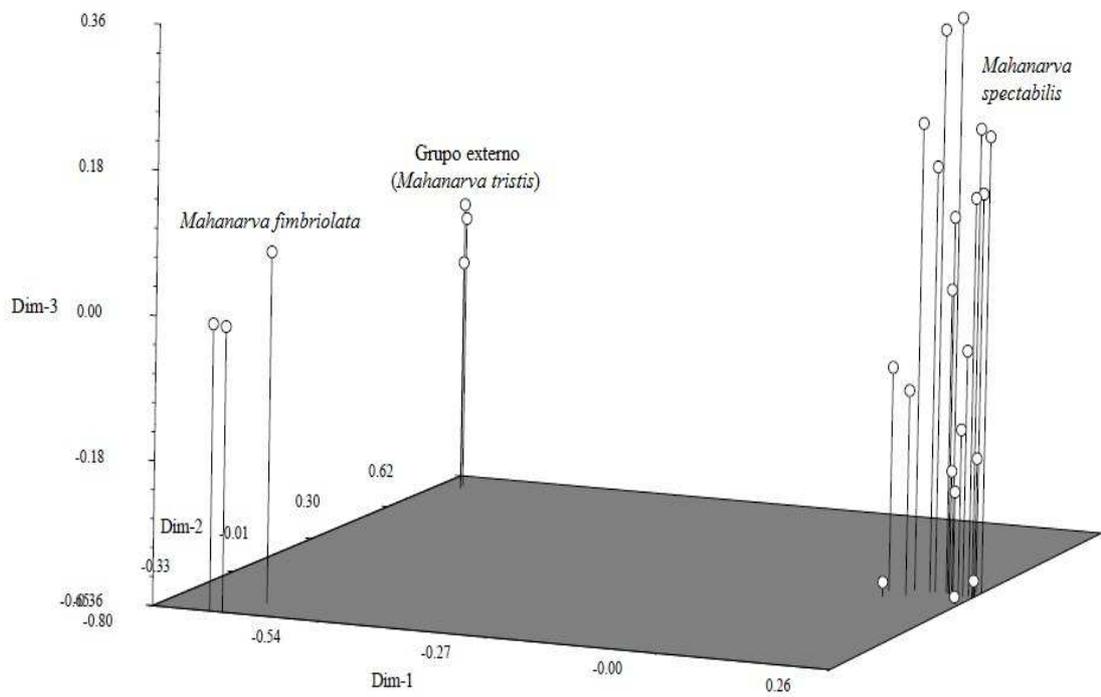


Figura 4 Gráfico em três eixos ilustrando a distribuição espacial das amostras, cada ponto representando um espécime avaliado.

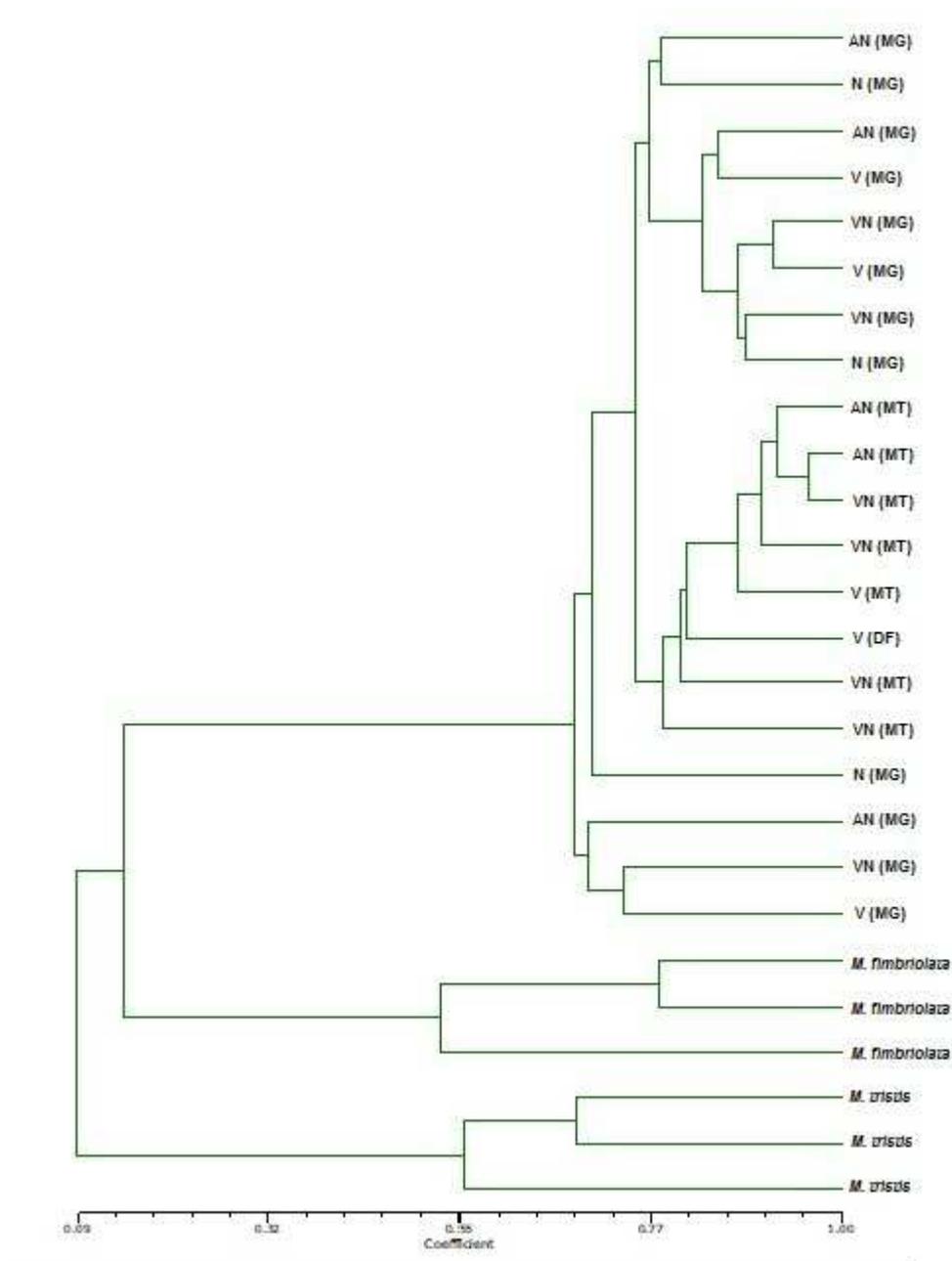


Figura 5 Distâncias genéticas entre as diferentes espécies de cigarrinhas e diferentes padrões (de diferentes localidades) de *M. spectabilis*, onde AN=Amarelo palha com manchas negras; VN=Avermelhado com manchas negras; V=Totalmente avermelhada e N= Totalmente negras.

Tabela 3 Marcas exclusivas encontrados nas três espécies de cigarrinhas estudadas (*M. spectabilis*, *M. fimbriolata* e *M. tristis*).

Espécie		Marcador RAPD	tamanho do fragmento (por pares de bases)
<i>M. spectabilis</i>	padrão AN	A16	1400
		D8	1400
		E4	1800
		E18	1590
	padrão V	G10	450
	padrão N	A16	2000
		G10	1400
<i>M. fimbriolata</i>		A13	1400
		B1	1800
		B7	500
		D8	800
		E4	550
		F1	1190
		E18	800
<i>M. tristis</i>		A16	500
		A16	1900
		B6	1600
		B20	580
		B20	1100
		E4	800
		E11	1590
		G8	800
		G8	870
		G8	1390
		G11	1200
		G17	550
		G17	650

