



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Projeto de Pesquisa

Título de Projeto: Sistemática, Evolução e Biogeografia de Auchenorrhyncha (Hemiptera)

Profa. Dra. Andressa Paladini (Coordenadora do Projeto)

Curitiba, Dezembro de 2025

SUMÁRIO

1 RESUMO.....	4
2. INTRODUÇÃO.....	4
2.1 Sistemática e filogenia de Cercopoidea.....	5
2.2 Morfometria geométrica como ferramenta auxiliar em estudos taxonômicos.....	7
2.3 Biogeografia para a compreensão da origem e evolução dos grupos.....	7
2.4 Modelagem de Nicho Ecológico.....	8
3. OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICO.....	8
4. METODOLOGIA PROPOSTA.....	9
4.1 Material para estudo.....	9
4.2 Trabalhos de campo.....	10
4.3 Montagem e estudo dos espécimes.....	10
4.4 Levantamento de caracteres morfológicos e análise filogenética.....	11
4.5 Levantamento de caracteres moleculares e análise filogenética.....	11
4.6 Morfometria Geométrica.....	12
4.7 Associação de estágios adultos e imaturos.....	13
4.8 Análises Biogeográficas.....	14
4.9 Modelagem de Nicho Ecológico.....	14

5. RESULTADOS ESPERADOS.....	16
5.1 Parcerias de pesquisa.....	16
5.2 Equipe participante.....	17
5.3 Resultados e/ou impactos esperados.....	17
6. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO.....	17
7. ORÇAMENTO.....	18
8. INFRAESTRUTURA DISPONÍVEL.....	19
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

1. RESUMO

Os Auchenorrhyncha são conhecidos popularmente como cigarras, cigarrinhas e soldadinhos. Alimentam-se principalmente da seiva de plantas e a maioria está associada às angiospermas. Os insetos incluídos em Cercopoidea compreendem aproximadamente 3000 espécies descritas, alocadas em 320 gêneros, 34 tribos e cinco famílias: Cercopidae, Aphrophoridae, Machaerotidae e Epygidae com distribuição mundial sendo a maior riqueza de diversidade encontrada na zona tropical do novo mundo. O presente projeto de pesquisa tem como objetivo a taxonomia, análise filogenética e biogeografia de Auchenorrhyncha com ênfase em gêneros de Cercopidae Neotropicais além de, uma tentativa de associação de adultos com as ninfas das famílias Aphrophoridae e Epygidae bem como a utilização da morfometria geométrica como ferramenta auxiliar em estudos taxonômicos. De acordo com esse projeto de pesquisa, estudos taxonômicos enfocando a família Cercopidae serão realizados, visando à descrição de táxons desconhecidos e a realização de coletas no estado do Paraná, incorporação do material na coleção, além da formação de pessoal qualificado na taxonomia desse grupo.

2. INTRODUÇÃO

Os Auchenorrhyncha são conhecidos popularmente como cigarras, cigarrinhas e soldadinhos. Alimentam-se principalmente da seiva de plantas e a maioria está associada às angiospermas. Há aproximadamente 25 mil espécies descritas mundialmente, mas estima-se a existência de 40 mil. Por falta de estudos que envolvam a fauna brasileira, não há uma estimativa do número de espécies ocorrentes no Brasil. Os insetos incluídos em Cercopoidea (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cicadomorpha) compreendem aproximadamente 3000 espécies descritas, alocadas em 320 gêneros, 34 tribos e cinco famílias: Cercopidae, Aphrophoridae, Machaerotidae e Epygidae (Carvalho & Webb, 2005) com distribuição mundial sendo a maior riqueza de diversidade encontrada na zona tropical do novo mundo. Muitas espécies são altamente específicas quanto ao ambiente e planta hospedeira e são, por sua vez, indicadores da diversidade ecológica nos habitats das florestas tropicais (Adis & Schubert, 1984) e campos temperados (Panzer et al., 1995; Arenz & Joern, 1996). Estas cigarrinhas são conhecidas em inglês com o nome popular de *froghoppers* ou mais comumente *spittlebugs*. O último nome se deve ao hábito que as ninfas destes insetos têm

de produzir uma substância com uma textura semelhante ao cuspe, composta de excesso de seiva eliminada pelo sistema digestório, suplementada por polissacarídeos e proteínas produzidas pelos túbulos-de-Malpighi e bolhas de ar, dentro da qual completam seu desenvolvimento (Rakitov, 2002). Estas massas de espuma das ninfas de Cercopoidea podem estar localizadas nas partes aéreas das plantas, próximas a raízes ou mesmo abaixo do solo (comunicação pessoal).

Todas as espécies de Cercopoidae se alimentam sugando a seiva do xilema e muitas espécies tem uma forte preferência por vegetais fixadores de nitrogênio (Thompson, 1994), por este motivo, estes insetos podem vir a causar severos danos econômicos, principalmente em pastagens e na cana-de-açúcar (Carvalho & Webb, 2005). Os danos causados pelos cercopoídeos são menos óbvios do que os de outros insetos pragas (gafanhotos, besouros, lagartas de mariposas) sendo este dano muitas vezes subestimado (Koszstarab et. al. 1990). Por exemplo, na América Central, a espécie de Cercopidae, *Aeneolamia posticata* foi identificada como uma das principais pragas da cana-de-açúcar, milho e arroz. Os danos físicos mais comumente observados são a interferência no crescimento da planta devido à remoção excessiva de líquidos e nutrientes, deformação das folhas sementes e frutos devido aos danos causados ao tecido vegetal durante o processo de alimentação (Carvalho & Webb, 2005). Os Auchenorrhyncha, subordem na qual os Cercopoidea estão incluídos, surgiram há aproximadamente 230 milhões de anos (Shcherbakov, 1996) e sua diversificação coincide com o surgimento das angiospermas e separação da Pangea, justificando o grande potencial em utilizar esse grupo para estudos de coevolução planta hospedeira-herbívoros e biogeografia. A superfamília Cercopoidea aparece nos registros fósseis durante o Jurássico, com subsequente diversificação durante o Cretáceo e Terciário (Bekker-Migdisova, 1962). Conhece-se relativamente pouco sobre a biodiversidade dos Cercopoidea, existem estimativas de que menos do que 20% de suas espécies foram descritas (Koszstarab et al., 1990); tomamos por exemplo, a família Clastopteridae onde somente 16 espécies de um único gênero (*Clastoptera*) são registradas para o Brasil. Das espécies conhecidas pela ciência, menos do que 30% estão adequadamente descritas e ilustradas (Hamilton in Carvalho & Webb, 2005) por isso a importância da realização de trabalhos taxonômicos com este grupo de insetos.

2.1 Sistemática e filogenia de Cercopoidea

Ao longo dos anos, alguns trabalhos buscando elucidar as relações filogenéticas entre as famílias e gêneros de Cercopoidea foram publicados, entre estes vale destacar os seguintes: Cryan

(2005) propondo uma filogenia para Cicadomorpha, baseada em três marcadores moleculares (18S, 28S e Histona) suportando a monofilia de Cercopoidea e Cercopidae; Cryan & Svenson (2010) propondo a filogenia das famílias de Cercopoidea incluindo uma ampla amostragem de táxons e sete marcadores moleculares (18S, 28S, H2A, H3, Wg, COI e COII), os autores concluem que Cercopidae é monofilético sendo a linhagem do novo mundo (Ischnorhininae) monofilética e a linhagem do velho mundo (Cercopinae) parafilética, ainda os autores especulam que a origem e diversificação de Cercopidae coincidem com a separação da África e América do Sul conjuntamente com a origem e diversificação das angiospermas. Paladini et al. (2015) publicaram a filogenia e biogeografia de Ischnorhininae com base em dados morfológicos, os autores propõem uma nova classificação para as tribos e sugerem uma origem Neotropical de Ischnorhininae, mais especificamente no noroeste da América do Sul. Paladini et al. 2018 publicaram a filogenia de Cercopidae com ênfase na amostragem de táxons neotropicais utilizando para tal sete marcadores moleculares, corroborando a monofilia de Ischnorhininae e datando as diferentes linhagens além de estudar a evolução das cores aposemáticas dentro do grupo. Os autores concluíram que a origem e diversificação de Cercopidae ocorreu depois da separação da África e América do Sul coincidindo com os primeiros registros de pólen de gramíneas, hospedeiros preferenciais da família; enquanto que a origem e diversificação de Ischnorhininae é coincidente com a origem de gramíneas C4.

Atualmente foram publicados alguns trabalhos utilizando dados filogenômicos elucidando as relações entre as espécies das superfamílias de Cicadomorpha com ênfase em Cercopoidea e incluindo em sua amostragem principalmente táxons da região asiática (Song et al. 2017; Tianjuan & Aiping, 2017; Skinner et al. 2020) na maioria corroborando o que foi proposto pelos estudos anteriores.

Análises filogenéticas com a aplicação de metodologias claras e objetivas contribuem sensivelmente para elucidar as relações de parentesco entre os grupos. Uma hipótese filogenética bem embasada é necessária para discussão e tomada de decisões taxonômicas como a reformulação de classificações para que estas sejam compostas por grupos naturais, ou seja, unidades monofiléticas. Sendo assim, essas hipóteses ainda poderão ser utilizadas em estudos aplicados, como construção de uma chave dicotômica com base em apomorfias e estudo da evolução de caracteres específicos como morfometria da asa e mesmo estudos biogeográficos. Na Universidade

Federal do Paraná a linha de pesquisa em sistemática e biogeografia de insetos tem uma longa tradição histórica, sendo que a proponente do projeto já finalizou algumas orientações em sua antiga universidade (Universidade Federal de Santa Maria). Por exemplo, desenvolvemos a revisão e filogenia de *Mahanarva*, um gênero com uma grande diversidade de espécies, morfologicamente homogêneo e economicamente importante.

A utilização de dados moleculares tem sido uma ferramenta poderosa aplicada a diversos estudos em sistemática moderna (Hillis et al. 1996), podendo ser utilizada em combinação com os dados morfológicos, para associação de estágios imaturos com os adultos, melhoria e auxílio na identificação de táxons crípticos e estudos de datação de linhagens conjuntamente com a biogeografia. Existe uma grande diversidade de métodos propostos para análise filogenética usando sequencias de DNA (Swofford et al. 1996, Lemey et al. 2009), com estimativas que chegam a mais de 3.000 artigos científicos sobre esse assunto (Felsenstein 2004).

2.2 Morfometria geométrica como ferramenta auxiliar em estudos taxonômicos

A morfometria tem sido amplamente utilizada na solução de problemas taxonômicos. Nas abordagens taxonômicas com morfometria tradicional, a variação da forma é estudada por meio da variação entre pares de medidas lineares. Nesse caso, a complexidade da forma de cada indivíduo pode não ser detectada pelo método (Cooper, 2000; Gumiel et al., 2003; Mutanen & Pretorius, 2007). Por outro lado, as abordagens que utilizam a morfometria geométrica são capazes de descrever e localizar claramente as regiões de mudanças na forma e, sobretudo, de reconstruir e reconstituir graficamente estas diferenças. Porém, esta aproximação exige ferramentas mais elaboradas para digitalização e análises dos dados (Monteiro & Reis, 1999; Zeldich, 2004; Garcia, 2008). A morfometria geométrica será utilizada para determinar a forma da asa posterior. Para isso marcos anatômicos (landmarks) serão posicionados em pontos de intersecção homólogos entre as veias das asas posteriores das espécies que serão estudadas.

2.3 Biogeografia para a compreensão da origem e evolução dos grupos

A biogeografia representa o conjunto de ideias, conceitos, hipóteses e teorias que são propostas para explicar a distribuição geográfica dos seres vivos sobre a Terra. Um de seus objetivos fundamentais é o estudo dos padrões de distribuição sobre a superfície terrestre dos táxons presentes e extintos. Objetiva também a investigação das causas e dos processos que tem produzido

a história dessa distribuição. É uma ciência holística, pois sintetiza conhecimentos das áreas biológicas, geográficas, geológicas, paleontológicas e também da sistemática, consequentemente tem sido influenciada pelos paradigmas desses campos.

Os cercopídeos neotropicais tiveram sua origem e diversificação durante o Cretáceo médio, quando as Angiospermas eram um elemento importante da vegetação (Cryan & Svenson, 2010). Mesmo que este grupo tenha uma distribuição na América do Sul e Central, com poucas espécies ocorrendo na América do Norte, Paladini et al. 2015 concluíram com base nos resultados de uma análise de dispersão e vicariância (S-DIVA) que a área ancestral de distribuição de Ischnorhininae está localizada no cinturão tropical americano.

2.4 Modelagem de Nicho Ecológico

A modelagem de nicho ecológico tem se tornado um componente importante em estudos de biogeografia, ecologia e evolução. Os modelos de nicho ecológico, também conhecidos por modelos de distribuição de espécies (Soberon Peterson 2005). Tais modelos e os mapas de adequabilidade ambiental que resultam de suas projeções no espaço geográfico, permitem estabelecer a distribuição geográfica potencial das espécies (Anderson et al., 2003), podendo ter diversas aplicações práticas como: avaliação do potencial de invasão de espécies exóticas, identificação de áreas com a probabilidade de novas ocorrências para espécies raras e/ou ameaçadas, suporte para conservação, estudos de disseminação de doenças e impacto das mudanças climáticas.

3. OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS

O principal objetivo desse projeto é o desenvolvimento de trabalhos envolvendo a taxonomia e a filogenia de gêneros pertencentes à superfamília Cercopoidea com dados morfológicos e moleculares, enfatizando o estudo de linhagens dentro da família Cercopidae dado que duas filogenias já foram propostas (Paladini et al. 2015 com dados morfológicos e Paladini et al. 2018 com dados moleculares), conjuntamente com a descrição de novos táxons, revisões e confecção de chaves dicotômicas para facilitar a identificação destes insetos, já que, muitas espécies são pragas agrícolas importantes. Além disso, a partir de filogenias já publicadas teremos uma base para testar hipóteses da evolução de caracteres morfológicos, e comportamentais dentro

de Cercopoidea como: aposematismo, mecanismos de defesa, preferência de plantas hospedeiras, biogeografia histórica com métodos baseados em eventos e datação molecular das linhagens.

Especificamente o projeto objetivará:

- Realizar expedições de coleta para diversas regiões do estado do Paraná onde estes insetos não tenham sido devidamente amostrados;
- Estudar material de diferentes coleções Brasileiras e Internacionais;
- Aprimorar o entendimento taxonômico dos grupos de Cercopoidea, gerando um conjunto de dados, além de produzir chaves dicotômicas, revisões taxonômicas e filogenias para grupos focais com ênfase nos gêneros *Mahanarva*, *Neosphenorhina* e *Tunaima*;
- Estudar, ilustrar e prover uma maneira para facilitar a identificação das espécies;
- Utilizar morfometria geométrica como uma ferramenta adicional para identificação de espécies crípticas ou com coloração similar;
- Utilizar a filogenia molecular, publicada por Paladini e colaboradores para testar hipóteses da biogeografia histórica com métodos baseados em eventos;
- Utilizar sequências do gene COI (citocromo oxidase I) e possivelmente genes nucleares para associar estágios imaturos e adultos de espécies de Aphrophoridae e Epyrigidae coletadas no Parque Nacional do Caraça, localizado na Serra do Espinhaço, no município de Catas Altas, Minas Gerais;
- Utilizar a modelagem de Nicho de Ecológico para inferir a distribuição potencial de espécies pragas dentro de Cercopoidea;
- Avaliar como as tendências de mudanças climáticas futuras afetariam a distribuição de espécies consideradas pragas dentro de Cercopoidea.

4. METODOLOGIA PROPOSTA

4.1 Material para estudo

Espécimes brasileiros representantes de novos táxons e dos gêneros a serem estudados já se encontram disponíveis na coleção Pe. Jesus Santiago Moure (DZUP) ou serão proveniente de empréstimos para a proponente: Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade

Católica do Rio Grande do Sul (MCTP), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Coleção Entomológica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Esses espécimes serão utilizados para estudos taxonômicos com ênfase em Cercopidae. Os espécimes de Aphrophoridae e Epygidae que serão utilizados para os estudos moleculares já foram coletados em expedição de campo realizada em 2015 em conjunto com o laboratório de entomologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

4.2 Trabalhos de campo

As expedições de coleta serão realizadas em diferentes unidades de conservação do estado do Paraná, com duração de dois a sete dias consecutivos em cada ponto amostral. As coletas combinarão métodos passivos e ativos, visando principalmente cigarrinhas da superfamília Cercopoidea (Hemiptera: Auchenorrhyncha), além de outros representantes da subordem. Entre os métodos passivos, serão utilizadas armadilhas luminosas noturnas e armadilhas Malaise. As armadilhas luminosas consistirão em um lençol branco (aproximadamente 2×2 m) iluminado por lâmpada, instalado em áreas abertas ou bordas de vegetação, a pelo menos 50 m de outras fontes de luz. Essas armadilhas serão mantidas ligadas do entardecer até o amanhecer (aproximadamente das 18h00 às 04h00), utilizando gerador portátil ou bateria 12 V. Os insetos atraídos serão coletados manualmente com aspirador entomológico ou pinça fina e acondicionados em frascos contendo etanol 95–100% para preservação para futuros estudos moleculares, ou separados para posterior montagem em alfinetes entomológicos e depósito na coleção. As armadilhas Malaise, serão instaladas em trilhas, clareiras e bordas de vegetação, preferencialmente orientadas perpendicularmente ao gradiente de vegetação, para interceptar insetos em voo. Cada armadilha permanecerá ativa continuamente durante os dias de amostragem, sendo o conteúdo do frasco coletor (com etanol 95–100%) verificado e trocado diariamente para evitar evaporação. Como método ativo, será empregada a coleta com rede de varredura em vegetação herbácea e arbustiva, realizada durante o dia, cobrindo diferentes tipos de vegetação (borda de mata, capoeira e áreas abertas). Adicionalmente, será empregada a aspiração manual de indivíduos sobre vegetação e o batimento de ramos sobre bandeja branca, especialmente em espécies que se refugiam na face inferior de folhas. Todo o material coletado será triado em campo, separado por e montado para estudos morfológicos posteriores, ou armazenado em etanol 95–100% para análises moleculares. Os espécimes serão rotulados com informações completas de localidade (município, unidade de

conservação, ponto amostral), coordenadas geográficas, altitude, data, horário, método de coleta, nome do coletor. O material será posteriormente identificado e depositado na Coleção Entomológica Pe. Jesus Santiago Moure (DZUP), do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. Todas as armadilhas serão instaladas de modo a minimizar impactos ambientais, evitando danos à vegetação e riscos à fauna e aos visitantes, e serão removidas integralmente ao término da amostragem. O trabalho seguirá as normas de pesquisa em Unidades de Conservação e atenderá integralmente às condicionantes estabelecidas pelo Instituto Água e Terra (IAT).

4.3 Montagem e estudo dos espécimes

No laboratório, os espécimes serão montados em alfinetes entomológicos e etiquetados. Para o estudo das estruturas da genitália do macho e da fêmea, serão utilizadas as técnicas descritas por Oman (1949). Os abdomens serão preparados inteiros e colocados em tubos de ensaio contendo uma solução aquosa de KOH a 10% para a dissolução da musculatura. Os tubos de ensaio serão aquecidos em banho-maria por aproximadamente 10 minutos, o que acelera o processo de dissolução muscular. Em seguida, as genitálias serão colocadas em placas de Petri com água destilada, para a retirada do KOH. Terminadas as preparações, os espécimes serão dissecados, com o auxílio de estiletos, em pequenas placas de Petri contendo glicerina. Para observação e ilustração, as estruturas serão posicionadas sobre lâminas escavadas, contendo glicerina e, no fundo, uma pequena porção de filamentos de algodão para prender as peças, impedindo mudanças de posição durante as observações. Estereomicroscópios e microscópios ópticos, equipados com ocular micrométrica quadriculada, câmara clara ou máquina fotográfica, são usados para análise das estruturas, preparação dos desenhos, fotografias, e medições.

4.4. Levantamento de caracteres morfológicos e análise filogenética

Muitos dos caracteres que serão utilizados resultaram de estudos e publicações preliminares que de há muito vem sendo objeto da linha de pesquisa em taxonomia da proponente. Os caracteres serão identificados baseados em sua identidade topográfica antes de se propor hipóteses de homologia primária ao se definir os estados na matriz de caracteres (de Pinna 1991, Brower & Schawaroch, 1996). Caracteres serão codificados de forma reduativa (sensu Wilkinson 1995),

especialmente em casos de presença/ausência de um caráter, como defendido por Hawkins et al. (1997). Caracteres multiestado serão tratados como “não ordenados” sob a parcimônia de Fitch (1971). Caracteres autapomórficos serão incluídos na matriz seguindo a sugestão de Yeates (1992).

As análises serão feitas com o programa TNT versão 1.1 “no taxon limit” (Goloboff et al. 2008). Serão utilizados os seguintes esquemas para a busca dos cladogramas mais parcimoniosos: busca heurística tradicional (comando Tradicional Search) e novas tecnologias de buscas (comando New Technology Search) o qual emprega uma junção de diferentes algoritmos para a busca da árvore com menor número de passos.

4.5. Levantamento de caracteres moleculares e análise filogenética

As etapas de extração de DNA, amplificação, purificação, reação de sequenciamento e precipitação serão realizadas no Laboratório de Biologia Molecular “Danuncia Urban” do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), enquanto que a etapa de sequenciamento será realizada no Departamento de Bioquímica da UFPR.

O DNA será extraído com a técnica de Imobilização Reversa de Fase Sólida (SPRI) para a extração, utilizando Partículas Magnéticas Modificadas por Carboxila (SeraMag™ SpeedBeads – Cytiva™) de acordo com Hultman et al. (1989). O DNA extraído foi preservado em solução TE (10mM Tris, 0.1mM EDTA) e a concentração aproximada (ng/uL) foi medida no espectrofotômetro NanoDrop™ 2000/2000c (Thermo Scientific™), de forma a também detectar impurezas para posterior limpeza utilizando a técnica de SPRI.

A perna ou corpo inteiro do inseto serão incubados por 12h a 56°C em uma solução contendo Proteinase K (C final de 2U/uL) e Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) (C final de 0.15%) para a dissolução dos tecidos, proteínas e membranas lipídicas, um método que permite que as estruturas queratinizadas não sejam danificadas e/ou destruídas.

Os cromatogramas das sequências geradas serão verificados, editados e combinados em sequências consenso com o auxílio do programa Sequencher 4.10.1 para Windows (Gene Codes Corporation, 2010). As sequências de nucleotídeos do novo conjunto de terminais serão alinhadas no servidor online do programa MAFFT (Katoh et al., 2002) e conferidas manualmente. Os modelos estocásticos de evolução de cada gene serão estimados no programa jModelTest 0.1.1 (Posada, 2008), e escolhidos com base no ‘Critério de Informação de Akaike’ (Akaike Information Criterion; Akaike, 1985). Análises filogenéticas com a matriz concatenada de dados serão



conduzidas para reconstruir as relações evolutivas entre as espécies, usando os critérios de inferência bayesiana (Huelsenbeck et al., 2001), máxima verossimilhança (Swofford et al., 1996) e parcimônia, implementados no programas MrBayes versão 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), Garli versão 2.0 (Zwickl, 2006) e TNT no taxon limit (Goloboff et al., 2008), respectivamente. No caso da parcimônia e da máxima verossimilhança, análises de bootstrap serão conduzidas posteriormente para computar o suporte dos ramos nas topologias resultantes. Na análise combinada os dados morfológicos serão tratados como uma partição isolada, analisados sob o modelo Markov K+G (Lewis, 2001).

4.6 Morfometria geométrica

Asas metatorácicas das espécies de Cercopidae a serem estudadas serão utilizadas para investigar variação na forma ao longo da distribuição geográfica. Asas meta-torácicas direitas serão dissecadas, preservando escleritos articulatorios, e montadas sob lâmina e lamínula em verniz aquoso. Asas montadas serão identificadas seguindo o número identificador único e fotografadas sob estéreo-microscópio. As estruturas de interesse serão fotografadas, sob estéreo-microscópio, com a estrutura de interesse perpendicular ao plano da imagem. Cada indivíduo e estrutura serão fotografados três vezes, permitindo minimizar e avaliar variação devido ao método de coleta dos dados. Os espécimes utilizados para as análises morfométricas serão os mesmos utilizados nas filogenias publicadas. Adicionalmente, outros espécimes serão utilizados, a fim de incrementar o número amostral e a robustez estatística das análises. Após o estudo da diversidade morfológica observada nas estruturas de interesse, marcos anatômicos homólogos serão definidos para as subseqüentes análises. Marcos anatômicos serão digitados utilizando o software TPSdig (Rohlf, 2006). As configurações de marcos anatômicos serão analisadas no software MorphoJ (Klingenberg, 2011), seguindo as operações básicas iniciais para morfometria geométrica: a partir de uma análise de Procrustes as configurações serão padronizadas quanto a escala, translação e rotação, restando no conjunto de dados somente informações referentes a forma. A variação intraespecífica da forma será avaliada a partir de Análises Multivariadas de Variância (MANOVA). Análises discriminantes lineares (classificações a priori) e de agrupamento (classificações a posteriori) serão utilizadas para avaliar a variação na forma no contexto