Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Taxonomia comparada, filogeografia e dinâmica populacional de *Dichelops furcatus* (Fabricius) e *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): uma abordagem integrativa

Tamara Moraes

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2018

Tamara Moraes
Bacharela em Agronomia

Taxonomia comparada, filogeografia e dinâmica populacional de *Dichelops furcatus* (Fabricius) e *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): uma abordagem integrativa

Orientador:
Prof. Dr. **CRISTIANO FELDENS SCHWERTNER**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2018

RESUMO

Taxonomia comparada, filogeografia e dinâmica populacional de *Dichelops furcatus* (Fabricius) e *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): uma abordagem integrativa

Os percevejos barriga-verde (*Dichelops* spp.) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) são considerados pragas emergentes em diferentes plantas cultivadas no Brasil. *Dichelops furcatus* (Fabricius) e *Dichelops melacanthus* (Dallas) são morfologicamente semelhantes, e os caracteres morfológicos são extremamente variáveis entre as espécies, trazendo em questão a delimitação e padrão de distribuição geográfico das mesmas. Baseado em ampla amostragem ao longo da distribuição de *Dichelops* spp., os objetivos gerais deste estudo foram: 1) estudar a diversidade morfológica de *D. furcatus* e *D. melacanthus* utilizando morfometria linear e geométrica; 2) definir ferramentas para a identificação das espécies reconhecidas a partir de dados morfológicos quantitativos; 3) a partir de ferramentas moleculares, testar a delimitação das espécies, estudar a diversidade e estruturação genética, e o padrão de distribuição geográfico das populações de *D. furcatus* e *D. melacanthus* no Brasil. Para isso, foram fotografadas as principais estruturas diagnósticas da morfologia geral (cabeça, pronoto e escutelo) dos indivíduos das populações estudadas e os dados de morfometria linear e geométrica analisados estatisticamente. DNA de indivíduos das duas espécies de diferentes populações do Brasil foi extraído, e dois genes mitocondriais (COI e 16s) foram amplificados por PCR e sequenciados. Resultados de morfometria geométrica mostraram grande sobreposição na forma entre as espécies, tornando esse método ineficiente na delimitação de *D. furcatus* e *D. melacanthus*. A morfometria linear foi eficiente em delimitar *D. furcatus* e *D. melacanthus*. Os resultados de diversidade e estruturação mostraram alta diversidade genética e alta estruturação genética entre as populações de ambas as espécies, suportando a existência de duas linhagens de *D. furcatus* e duas linhagens de *D. melacanthus*.

Palavras-chave: *Dichelops* spp.; Pragas emergentes, Morfometria; Filogeografia

ABSTRACT

Comparative taxonomy, phylogeography and population dynamics of *Dichelops furcatus* and *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): an integrative approach

The green-belly stink bugs *Dichelops* spp. (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) are considered emergent pests in different cultivated plants in Brazil. *Dichelops furcatus* (Fabricius) and *Dichelops melacanthus* (Dallas) are morphologically similar, and the morphological characteristics are variable within the species, sometimes overlapping between them, bringing into question the species delimitation. Based on wide sampling throughout the whole distribution of *Dichelops* spp., the goals of this study were: 1) to study the morphological diversity of *D. furcatus* e *D. melacanthus* using both traditional and geometric morphometrics, and 2) define tools for the species identification recognized from quantitative morphological data; 3) to study the genetic diversity, population structuring, and the geographical distribution pattern of *D. furcatus* and *D. melacanthus* populations in Brazil using molecular data. For that, digital photographs of the main morphological structures (head, pronotum and scutellum) were taken and statistical analysis of traditional and geometric morphometrics were made. DNA from individuals of both species from different populations of Brazil was extracted, and two mitochondrial genes (COI and 16s) were amplified by PCR and sequenced. Results from geometric morphometrics show that shape of pronotum, head and scutellum were strongly overlapping between species, making this method inefficient in separating *D. furcatus* from *D. melacanthus*. However, traditional morphometrics was efficient in separating the species. Results showed high genetic diversity and high genetic structuring between populations of both species, supporting the existence of two lineages for *D. furcatus* and two lineages for *D. melacanthus*.

Keywords: *Dichelops* spp.; Morphometrics; Emergent pests; Phylogeography.

1. INTRODUÇÃO

Os insetos representam o grupo mais abundante e diverso entre os animais, sendo várias espécies consideradas pragas agrícolas no mundo. Devido à fácil adaptação em diferentes ecossistemas e condições edafoclimáticas, os insetos fitófagos podem causar a redução de produtividade das culturas agrícolas, e no pior dos casos, resultar na perda total da colheita (ZHANG et al., 2007).

No Brasil, o avanço da fronteira agrícola para o cerrado e a crescente intensificação dos sistemas de cultivo, especialmente a expansão do plantio direto e da segunda safra de milho, desencadearam o crescimento de populações de insetos anteriormente considerados pragas secundárias (PANIZZI, 1997; SMANIOTTO; PANIZZI, 2015). Dentro desse contexto, algumas espécies da família Pentatomidae vêm se destacando como importantes pragas em diversos cultivos na região Neotropical, devido ao aumento de sua ocorrência e elevado crescimento populacional (PANIZZI, 2015).

Dentro do complexo de pentatomídeos-praga, o percevejo barriga-verde (*Dichelops* spp.) é considerado praga-chave em cultivos de milho no Brasil (VALICENTE, 2015), sendo frequentemente encontrado em soja e trigo, devido ao cultivo sucessivo dessas culturas ao longo do ano (CHOCOROSQUI & PANIZZI, 2004). Este percevejo tornou-se uma praga importante em lavouras de milho segunda safra, em função dos danos significativos à cultura, sobretudo no início do desenvolvimento vegetativo, reduzindo o vigor e a população de plantas (GASSEN, 1996; CHOCOROSQUI, 2001; CORREA-FERREIRA et al., 2017).

As duas principais espécies de percevejo barriga-verde que causam danos econômicos são *Dichelops furcatus* (Fabricius, 1775) e *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (PANIZZI et al., 2000). Segundo Grazia (1978), a distribuição geográfica estimada para *D. melacanthus* compreende 13 estados brasileiros situados nas cinco diferentes regiões do país, enquanto que para *D. furcatus* a distribuição é mais restrita às áreas subtropicais, como a região Sul do Brasil.

As espécies *D. melacanthus* e *D. furcatus* são morfologicamente semelhantes, ambas possuindo a parte dorsal do corpo marrom, e a ventral verde quando vivos e em época reprodutiva (GRAZIA, 1978; PANIZZI et al., 2015). As principais características morfológicas das espécies de *Dichelops* são cabeça com jugas agudas, ângulos umerais na forma de espinhos, tamanho do inseto variando de 9 a 12 mm (GRAZIA, 1978), rostró alcançando as coxas posteriores, e margens

antero-laterais do pronoto serrilhadas. Adultos de *D. furcatus* são maiores comparados aos adultos de *D. melacanthus*, porém as diferenças mais marcantes para o reconhecimento das espécies encontram-se nas genitálias de machos e fêmeas (GRAZIA, 1978).

No entanto, a correta identificação das espécies e definição atual de sua distribuição geográfica a partir de caracteres morfológicos ainda é difícil, principalmente em função da grande variabilidade encontrada nas características diagnósticas. Com a expansão recente da fronteira agrícola para o cerrado e considerando o hábito polífago de *Dichelops* spp., pode-se ter ocorrido a dispersão de populações para regiões onde anteriormente não eram encontradas.

Em alguns casos, como nos percevejos barriga-verde *Dichelops* spp., problemas de identificação e até mesmo a delimitação das espécies ainda são questões em aberto.

Considerando que métodos morfológicos podem ser de difícil interpretação em muitos casos, a taxonomia integrativa propõe abordagens e uso de informações de diferentes áreas, como morfologia, marcadores moleculares, genética de populações, filogeografia e filogenética para resolução de problemas taxonômicos (SCHLICK-STEINER et al., 2010). A taxonomia integrativa é, portanto, uma ferramenta de grande importância no estudo de caracterização e delimitação de *D. furcatus* e *D. melacanthus*.

Este trabalho representa a primeira abordagem integrativa para problemas taxonômicos envolvendo espécies pragas de Pentatomidae. Além da importância econômica e do impacto direto que os resultados obtidos terão nas cadeias produtivas a que *Dichelops* spp. estão associadas, estas espécies apresentam grande potencial para estudos futuros sobre aspectos da história de vida dos pentatomídeos em geral. Estudos recentes têm ressaltado a importância desse tipo de abordagem para compreensão da dinâmica da condição de praga desses insetos e na consequente escolha de estratégias de controle e manejo (i.e. CESARI et al., 2017; SOARES et al., 2018).

Os objetivos deste trabalho incluíram (a) estudar a diversidade morfológica de *Dichelops* spp. associadas à plantas cultivadas no Brasil, (b) testar a identificação das espécies com base na variação do tamanho e forma de partes do corpo (cabeça, escutelo e pronoto), utilizando métodos de morfometria linear (tradicional) e morfometria geométrica, testando a hipótese de existir sobreposição na variação observada intraespecificamente; e (c) a partir de ferramentas moleculares e filogeográficas, investigar a demografia, a diversidade genética atual e estabelecer, de forma comparada, o padrão de distribuição geográfico das duas espécies, bem como a estrutura espacial e genética das populações de *D. melacanthus* e *D. furcatus* no Brasil.

REFERÊNCIAS

- CESARI, M.; MAISTRELLO, L.; PIEMONTESE, L.; BONINI, R.; DIOLI, P.; LEE, W.; GUIDETTI, R. Genetic diversity of the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* in the invaded territories of Europe and its patterns of diffusion in Italy. **Biol. Invas.**, p. 1-20, 2017.
- CHOCOROSQUI, V.R. Bioecologia de *Dichelops (Diceraeus) melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae), Danos e controle em Soja, Milho, e Trigo no Norte do Paraná. 160 p. **Tese** - (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, 2001.
- CHOCOROSQUI, V.R.; PANIZZI, A.R. Impact of cultivation systems on *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) population and damage and its chemical control on wheat. **Neotrop. Entomol.**, v.33, n.4, p.487-492, 2004.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Percevejos e o sistema de produção soja-milho. **Circular técnica**. Londrina: Embrapa Soja, Documentos/Embrapa Soja, ISSN: 1516-781X ; n.397, 98 p. 2017.
- GASSEN, D. N. **Manejo de pragas associadas a cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 127 p., 1996.
- GRAZIA, J. Revisão do gênero *Dichelops* Spinola, 1837 (Heteroptera: Pentatomidae, Pentatomini). Iheringia, **Série Zoológica**, v.53, p.3-119, 1978.
- SCHLICK-STEINER, B.C.; STEINER, F.M.; SEIFERT, B.; STAUFFER, C.; CHRISTIAN, E.; CROZIER, R.H. Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. **Ann. Rev. Entomol.** 55, 421–438, 2010.
- SMANIOTTO, L.F. Biologia e interação com plantas associadas dos percevejos barriga-verde, *Dichelops furcatus* (F., 1775) e *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). **Tese** (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná. 115p., 2015.
- SMANIOTTO, L. F.; PANIZZI, A. R. Interactions of selected species of stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) from leguminous crops with plants in the Neotropics. **Florida Entomologist**, 98, 7-17, 2015.

- PANIZZZI, A.R. Entomofauna changes with soybean expansion in Brazil. In: Napompeth, B. (Ed.). **Proceedings World Soybean Research Conference**. Bangkok: Kasetsar University, 1997. p.166-168. 581p, 1997.
- PANIZZZI, A. R.; McPHERSON, J. E.; JAMES, D. G.; JAHIVERY, M.; MCPHERSON, R. M. Economic importance of stink bugs (Pentatomidae), p. 421-474. *In* Schaefer C. W., and A. R. Panizzi (eds.). Heteroptera of economic importance, **CRC Press**, Boca Raton, FL., USA. 2000.
- PANIZZZI, A.R. Growing problems with stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): Invasive species into the U.S.A. and Neotropical species that might invade the U.S.A. **Am. Entomologist** 61, 223-233, 2015.
- PANIZZZI, A. R.; AGOSTINETTO, A.; LUCINI, T.; SMANIOTTO, L. F.; DA SILVA PEREIRA, P. R. V. Manejo integrado dos percevejos barriga-verde, *Dichelops* spp. em trigo. Embrapa Trigo, **Ser. Documentos** 114, 40p., 2015.
- SOARES, P.L.; CORDEIRO, E. M.; SANTOS, F. N.; OMOTO, C.; CORREA, A. S. The reunion of two lineages of the Neotropical brown stink bug on soybean lands in the heart of Brazil. **Scientific Reports** 8, article 2496, 2018.
- VALICENTE, F. H. Manejo Integrado de Pragas na Cultura do Milho. **Circular técnica**. Sete Lagoas: EMBRAPA CNPMS 13 p., 2015.
- ZHANG, W.; RICKETTS, T. H.; KREMEN, C.; CARNEY, K.; SWINTON, S.M. Ecosystem services and dis-services to agriculture. **Ecol Econ**. 2007; 64: 253–260, 2007.

1.1. CONCLUSÃO

Este trabalho demonstra que a morfometria linear, a partir de uma análise discriminante multivariada, é eficiente na correta identificação dos percevejos barriga-verde, *Dichelops furcatus* e *Dichelops melacanthus*. Os parâmetros comprimento do escutelo, largura máxima do pronoto e comprimento abdominal são considerados como variáveis determinantes na separação das espécies. Por sua vez, a morfometria geométrica não foi eficiente na delimitação dessas espécies, levando-se em conta a grande variação intrapopulacional e intraespecífica encontradas.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, E.L.; NASCIMENTO, F. M.; ZUCCHI, R.A. Utilização da análise discriminante em estudos taxonômicos de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae). *Sci. Agric.*, vol.55, no.1, p.105-110., 1998.
- AVENDAÑO, J. M.; BARÃO, K. R.; GRAZIA, J.; SCHWERTNER, C. F. Synonymy of two important crop pests of burrower bugs, *Cyrtomenus mirabilis* and *C. bergi* (Hemiptera: Cydnidae), based in a multi-source approach, *Zootaxa* v. 4504, n. 4, p. 489–500, 2018.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Percevejos e o sistema de produção soja-milho. **Circular técnica**. Londrina: Embrapa Soja, Documentos/Embrapa Soja, ISSN: 1516-781X ; n.397, 98 p. 2017.
- DE-LA-MORA, M.; PIÑERO, D.; OYAMA, K.; FARRELL, B.; MAGALLÓN, S.; NÚÑEZ-FARFÁN, J. Molecular Phylogenetics and Evolution Evolution of *Trichobaris* (Curculionidae) in relation to host plants: Geometric morphometrics, phylogeny and phylogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 124, n. January, p. 37–49, 2018.
- FERNÁNDEZ-ALDEA, A. A. F.; BARÃO, K. R.; GRAZIA, J.; FERRARI, A. An Integrative Approach to the Taxonomy of *Oenopiella* Bergroth (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae: Pentatominae: Carpocorini) with the Description of Two New Species from Argentina and Southern Brazil, **Annals of the Entomological Society of America**, 107(2):364-381, 2014.
- GRAZIA, J. Revisão do gênero *Dichelops* Spinola, 1837 (Heteroptera: Pentatomidae, Pentatomini), Iheringia, **Série Zoológica**, v.53, p.3-119, 1978.
- KLINGENBERG, C.P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. **Mol. Ecol. Resources** 11: 353-357, 2011.
- MAGGIO, D.H. Distribuição potencial e impacto das mudanças climáticas nas espécies pragas de Pentatomidae (Hemiptera) da região Neotropical. **Dissertação**. Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução, UNIFESP, 95p., 2017.
- MARINHO, C. F.; CÔNSOLI, F. L.; PENTEADO-DIAS, A. M.; ZUCCHI, R. A. Description of two new species closely related to *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti, 1911) (Hymenoptera: Braconidae), based on morphometric and molecular analyses. **Zootaxa**, v. 4353, n. 3, p. 467–484, 2017.

- MUTANEN, M.; PRETORIUS, E. Subjective visual evaluation vs. traditional and geometric morphometrics in species delimitation: A comparison of moth genitalia. **Systematic Entomology**, v. 32, n. 2, p. 371–386, 2007.
- PANIZZI, A.R. Growing problems with stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): Invasive species into the U.S.A. and Neotropical species that might invade the U.S.A. **Am. Entomologist** 61, 223-233, 2015.
- ROHLF, F.J. TpsDig, version 2.30. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 2017a.
- ROHLF, F.J. TpsUtil64, version 1.74. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 2017b.
- SCHWARZFELD, M.D.; SPERLING, F.A.H. Species delimitation using morphology, morphometrics, and molecules: definition of the *Ophion scutellaris* Thomson species group, with descriptions of six new species (Hymenoptera: Ichneumonidae). **ZooKeys** 462: 59–114, 2014.
- SMANIOTTO, L. F.; PANIZZI, A. R. Interactions of selected species of stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) from leguminous crops with plants in the Neotropics. **Florida Entomologist**, 98, 7-17, 2015.
- SOARES, P.L.; CORDEIRO, E. M.; SANTOS, F. N.; OMOTO, C.; CORREA, A. S. The reunion of two lineages of the Neotropical brown stink bug on soybean lands in the heart of Brazil. **Scientific Reports** 8, article 2496, 2018.
- STATSOFT. Structural Equation Modeling, Statsoft Electronic Statistics Textbook, <http://www.statsoft.com/textbook/structural-equation-modeling/>, 2013.
- QGIS Development Team. QGIS User Guide, Release 2,18: QGIS Project, 2016.

2.1. CONCLUSÃO

Os percevejos barriga-verde *Dichelops furcatus* e *Dichelops melacanthus* são linhagens geneticamente divergentes, confirmando a existência de duas espécies com estimativa de divergência de 1,4 milhões de anos. As populações de ambas as espécies encontradas no Brasil possuem alta diversidade genética, estão em expansão demográfica e são estruturadas geograficamente.

REFERÊNCIAS

- ALBERNAZ, K. C.; SILVA-BRANDAO, K. L.; FRESIA, P.; CÔNSOLI, F. L.; & OMOTO, C. Genetic variability and demographic history of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) populations from Brazil inferred by mtDNA sequences. *Bulletin of entomological research*, 102(3), 333-343, 2012.
- AVISE, J.C.; ARNOLD, J.; BALL, R.M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J.E.; REEB, C.A.; SAUNDERS, N.C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18, 489–522, 1987.
- AVISE, J.C. Phylogeography: The History and Formation of Species. **Harvard University Press**, Cambridge, 2000.
- BANDELT, H.; FORSTER, P.; RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16(1):37–48, 1999.
- BARCELLOS, A.; J. GRAZIA. Cladistic analysis and biogeography of *Brachystethus* Laporte (Heteroptera, Pentatomidae, Edessinae). *Zootaxa* 256: 1–14, 2003.
- CESARI, M.; MAISTRELLO, L.; PIEMONTESE, L.; BONINI, R.; DIOLI, P.; LEE, W.; GUIDETTI, R. Genetic diversity of the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* in the invaded territories of Europe and its patterns of diffusion in Italy. *Biol. Invas.*, p. 1-20, 2017.
- CHOCOROSQUI, V.R. Bioecologia de *Dichelops (Diceraeus) melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae), Danos e controle em Soja, Milho, e Trigo no Norte do Paraná. 160 p. **Tese** - (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, 2001.
- CHOCOROSQUI, V.R.; PANIZZI, A.R. Impact of cultivation systems on *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) population and damage and its chemical control on wheat. *Neotrop. Entomol.*, v.33, n.4, p.487-492, 2004.
- CHOWN, S. L.; HODGINS, K. A.; GRIFFIN, P. C.; OAKESHOTT, J. G.; BYRNE, M.; & HOFFMANN, A. A. Biological invasions, climate change and genomics. *Evolutionary Applications*, 8(1), 23-46, 2015.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Percevejos e o sistema de produção soja-milho. **Circular técnica**. Londrina: Embrapa Soja, Documentos/Embrapa Soja, ISSN: 1516-781X ; n.397, 98 p., 2017.

- CRISPO, E., MOORE, J. S., LEE-YAW, J. A., GRAY, S. M., & HALLER, B. C. Broken barriers: human-induced changes to gene flow and introgression in animals: an examination of the ways in which humans increase genetic exchange among populations and species and the consequences for biodiversity. *BioEssays*, 33(7), 508-518, 2011.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, v.19, p.11-15, 1987.
- DRUMMOND, A. J., SUCHARD, M. A., XIE, D., & RAMBAUT, A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular biology and evolution*, 29(8), 1969-1973, 2012.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform.* 1, 47–50, 2005.
- FU, Y.-X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147, 915-925, 1997.
- GASSEN, D. N. **Manejo de pragas associadas a cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 127 p., 1996.
- GENEVCIUS, B. C. & SCHWERTNER, C. F. Review and phylogeny of the geniculata group, genus *Chinavia* (Heteroptera: Pentatomidae), with notes on biogeography and morphological evolution. *Zootaxa*, 3847(1), 033-056, 2014.
- GRAZIA, J. Revisão do gênero *Dichelops* Spinola, 1837 (Heteroptera: Pentatomidae, Pentatomini). Iheringia, **Série Zoológica**, v.53, p.3-119, 1978.
- HAHN, M. A., & RIESEBERG, L. H. Genetic admixture and heterosis may enhance the invasiveness of common ragweed. *Evolutionary applications*, 10(3), 241-250, 2017.
- HAYWOOD, A. M. & VALDES, P. J. Vegetation cover in a warmer world simulated using a dynamic global vegetation model for the Mid-Pliocene. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 237, 412–427, 2006.
- KIMURA, M. The neutral theory of molecular evolution: a review of recent evidence. *Jpn. J. Genet.* 1991 Aug; 66(4):367-86, 1989.
- LEIGH, J.W.; BRYANT, D. PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol* 6(9):1110–1116, 2015.
- LEITE, N. A., CORREA, A. S., MICHEL, A. P., ALVES-PEREIRA, A., PAVINATO, V. A. C., ZUCCHI, M. I., & OMOTO, C. Pan-American similarities in genetic structures of *Helicoverpa*

- armigera and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) with implications for hybridization. *Environmental entomology*, 46(4), 1024-1034, 2017.
- LOMBAERT, E.; GUILLEMAUD, T.; CORNUET, J. M.; MALAUSA, T.; FACON, B.; & ESTOUP, A. Bridgehead effect in the worldwide invasion of the biocontrol harlequin ladybird. *PloS one*, 5(3), e9743, 2010.
- MOURÃO, A. P.; & PANIZZI, A. R. Diapause and different seasonal morphs of *Euschistus heros* (Fabr.) (Hemiptera: Pentatomidae) in Northern Paraná State. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, 29(2), 205-218, 2000.
- MOURÃO, A. P. M., & PANIZZI, A. R. Photophase influence on the reproductive diapause, seasonal morphs, and feeding activity of *Euschistus heros* (Fabr., 1798) (Hemiptera: Pentatomidae). **Brazilian Journal of Biology**, 62(2), 231-238, 2002.
- NYLANDER, J.A.A. MrModeltest 2.2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, 2004.
- PANIZZI, A.R. Entomofauna changes with soybean expansion in Brazil. In: Napompeth, B. (Ed.). **Proceedings World Soybean Research Conference**. Bangkok: Kasetsar University, 1997. p.166-168. 581p, 1997.
- PANIZZI, A.R. Growing problems with stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): Invasive species into the U.S.A. and Neotropical species that might invade the U.S.A. **Am. Entomologist** 61, 223-233, 2015.
- PANIZZI, A. R.; AGOSTINETTO, A.; LUCINI, T.; SMANIOTTO, L. F.; DA SILVA PEREIRA, P. R. V. Manejo integrado dos percevejos barriga-verde, *Dichelops* spp. em trigo. Embrapa Trigo, **Ser. Documentos** 114, 40p., 2015.
- PANIZZI, A. R.; LUCINI, T.; POSSEBOM, T. Development of *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) Reared on Spring Cereals Versus Soybean. **Journal of Insect Science** 18(5): 17; 1–7 v. 18, 2018.
- PAPADOPOULOU, A., ANASTASIOU, I. & VOGLER, A.P. Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-Aegean trench calibration. **Molecular Biology and Evolution** 27, 1659– 1672, 2010.
- ROLSTON, L. H. Revision of the genus *Euschistus* in Middle America (Hemiptera, Pentatomidae, Pentatomini). **Entomologica Americana** 48(1): 1–102, 1974.

- RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D.L.; DARLING, A. HÖHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M.A. & HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. **Systematic Biology** 61(3): 539-542, 2012.
- ROZAS, J.; SÁNCHEZ-DELBARRO, J.C.; MESSEGUER, X.; ROZAS, R. DnaSP. DNA polymorphism analysis by the coalescent and other methods. **Bioinformatics** 19:2496-2497, 2003.
- SEQUENCHER® version 5.4.6 DNA sequence analysis software, Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI USA.
- SIMON, C.; FRATI, F.; BECKENBACH, A.; CRESPI, B.; LIU, H.; AND FLOOK, P. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences, and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. **Ann Entomol Soc Am** 87:651-701, 1994.
- SMANIOTTO, L.F. Biologia e interação com plantas associadas dos percevejos barriga-verde, *Dichelops furcatus* (F., 1775) e *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). **Tese** (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná. 115p., 2015.
- SMANIOTTO, L. F.; PANIZZI, A. R. Interactions of selected species of stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) from leguminous crops with plants in the Neotropics. **Florida Entomologist**, 98, 7-17, 2015.
- SOARES, P.L.; CORDEIRO, E. M.; SANTOS, F. N.; OMOTO, C.; CORREA, A. S. The reunion of two lineages of the Neotropical brown stink bug on soybean lands in the heart of Brazil. **Scientific Reports** 8, article 2496, 2018.
- TAJIMA, F. Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism. **Genetics**, 123, 585-595, 1989.
- TAMURA, K. *et al.* MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution** 28, 2731–2739, 2011.
- VALICENTE, F. H. Manejo Integrado de Pragas na Cultura do Milho. **Circular técnica**. Sete Lagoas: EMBRAPA CNPMS 13 p., 2015.