

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

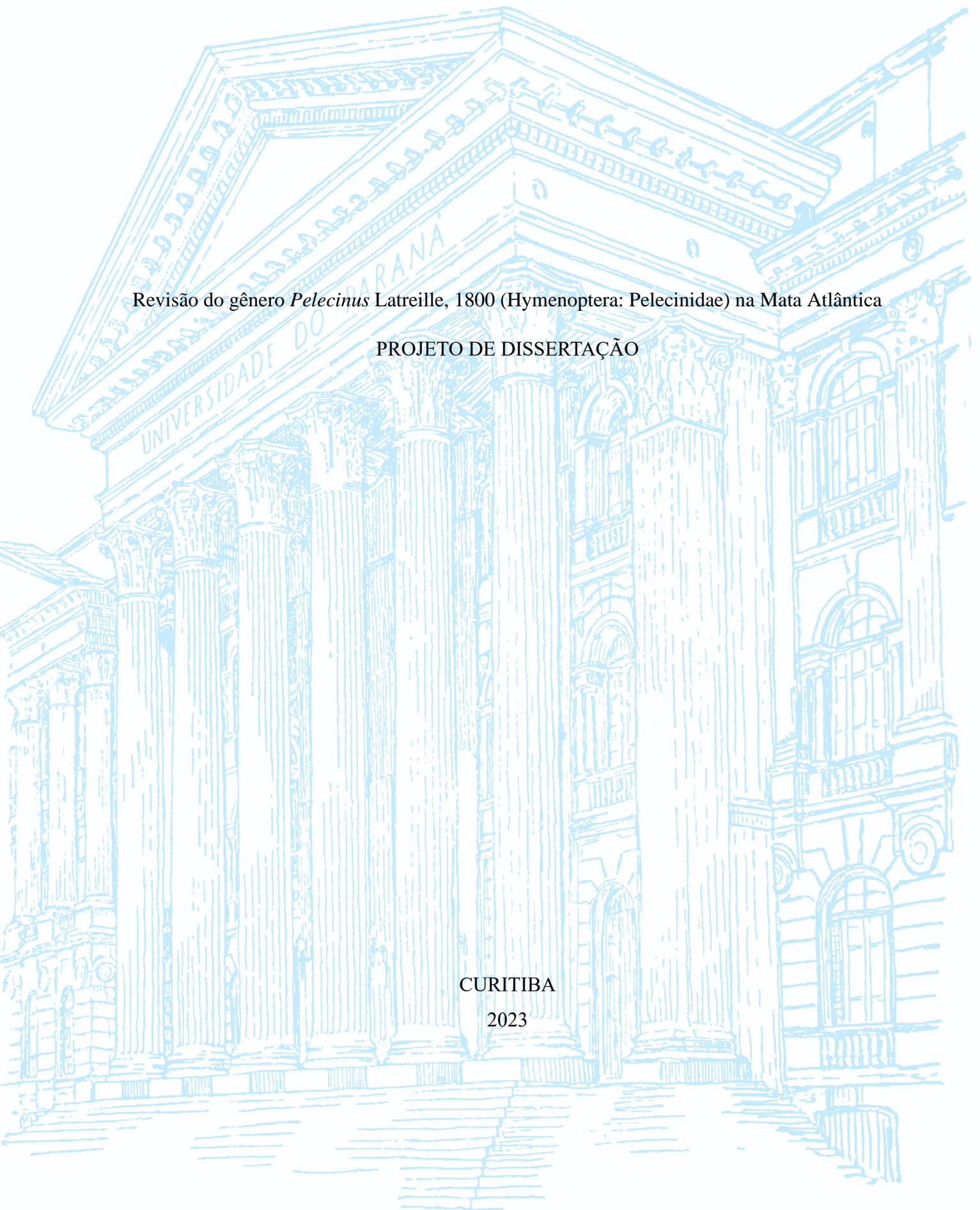
ALLAN GABRIEL CÂNDIDO DE OLIVEIRA

Revisão do gênero *Pelecinius* Latreille, 1800 (Hymenoptera: Peleciniidae) na Mata Atlântica

PROJETO DE DISSERTAÇÃO

CURITIBA

2023



Introdução

A família Pelecinidae Haliday, 1840 está representada atualmente por um único gênero, *Pelecinus* Latreille, contudo seu registro fóssil é diverso (Shih *et al.* 2010; Jouault 2021). As vespas desta família podem ser diferenciadas dos demais representantes de Hymenoptera por serem grandes (20–90 mm) e possuírem um metassoma longo e fino, com segmentos alongados e não telescopados (Mason 1984; Goulet & Huber, 1993; Souza *et al.* 2020). Segundo Johnson & Musetti (1999), o gênero *Pelecinus* tem sua ocorrência restrita às Américas, onde três espécies são reconhecidas: *Pelecinus polyturator* (Drury, 1773), do norte da Argentina até o Canadá; *Pelecinus dichrous* Perty, 1883, do norte da Argentina, Uruguai, Paraguai e sudeste do Brasil; *Pelecinus thoracicus* Klug, 1841, restrito ao México. O grupo apresenta um dimorfismo sexual, onde as fêmeas são maiores e possuem o metassoma longo e fino, já os machos são menores e possuem o metassoma mais curto, com seu ápice clavado (Johnson & Musetti 1999). Todavia, pouco se sabe sobre a biologia de *Pelecinus* como um todo, sendo os estudos restritos à *Pelecinus polyturator* e concentrados na região Neártica.

Com relação ao seu hábito de vida, as vespas do gênero *Pelecinus* são parasitoides cenobiontes, com relatos de *P. polyturator* parasitando larvas de besouros do gênero *Phyllophaga* Harris, 1827, por meio da inserção do seu metassoma extremamente especializado no solo (Lim *et al.* 1980; Mason 1984; Bennett 2003). Brues (1928) constatou que *P. polyturator* apresenta um fenômeno conhecido como partenogênese geográfica, onde na região Neártica a espécie se reproduz primariamente por telitoquia, onde as fêmeas são geradas por partenogênese, sendo assim a proporção de machos imensamente inferior à de fêmeas, fazendo com que espécimes machos sejam de difícil coleta na região. Contudo, nas regiões mais ao sul este fenômeno não é observado e a proporção de machos e fêmeas de *P. polyturator* é quase a mesma. Ainda relacionado à biologia da mesma espécie: Lim *et al.* (1980) descreve os estágios de pupa e pré-pupa; Mason (1984) descreve a estrutura e movimento do abdômen da fêmea; Aguiar (1997) descreve o comportamento de acasalamento de um casal; Johnson *et al.* (1999) descreve a larva, anteriormente desconhecida; Bennett (2003) descreve o comportamento de localização de hospedeiro.

O gênero foi revisado por Johnson & Musetti (1999), onde os autores reconhecem as três espécies citadas anteriormente para o gênero (*P. polyturator*, *P. dichrous* e *P. thoracicus*), transformando em sinônimos júniores os diversos nomes disponíveis dentro do grupo. Os autores apresentam também informações sobre uma grande variabilidade morfológica dentro das espécies, principalmente naquela com maior distribuição geográfica, *P. polyturator*, possuindo grande variação no tamanho corporal e no padrão de coloração das estruturas corporais. Segundo eles, essa grande variação presente no grupo teria levado à proposição dos diversos nomes até então descritos para as

mesmas espécies, que foram sinonimizadas com esse trabalho. Contudo, vale ressaltar que o estudo se utilizou apenas de caracteres morfológicos para as análises taxonômicas.

No Brasil, *P. polyturator* é comum em áreas de Mata Atlântica e, em menor quantidade na Amazônia, sendo raros os registros em outros biomas (Melo *et al.* 2012). Lara & Perioto (2014) realizaram um estudo de sazonalidade de coleta de *P. polyturator* em fragmentos de Mata Atlântica no estado de São Paulo, onde demonstraram que a espécie é considerada abundante e comum de ser amostrada nesses habitats, sendo coletada com mais frequência entre novembro e março.

Justificativa

Apesar de ser um grupo usualmente coletado dentro de amostragens em fragmentos de Mata Atlântica, pouco se sabe sobre as vespas do gênero *Pelecinus* desse bioma, sendo assim, um estudo taxonômico atual para a fauna de *Pelecinus* da Mata Atlântica é de extrema importância. A revisão de Johnson & Musetti (1999) relatou uma enorme variação morfológica dentro do grupo, especialmente para os indivíduos da América do Sul, o que reflete em uma variedade de nomes disponíveis para as espécies de *Pelecinus*. Portanto, se torna necessário um estudo que teste as hipóteses desses nomes disponíveis, por meio da utilização tanto de caracteres morfológicos quanto moleculares, mediante uma abordagem taxonômica mais integrativa, para que assim seja possível uma melhor compreensão da diversidade de *Pelecinus* da Mata Atlântica.

De fato, uma abordagem que junte diferentes conjuntos de caracteres, neste caso morfológicos e moleculares, é de extrema importância uma vez que vai de acordo com a linha integrativa da taxonomia, a qual é necessária para o estudo da diversidade biológica (Dayrat, 2004; Goulding & Dayrat, 2016). As informações provenientes dos dados moleculares, juntamente com os dados morfológicos, auxiliam na descoberta e delimitação das espécies (Padial *et al.* 2010; Schlick-Steiner *et al.* 2010). Com relação à grande variação morfológica apresentada para o grupo, a adição de caracteres moleculares pode servir de suporte quando as variações nos caracteres morfológicos se sobrepuserem, trazendo assim outro conjunto de evidências para a delimitação de espécies (Will *et al.* 2005). Neste caso, a análise molecular pode ajudar durante o teste de hipótese para os nomes disponíveis para *Pelecinus*, por meio da identificação de grupos monofiléticos de espécimes e potenciais espécies candidatas não confirmadas (Unconfirmed Candidate Species), que poderão ser analisados morfológicamente para avaliar se os dois conjuntos de caracteres são congruentes ou não, enriquecendo assim a prática taxonômica (Padial *et al.* 2010).

Objetivo

- Analisar a diversidade de espécies de *Pelecinus* Latreille, 1800 na porção sul da Mata Atlântica;
 - Realizar uma análise morfológica extensiva, descrevendo as variações presentes nos exemplares de *Pelecinus* coletados na Mata Atlântica;
 - Obter dados moleculares para o gênero *Pelecinus*;
 - Testar as hipóteses dos nomes disponíveis para *Pelecinus* por meio de uma análise integrativa de caracteres morfológicos e moleculares.

Material e Métodos

- **Área de estudo**

A Mata Atlântica é a segunda maior floresta pluvial tropical das américas, é considerada um dos *hotspots* mundiais de biodiversidade e abriga cerca de oito mil espécies endêmicas de animais e plantas (Myers *et al.* 2000). Contudo, o bioma se encontra altamente ameaçado pelas ações antrópicas, restando menos de 10% de sua cobertura original (Franke *et al.* 2005). O bioma apresenta formações florestais diversas, como a floresta ombrófila mista, a floresta ombrófila densa, restinga e manguezal (Ribeiro *et al.* 2009). Mesmo que os projetos de conservação tenham aumentado durante as últimas décadas, eles ainda são insuficientes para garantir a conservação efetiva da biodiversidade da Mata Atlântica (Tabarelli *et al.* 2005). Tendo em vista isso, o recorte espacial do projeto será a região Sul da Mata Atlântica, abarcando os estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Essa limitação será realizada pelo fato de que os indivíduos de *Pelecinus* serem registrados em maior abundância relativa nessas localidades se comparado às outras regiões (GBIF, 2022).

- **Coleta de material**

No estado do Paraná, os parques estaduais escolhidos para serem inventariados à procura do grupo de interesse para o estudo serão: Parque Estadual das Lauráceas; Parque Estadual de Vila Velha; Parque Estadual Pico do Marumbi e Parque Estadual do Palmito. Os materiais biológicos coletados serão exemplares de vespas pertencentes à espécie *Pelecinus polyturator*. Após o reconhecimento do parque, localidades de coleta dentro do mesmo serão elegidas, a fim de maximizar as chances de coleta do material. Serão escolhidas trilhas para serem percorridas e realizadas coletas ativas com redes entomológicas por uma duração padronizada. Além das trilhas, serão escolhidos pontos para realização de coleta passiva por meio da armadilha de interceptação de voo Malaise. Após as coletas,

os materiais serão triados e posteriormente depositados na Coleção Entomológica Padre Jesus Santiago Moure (DZUP), localizada na Universidade Federal do Paraná (UFPR).

- **Análise morfológica**

Os espécimes a serem analisados serão aqueles depositados na Coleção Entomológica Pe. Jesus Santiago Moure (DZUP), com eventuais empréstimos de outras instituições ao decorrer do projeto. Além disso, serão realizadas coletas em fragmentos de Mata Atlântica para complementar o material de pesquisa. Os indivíduos serão triados e analisados segundo a chave proposta por Johnson & Musetti (1999), por meio da utilização de microscópio estereoscópico no Laboratório de Biologia Comparada de Hymenoptera (UFPR). A terminologia geral para a morfologia seguirá Huber & Sharkey (1993) e Johnson & Musetti (1999). Todos os exemplares serão analisados com intuito de procurar os caracteres diagnósticos das espécies e as variações em seus estados, especialmente nos citados por Johnson & Musetti (1999) e nas descrições originais das espécies; além disso, será feita uma busca por caracteres adicionais. Os caracteres e suas variações serão documentados, assim como os possíveis novos caracteres. Para a busca de caracteres de tamanho diminuto, como a esculturação do integumento, se utilizará da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), realizando-se testes tanto em alto, quanto baixo vácuo para verificar qual pode gerar melhores imagens da característica em questão. Se investigará a localização dos materiais-tipo dos nomes disponíveis para *Pelecinius*, os quais a maior parte se encontra perdido, e tentará conseguir registros de imagens dos mesmos.

- **Análise Molecular**

A obtenção dos caracteres moleculares seguirá a metodologia de “DNA Barcoding” proposta por Hebert *et al.* (2003). Primeiramente se realizará a obtenção do material genético, dos exemplares depositados em museu e coletados em amostragens recentes, por meio da obtenção do tecido de interesse e posterior extração do DNA, seguindo um protocolo que se utiliza de beads magnéticas. A metodologia de amplificação dos fragmentos de DNA será realizada por meio de Reações em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando-se do gene mitocondrial Citocromo c Oxidase subunidade I (COI), como marcador. Os resultados da PCR passarão por uma inspeção, através da técnica de Eletroforese em Gel de Agarose, para analisar se o produto foi gerado com sucesso. Depois disso, as amostras serão purificadas e enviadas para sequenciamento convencional (método de Sanger). Os cromatogramas resultantes do sequenciamento serão observados, editados e analisados em softwares especializados, para que assim as inferências taxonômicas possam ser feitas.

Custos do Projeto

Tabela 1. Previsão orçamentária para o projeto.

Atividade	Despesas	Valor estimado
Visita a coleções	Transporte, alimentação e estadia	R\$3000
Obtenção de dados moleculares	Reagentes para a extração, PCR, eletroforese e sequenciamento	R\$3000
Coletas	Transporte	R\$1000
Total	Atividades totais	R\$7000*

*Todos os recursos financeiros para a elaboração do projeto serão custeados pelo Laboratório de Biologia Comparada de Hymenoptera, bem como por eventuais auxílios obtidos diretamente junto ao Programa de Entomologia.

Cronograma de execução

Tabela 2. Cronograma das atividades a serem desenvolvidas no projeto.

Atividades	Período
Revisão da bibliografia disponível para <i>Pelecinus</i>	03/2023 até 08/2023
Análise da distribuição dos caracteres relacionados na literatura e busca de novos, com documentação	03/2023 até 01/2024
Organização de banco de dados com distribuição georreferenciada dos exemplares, construção de mapas e análise dos padrões de distribuição	10/2023 até 01/2024
Realização de coletas	11/2023 até 03/2024
Visita à coleção entomológica externa	10/2023 até 05/2024
Obtenção dos dados moleculares	03/2024 até 09/2024
Análise dos dados moleculares	03/2024 até 09/2024
Elaboração da dissertação de Mestrado	03/2023 até 03/2025

Referências Bibliográficas

AGUIAR, A. P. Mating behavior of *Pelecinius polyturator* (Hymenoptera: Pelecinidae).

Entomological News, v. 108, n. 2, p. 117–121, 1997.

BENNETT, A. M. Host location behaviour in *Pelecinius polyturator* (Hymenoptera: Pelecinidae).

Journal of the Entomological Society of Ontario, v. 134, p. 131–134, 2003.

BREMER, K.; BREMER, B.; KARIS, P.; KAELLERSJOE, M. Time for change in taxonomy.

Nature, v. 343, p. 202–202, 1990. Springer.

BRUES, C. T. A note on the genus *Pelecinius*. **Psyche**, v. 35, n. 4, p. 205–209, 1928. Hindawi.

DAYRAT, B. Towards integrative taxonomy: INTEGRATIVE TAXONOMY. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 85, n. 3, p. 407–415, 2005.

DE CARVALHO, M. R.; BOCKMANN, F. A.; AMORIM, D. S.; et al. Taxonomic Impediment or Impediment to Taxonomy? A Commentary on Systematics and the Cybertaxonomic-Automation Paradigm. **Evolutionary Biology**, v. 34, n. 3–4, p. 140–143, 2007.

FRANKE, C. R.; ROCHA, P. L. B. DA; KLEIN, W.; GOMES, S. L. Mata Atlântica e biodiversidade, 2005. EDUFBA.

GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY (GBIF). *Pelecinius* Latreille, 1800 in GBIF Secretariat (2022). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset. Disponível em: <https://doi.org/10.15468/39omei>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2023.

GOULDING, T. C.; DAYRAT, B. Integrative taxonomy: ten years of practice and looking into the future. **Аспекты биоразнообразия**. p.116–133, 2016.

GOULET, H.; HUBER, J. T.; CANADA (ORGS.). **Hymenoptera of the world: an identification guide to families**. Ottawa, Ontario: Centre for Land and Biological Resources Research, 1993.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313–321, 2003.

HORTAL, J.; DE BELLO, F.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; et al. Seven Shortfalls that Beset Large-Scale Knowledge of Biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 46, n. 1, p. 523–549, 2015.

HUBER J; SHARKEY MJ. Chapter 3. Structure. In: Goulet H.; Huber J. T. (eds.) **Hymenoptera of the world: an identification guide to families**. Agriculture Canada Publication, Ottawa. pp. 13–59. 1993.

JOHNSON, N. F.; MUSETTI, L. Revision of the proctotrupoid genus *Pelecinus* Latreille (Hymenoptera: Pelecinidae). **Journal of Natural History**, v. 33, n. 10, p. 1513–1543, 1999.

JOHNSON, N. F.; MUSETTI, L.; JOHNSON, J. B.; KATOVICH, K. The larva of *Pelecinus polyturator* (Drury) (Hymenoptera: Pelecinidae). **Entomological Society of Washington (USA)**, 1999.

JOUAULT, C. Mid-Cretaceous Burmese amber peleciniid wasps (Hymenoptera, Pelecinidae) support the hypothesis of an Asian origin of the family. **Annales de Paléontologie**, v. 107, n. 1, p. 102464, 2021.

LARA, R. I. R.; PERIOTO, N. W. Seasonality of *Pelecinus polyturator* (Drury) (Hymenoptera, Pelecinidae) in the Atlantic Rainforest of São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, n. 1, p. 63–65, 2014.

LIM, K. P.; YULE, W. N.; STEWART, R. K. A note on *Pelecinus polyturator* (Hymenoptera: Pelecinidae), a parasite of *Phyllophaga anxia* (Coleoptera: Scarabaeidae). **The Canadian Entomologist**, v. 112, n. 2, p. 219–220, 1980.

MASON, W. R. M. Structure and movement of the abdomen of female *Pelecinus polyturator* (Hymenoptera: Pelecinidae). **The Canadian Entomologist**, v. 116, n. 3, p. 419–426, 1984.

MELO, G. A. R.; AGUIAR A. P.; GARCETE-BARRET B.R. Hymenoptera. In: J. A. Rafael, G. A. R. Melo, S. A. Casari, and R. Constantino (Eds), **Insetos do Brasil - Diversidade e Taxonomia**. Holos, Ribeirão Preto, pp. 553–612, 2012.

- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853–858, 2000.
- PADIAL, J. M.; MIRALLES, A.; DE LA RIVA, I.; VENCES, M. The integrative future of taxonomy. **Frontiers in Zoology**, v. 7, n. 1, p. 16, 2010.
- RAPOSO, M. A.; STOPIGLIA, R.; BRITO, G. R. R.; et al. What really hampers taxonomy and conservation? A riposte to Garnett and Christidis (2017). **Zootaxa**, v. 4317, n. 1, p. 179, 2017.
- RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141–1153, 2009.
- SCHLICK-STEINER, B. C.; STEINER, F. M.; SEIFERT, B.; et al. Integrative Taxonomy: A Multisource Approach to Exploring Biodiversity. **Annual Review of Entomology**, v. 55, n. 1, p. 421–438, 2010.
- SHIH, C.; FENG, H.; LIU, C.; ZHAO, Y.; REN, D. Morphology, Phylogeny, Evolution, and Dispersal of Pelecinid Wasps (Hymenoptera: Pelecinidae) Over 165 Million Years. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 103, n. 6, p. 875–885, 2010.
- SOUSA, A. F. A.; NASCIMENTO, A. C.; TAVARES, M.; FERNANDES, D. R. R. New records of *Pelecinus polyturator* (Drury) (Hymenoptera: Proctotrupoidea: Pelecinidae) for Brazil. **REVISTA CHILENA DE ENTOMOLOGÍA**, v. 46, n. 4, p. 739–743, 2020.
- TABARELLI, M.; PINTO, L. P.; SILVA, J. M. C.; HIROTA, M. M.; BEDÊ, L. C. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 132–138, 2005. Belo Horizonte.
- WILL, K. W.; MISHLER, B. D.; WHEELER, Q. D. The Perils of DNA Barcoding and the Need for Integrative Taxonomy. (V. Savolainen, Org.) **Systematic Biology**, v. 54, n. 5, p. 844–851, 2005.