

Paula Perre

Utilização diferencial de frutos hospedeiros por *Anastrepha*  
*sp.1 affinis fraterculus* (Diptera, Tephritidae): aspectos  
morfológicos e reprodutivos

Host fruit differential usage by *Anastrepha sp.1 affinis*  
*fraterculus* (Diptera, Tephritidae): morphological and  
reproductive aspects

São Paulo

2016

Paula Perre

Utilização diferencial de frutos hospedeiros por *Anastrepha*  
*sp.1 affinis fraterculus* (Diptera, Tephritidae): aspectos  
morfológicos e reprodutivos

Host fruit differential usage by *Anastrepha sp.1 affinis*  
*fraterculus* (Diptera, Tephritidae): morphological and  
reproductive aspects

Tese apresentada ao Instituto de  
Biociências da Universidade de São  
Paulo, para a obtenção de Título de  
Doutor em Biologia, na Área de  
Genética e Biologia Evolutiva.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise  
Selivon Scheepmaker

\*Versão corrigida, o original encontra-se disponível no Instituto de Biociências da USP.

São Paulo  
2016

## Ficha Catalográfica

---

Perre, Paula

Utilização diferencial de frutos hospedeiros por *Anastrepha sp.1 affinis fraterculus* (Diptera, Tephritidae): aspectos morfológicos e reprodutivos

124 páginas

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.

1. Moscas-das-frutas 2. Plasticidade fenotípica 3. Morfometria I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.

### Comissão Julgadora:

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).  
Orientador(a)

## Agradecimentos

---

Agradeço primeiramente à Prof.<sup>a</sup> Denise Selivon pela orientação, ensinamentos, por encontrar o difícil equilíbrio entre cobrança e liberdade (o que fez com que eu crescesse muito como profissional) e, principalmente pela confiança com a qual aceitou orientar este trabalho.

Ao Prof. André Perondini pelos ensinamentos práticos e teóricos, pelas sugestões, por estar sempre disposto a resolver todas as minhas dúvidas e problemas (meus e do laboratório).

Ao colega de laboratório Leandro Prezoto que me ensinou, com muita paciência, como funciona um laboratório de biologia molecular, o que era novidade para mim.

À técnica Elzi dos Santos por ter me ensinado a criar as moscas-das-frutas, por ter me acompanhado e ajudado com as coletas, pelo auxílio nas triagens dos frutos coletados e pela amizade.

Ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) – em especial ao técnico Diego – à Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA – Pólo Leste) e ao Sítio do Belo por permitirem e auxiliarem nas coletas dos frutos.

Ao Leonardo Ré Jorge, pela grande ajuda nas análises de morfometria geométrica e pela disposição em me ajudar sempre que precisei.

Aos professores do departamento pelos ensinamentos passados nas disciplinas, pelas sugestões e correções nos pareceres de relatórios e no exame de qualificação, por me mostrarem outras áreas de conhecimentos nas palestras e simpósios. Ao prof. Carlos Vilela por ter me aceitado como estagiária em sua disciplina, onde pude aprender muito sobre genética básica, sobre como ser um bom professor, como uma boa aula prática deve ser e por ter me apresentado à heurística e às drosófilas – que honra foi conhecê-lo.

Aos servidores do departamento, Helenice, Dayse, Suzy, Patrícia e Maria pela prontidão em ajudar sempre.

Ao laboratório de microscopia eletrônica, principalmente à técnica Sheila, pelo auxílio na aquisição das imagens, disposição em ajudar e terminar a aquisição das imagens o mais rápido possível.

Aos colegas de laboratório, Ighor, Pietro, Ester, Fernando e Rebecca, pela ajuda nos experimentos, análises, criação, triagem de material, sugestões e também pela amizade, conversas e cafezinhos.

Ao Prof. Mário Almeida Neto, primeiro orientador, por me apresentar ao mundo da pesquisa; aos antigos “mestres” Prof. Thomas Lewinsohn (UNICAMP) e Prof. Roberto Zucchi (ESALQ), pessoas com as quais não convivo mais no dia a dia, mas foram muito importantes na minha formação.

Agradeço ao CNPq pelo financiamento e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Evolutiva do IB/USP pela oportunidade de formação concedida.

Por último, mas não menos importante, agradeço à minha família por sempre me apoiarem, mesmo sem “entender direito o que eu faço”. Ao Yuri Gregório, companheiro e melhor amigo, pelo incentivo, paciência, compreensão e carinho.

## Índice

---

<b>Resumo</b>	08
<b>Abstract</b>	09
<b>I. Introdução</b>	10
<b>II. Objetivos</b>	23
<b>III. Material e Métodos</b>	24
III.1. Obtenção das amostras	24
III.2. Análises morfológicas de indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros de ocorrência simpátrica	26
III.2.1 Morfologia das asas	26
III.2.1.1. Morfometria geométrica	26
III.2.1.2. Número de tricomas	29
III.2.1.3. Assimetria	33
III.2.2. Assimetria das cerdas frontais e pós-oculares	33
III.2.2.1. Assimetria do número das cerdas frontais e pós-oculares	34
III.2.2.2. Assimetria de posição das cerdas frontais	35
III.2.3. Análise das sensilas dos flagelos das antenas	36
III.3. Aspectos reprodutivos associados ao uso de diferentes frutos hospedeiros	38
III.4. Perturbações ontogenéticas associadas ao estresse da troca de fruto hospedeiro	41
<b>IV. Resultados</b>	43
IV.1. Análises morfológicas de indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros de ocorrência simpátrica	43
IV.1.1. Morfologia das asas	43
IV.1.1.1. Morfometria geométrica	43
IV.1.1.2. Número de tricomas	46
IV.1.1.3. Assimetria	50
IV.1.2. Assimetria das cerdas frontais e pós-oculares	53
IV.1.2.1. Assimetria do número das cerdas frontais e pós-oculares	53
IV.1.2.2. Assimetria de posição das cerdas frontais	55

IV.1.3. Análise das sensilas dos flagelos das antenas	56
IV.2. Aspectos reprodutivos associados ao uso de diferentes frutos hospedeiros	64
IV.3. Perturbações ontogenéticas associadas ao estresse da troca de fruto hospedeiro	71
IV.3.1. Morfometria geométrica das asas	74
IV.3.2. Assimetria das asas	76
IV.3.3. Assimetria das cerdas frontais e pós-oculares	77
IV.3.3.1. Assimetria do número das cerdas frontais e pós-oculares	77
IV.3.3.2. Assimetria de posição das cerdas frontais	79
<b>V. Discussão</b>	<b>81</b>
<b>VI. Conclusões</b>	<b>94</b>
<b>VII. Referências Bibliográficas</b>	<b>96</b>
<b>VIII. Anexo</b>	<b>112</b>
- Análise do marcador molecular ITS1 do DNA ribossômico	

## Resumo

---

As moscas-das-frutas são pragas da fruticultura nas regiões tropicais e subtropicais sendo que a *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae) é a espécie de maior importância econômica na Região Neotropical. Na realidade, *A. fraterculus* corresponde a um complexo de espécies crípticas que apresentam variações com relação ao uso de plantas hospedeiras. O presente estudo teve como objetivo investigar se a utilização de diferentes frutos hospedeiros resulta em diferenças morfológicas e/ou reprodutivas em indivíduos de amostras populacionais de *A. sp.1 aff. fraterculus* derivadas de diferentes frutos hospedeiros coletados em áreas de simpatria. Foram realizadas análises (a) morfológicas das asas e de conjuntos de cerdas da cabeça, além da descrição dos tipos de sensilas dos flagelos das antenas e (b) da escolha de parceiros reprodutivos entre espécies provenientes de diferentes frutos hospedeiros. As análises de morfometria mostraram variação nas asas relacionadas a diferentes frutos e que o grau de assimetria das estruturas varia entre as diferentes amostras. As análises dos tricomas das asas mostraram que não existe variação numérica de células entre as asas com formas diferentes, indicando que essa variação deve ser devida a diferenças na forma e/ou tamanho das células. As análises de assimetria flutuante em relação ao número de cerdas da cabeça indicaram diferenças entre as amostras. Em relação à assimetria posicional das cerdas, as populações apresentaram diferentes graus de assimetria. A análise das sensilas mostrou que existem diferenças na distribuição de cada tipo ao longo do flagelo, sendo a maior variação na região mediana, mas para quatro dos tipos não foram observadas diferenças nas amostras dos diferentes frutos. No experimento de escolha de parceiro reprodutivo houve uma tendência das fêmeas em escolher machos provenientes do mesmo fruto hospedeiro. No experimento de troca de fruto hospedeiro com uma população de laboratório, os resultados mostraram que houve um decréscimo na taxa de emergência de adultos, além de outros que apresentaram malformações. Os efeitos provocados por essa mudança de substrato do desenvolvimento larval foram distintos para as asas e cerdas, havendo manifestação no aumento da assimetria flutuante apenas nessas últimas. A diferença de resposta das estruturas pode resultar de distinção na robustez dos mecanismos que promovem a estabilidade ontogenética dessas estruturas. No presente estudo foi possível avaliar que o fruto hospedeiro no qual a larva se desenvolve, influencia a morfologia das asas, o reconhecimento de parceiros reprodutivos e pode ser um fator de estresse durante a ontogenia de *A. sp.1 aff. fraterculus*.



## Abstract

---

The fruit flies of Tephritidae family are insect pests distributed around the tropical and subtropical regions of the world. Among these flies, *Anastrepha fraterculus* is one of the most important pest species in the Neotropical Region. In reality, *A. fraterculus* correspond to a complex of cryptic species that shows differences in relation to the usage of host plants for larval development. The present study aimed to investigate if the use of distinct host fruits causes morphological and/or reproductive alterations in individuals from population samples of *A. sp.1 aff. fraterculus* derived from distinct sympatric fruits. To attain this goal, two series of experiments were conducted: (a) morphological analyses of the wings and of head bristles, besides the description of the sensilla types in the flagellum, and (b) tests on choice of reproductive partners derived from different host fruits. Morphometric analyses show variation in the wings to be associated to distinct fruits and that asymmetry vary among samples. The number of trichomes was invariable in the wings exhibiting subtle morphological distinctions, indicating that the differences might be due to shape and/or size of the cells. Fluctuating asymmetry in the number and position of head bristles is varied significantly among the flies derived from distinct fruits. The analysis on the distribution of sensilla along the flagellum revealed that the distribution of each one is distinct, most of variation occurring at the median region, however for four sensilla types no differences were detected. Experiments on mating choice showed a tendency of females to elect males derived from the same fruit type. The experiments on effects of host fruit changing in a laboratory colony of flies showed that a decrease in adult emergence did occur. An increase in the number of malformed adults was observed. The observed effects of changing the substrate for larval development were distinct for wings and bristles with an increase in the asymmetry of the latter. The distinction in response of the structures is suggestive that differences may exist in the robustness of the mechanisms that afford ontogenetic stability of wings and bristles. The present study indicates that the fruit in which the larvae develop has influence in the morphology of the wings, in the recognition of reproductive partners and may be a stressing factor during the ontogeny of *A. sp.1 aff. fraterculus*.

## I. Introdução

---

As moscas-das-frutas verdadeiras pertencem à família Tephritidae e utilizam frutos como substrato alimentar no estágio de larva. Quando os frutos são de valor comercial, causam grandes perdas na produção, sendo por isso consideradas as principais pragas da fruticultura mundial (Aluja e Norrbom 2000). Os prejuízos aos produtores (cerca de 170 milhões de dólares ao ano) envolvem as perdas diretas e as indiretas geradas pelas barreiras quarentenárias que restringem a exportação e comercialização dos frutos que atacam (Zucchi 2000); no Brasil anualmente são produzidos cerca de 43 milhões de toneladas de frutos e somente 2% pode ser exportado devido à presença de espécies-praga nas áreas de cultivo. No Brasil, as moscas-das-frutas de importância econômica pertencem a quatro gêneros: *Anastrepha*, *Bactrocera*, *Ceratitis* e *Rhagoletis*. O gênero *Anastrepha* é o mais abundante, com 113 espécies registradas no país (Zucchi 2008), mas apenas sete são economicamente importantes: *Anastrepha fraterculus sensu lato*, *A. grandis*, *A. obliqua*, *A. pseudoparallela*, *A. sororcula*, *A. striata* e *A. zenildae* (Zucchi 2000). Dentre estas, a espécie de maior importância econômica é *A. fraterculus (sensu lato)*, conhecida como “mosca-das-frutas Sulamericana”.

Algumas espécies de moscas-das-frutas têm distribuição geográfica restrita e baixa capacidade de se adaptar a novos ambientes, como a maioria das espécies das regiões temperadas do gênero *Rhagoletis*, enquanto outras são invasoras e altamente colonizadoras, como *Ceratitis capitata* (Malavasi 2001). Duas estratégias de utilização de recursos ocorrem durante o estágio larval. Na primeira, espécies são altamente

especializadas (monófagas, oligófilas), explorando hospedeiros de apenas um determinado gênero ou família de plantas. Na segunda, são generalistas (polípagas) infestando um grande número de hospedeiros não relacionados. As espécies mais relevantes do ponto de vista econômico, em geral, generalistas (Selivon 2000).

As estratégias de exploração de recursos (especialistas ou generalistas) estão associadas a diferenças no comportamento das moscas-das-frutas, uma vez que a distribuição dos frutos influencia no local e no modo que os indivíduos se encontram para o acasalamento (Selivon 2000). Os comportamentos que envolvem a corte e a cópula das moscas-das-frutas são bastante elaborados e envolvem uma série de sinalizações (Aluja *et al.* 1999). Postula-se que existam duas estratégias de acasalamento. Em uma estratégia, o macho estabelece território no fruto e “força” a cópula quando as fêmeas visitam o fruto para oviposição. Esse tipo de estratégia normalmente é desempenhado por espécies univoltinas, especialistas e de clima temperado – existem exceções, como, por exemplo, a espécie *Anastrepha bistrigata* que é multivoltina e de clima tropical (Selivon e Morgante 1997). A outra estratégia, desempenhada pela maioria das espécies multivoltinas, generalista e de clima tropical, consiste na chegada de machos na planta hospedeira, onde se reúnem e formam agregados denominados *leks*. Uma vez agregados, os machos iniciam um elaborado comportamento que inclui a emissão de sinais acústicos por meio do batimento das asas e emissão de feromônio. Quando as fêmeas receptivas se aproximam, elas interagem com vários machos até escolher seu parceiro. Um dos comportamentos das fêmeas é ficar frente-a-frente com o macho, que passa a executar uma série de movimentos com as asas. O número de rejeições pela fêmea é alto, o que indica que há uma escolha da fêmea pelo parceiro sexual (Sugayama e Malavasi 2000). Vários parâmetros de preferência podem estar relacionados a essa escolha, entre eles

tamanho (Sivinski e Burk 1989) e assimetria. Estudos que analisaram as simetrias das asas e das antenas de *C. capitata*, mostraram que há uma preferência das fêmeas por machos simétricos (Hunt *et al.* 1998, Hunt *et al.* 2002); o mesmo foi encontrado para a espécie *A. sp.1 affinis fraterculus* (Perre *et al.*, em preparação), para simetria das asas e cerdas frontais da cabeça. Outros fatores que talvez influenciem na escolha do parceiro são as composições químicas dos feromônios e hidrocarbonetos de cutícula do macho. As duas estratégias descritas acima se iniciam com a localização da planta hospedeira por meio do reconhecimento de voláteis emitidos pela planta (Aluja e Prokopy 1992).

A constituição química da dieta é um dos precursores da síntese de feromônios e dos hidrocarbonetos de cutícula (Rundle *et al.* 2005, Symonds e Elgar 2008) nos insetos. Como essas substâncias atuam no reconhecimento espécie-específico, diferenças na composição dos feromônios podem atuar nos processos de divergência entre espécies, promovendo ou reforçando o isolamento reprodutivo (Smajda e Butlin 2009). A divergência na composição do feromônio pode, conseqüentemente, levar também a alterações nas estruturas quimiorreceptoras. Nas moscas-das-frutas as estruturas responsáveis pela percepção dos estímulos químicos (voláteis) são as diferentes sensilas presentes nos flagelos das antenas (Giannakakis e Fletcher 1985).

Estudos sobre os processos evolutivos e especiação indicam que as populações podem se divergir por meio de especiação alopátrica, parapátrica e simpátrica (Futuyma 2005), sendo o modelo alopátrico o mais aceito entre os pesquisadores. A especiação simpátrica ocorre quando fortes pressões seletivas fazem com que uma determinada população se adapte a dois ou mais regimes ambientais diferentes (nichos múltiplos), gerando isolamento progressivo das subpopulações e, por fim, resultando em especiação (Felsenstein 1981, Rueffler *et al.* 2006), ou seja, as populações podem se diferenciar

mesmo existindo um fluxo gênico moderado entre elas. Em relação à especiação simpátrica em insetos fitófagos, o primeiro estágio é a formação de raças-hospedeiro, que são definidas como populações de uma mesma espécie adaptadas na exploração de diferentes recursos e que, normalmente, apresentam um sistema de corte e cópula intimamente associado à planta hospedeira (Bush 1969). Raças-hospedeiro, além de poderem apresentar diferenças genéticas, tendem a apresentar diferenças na escolha do hospedeiro, tempo de eclosão, comportamento de corte e cópula (Berlocher e Feder 2002; Fordyce 2010, Cha *et al.* 2012). Esses fatores são suficientes para permitir uma forte seleção que supere o fluxo gênico, mantendo as diferenças entre as raças a cada geração.

Um exemplo clássico de formação de raças-hospedeiro é o caso da mosca da maçã, *Rhagoletis pomonella*. Essa espécie, nativa das regiões centro-norte e nordeste dos EUA, é especialista e tinha como hospedeiro o espinheiro (*Crataegus mollis*). Com a colonização europeia houve a introdução de plantações de maçã (*Mallus domestica*) e cerca de 200 anos depois foram encontradas larvas de *R. pomonella* infestando seus frutos. Esses indivíduos eram biologicamente distintos dos encontrados no espinheiro, ou seja, esse período foi suficiente para o surgimento de diferenças genéticas entre as populações, mas como ainda havia fluxo gênico entre elas, ainda que reduzido, foram consideradas raças-hospedeiro. As duas raças passaram a apresentar também diferenças no tempo de emergência dos adultos – uma vez que o espinheiro e a maçã frutificam em períodos diferentes e *R. pomonella* se trata de uma espécie univoltina com seu desenvolvimento sincronizado com a fenologia da planta hospedeira e os processos de corte e acasalamento ocorrem no fruto – e escolha do hospedeiro. Estudos genéticos mostram que existem diferenças entre as populações e que essas diferenças são

mantidas ano a ano, sugerindo que há uma preferência de cruzamento entre as raças (Feder e Bush 1989; Feder *et al.* 1990; Feder e Fichak 1999; Linn *et al.* 2003; Xie *et al.* 2008; Michel *et al.* 2010; Powell *et al.* 2014). Também foram encontradas diferenças nas respostas aos sinais químicos emitidos pelos frutos e preferência do macho na escolha do local de cópula e da fêmea em ovipor no mesmo fruto em que se desenvolveram (Cha *et al.* 2011, 2012; Powell *et al.* 2012). Esses fatores permitem um sistema de reconhecimento, superando os efeitos do fluxo gênico e mantendo as diferenças entre as raças a cada ano. Assim, *R. pomonella* se tornou uma praga agrícola, tanto que hoje é conhecida como mosca da maçã (Bush 1992) e se tornou uma raça distinta ou espécie incipiente (Bush 1975). Pelo mesmo processo de formação de raças-hospedeiro, essa mosca se expandiu pelos pomares norte-americanos e começou a explorar também cerejas, peras e pêsego, algumas dessas populações são consideradas espécies crípticas, como *R. mendax*, *R. zephyria* e *R. cornivora*, além de outras ainda não descritas (Berlocher 2000; Berlocher e Feder 2002; Rull *et al.* 2010; Powell *et al.* 2014).

Os mecanismos que mantêm populações simpátricas parcialmente isoladas e o surgimento de raças-hospedeiro podem estar relacionados com a escolha do local de oviposição pela fêmea e também com o acasalamento. Uma maneira de se compreender melhor esses mecanismos é por meio de estudos comportamentais de exemplares coletados em diferentes hospedeiros.

A espécie de mosca-das-frutas de maior importância econômica no Brasil e em alguns países da América do Sul é a *A. fraterculus* (*sensu lato*), conhecida como “mosca-das-frutas Sulamericana”. É uma espécie polífaga/generalista que ataca cerca de 80 espécies de frutos pertencentes a mais de 15 famílias diferentes (Norrbom 2004), sendo

várias de importância agrícola. Essa espécie encontra-se amplamente distribuída nas Américas, entre as latitudes 35° N e 35° S (Malavasi *et al.* 2000), ocorrendo desde o sul dos EUA ao centro da Argentina e norte do Chile (Basso *et al.* 2003) e ocupando ambientes bastante distintos.

Desde 1942, vários autores descreveram diferenças morfológicas, genéticas, cromossômicas e comportamentais em populações de *A. fraterculus*, sugerindo que essa espécie nominal corresponderia a um complexo de espécies crípticas (Stone 1942; Baker *et al.* 1944; Mendes 1958; Bush 1962; Morgante *et al.* 1980; Steck 1991; Steck e Sheppard 1993). Entretanto, com esses trabalhos não foi possível caracterizar as espécies que poderiam estar envolvidas.

Através de análises integradas de várias metodologias (análises de isozimas, de cromossomos, morfometria de asas e ovopositores, morfologia dos ovos e de compatibilidade reprodutiva) aplicadas em amostras de *A. fraterculus s.l.*, foi possível mostrar que no Brasil, existem pelo menos três grupos genéticos e morfológicos claramente distintos de *A. fraterculus* – reconhecidos como *A. sp.1 affinis fraterculus*, *A. sp.2 aff. fraterculus* e *A. sp.3 aff. fraterculus* (no decorrer deste trabalho as espécies do complexo serão denominadas abreviadamente em *A. sp.1*, *A. sp.2* e *A. sp.3*) (Selivon 1996; Selivon e Perondini 1998; Selivon *et al.* 1999, 2004, 2005<sup>a</sup>, 2005<sup>b</sup>).

Outros estudos de análises genéticas do gênero *Anastrepha* foram realizados e indicaram a existência do complexo; McPherson *et al.* (1999) analisaram a região 16S do DNAr, Smith-Caldas *et al.* (2001) analisaram sequências da COI do DNAm e Barr *et al.* (2005) o gene *period*, ambos encontraram sequências distintas umas das outras e mostraram que *A. fraterculus* não é monofilética.

Mais recentemente, análises morfométricas (Hernandez-Ortiz *et al.* 2004, 2012, 2015) mostraram que ao longo da Região Neotropical existe uma grande diversidade morfológica no complexo *fraterculus*, sendo observado que podem existir, na realidade, oito grupos de morfotipos no complexo: um grupo Mexicano (America Central), um grupo Venezuelano (terras baixas da Venezuela); um grupo Andino (Venezuela/Colômbia); um grupo Peruano (Equador), Equatoriano (Equador) e os outros três grupos brasileiros, Brasil-1 (*A. sp.1*/Argentina), Brasil-2 (*A. sp.2*) e Brasil-3 (*A. sp.3*). A classificação dos morfotipos descritos por Selivon (2004, 2005a) e Hernadéz-Ortiz (2004) foram confirmadas geneticamente por meio de análises do marcador molecular ITS1 do DNA ribossômico (Prezotto 2008). O trabalho de Devescovi *et al.* (2014) também sugere a existência desses oito morfotipos pois demonstrou que existem barreiras pré e pós-copulatórias entre as populações andinas, mexicanas, peruanas, brasileiras e argentinas.

Outras análises concomitantes demonstraram que existe incompatibilidade reprodutiva entre as entidades do Peru, Argentina, Colômbia e Brasil (Vera *et al.* 2006; Rull *et al.* 2012) e entre outras características biológicas de exemplares da Argentina e Peru (Cáceres *et al.* 2009).

Em um recente trabalho, Dias *et al.* (2015) também utilizaram uma abordagem multidisciplinar para estudar as espécies do complexo. Analisaram a compatibilidade reprodutiva e compararam os comportamentos (incluindo sinais acústicos), variabilidade na morfometria das fêmeas, variação no gene COI entre populações da região Sul (Vacaria, Pelotas, Bento Gonçalves, São Joaquim) e Sudeste (Piracicaba) do Brasil. Os resultados mostraram uma parcial compatibilidade reprodutiva (as fêmeas de Piracicaba preferiram acasalar com machos da mesma população), isolamento pré-zigótico entre as populações das diferentes regiões e que a população de Piracicaba difere geneticamente



e morfológicamente das outras, previamente classificadas como *A. sp.1* por Selivon *et al.* (2005a) e Hernandez-Ortiz *et al.* (2012, 2015). Porém, as moscas de Piracicaba utilizadas nos experimentos eram de uma população de laboratório, criadas a mais de 50 gerações em condições controladas e sabe-se que as moscas da família Tephritidae alteram seus comportamentos e sutilmente a morfologia quando criadas em condições de laboratório (Cayol *et al.* 1999, Schutze *et al.* 2015); assim não é possível afirmar que esteja havendo um processo de divergência entre essas populações.

As variações (morfológicas, genéticas e comportamentais) encontradas em populações do complexo *A.f.* descritas acima, relacionam-se com diferenças geográficas, o que envolve diferenças climáticas e ecológicas. No entanto, variabilidade na morfologia de indivíduos simpátricos também foi encontrada. Através de técnicas de análise de imagens computadorizadas e morfometria, indivíduos coletados em três hospedeiros (goiaba, nêspera e pêsego) apresentaram diferenças relacionadas aos hospedeiros na forma e coloração das asas e forma dos acúleos (Perre 2012). Tais coletas ocorreram em um mesmo pomar e em períodos com condições climáticas semelhantes, o que evidencia que a variação pode ter sido causada pelos hospedeiros e não por variáveis ambientais e geográficas. Porém o pomar em que as amostras foram coletadas localiza-se na região Sudeste do Brasil, onde há registros dos três morfotipos de *A.f.* brasileiros (*A. sp.1*, *A.sp.2* e *A.sp.3*) e, como a autora não levou em consideração a existência do complexo *A.f.*, tais variações morfológicas podem não ser decorrentes do fruto hospedeiro e sim por se tratarem de entidades distintas. Já Oroño *et al.* (2013) estudaram indivíduos provenientes de três hospedeiros diferentes localizados em uma mesma região na Argentina, onde é encontrada apenas *A. sp.1*; por meio da análise do ISSR os autores encontraram um baixo

fluxo gênico entre as populações e a ADL da composição genética dessas populações as separaram em grupos distintos.

Além de responder questões sobre o processo de diferenciação das espécies, a definição das espécies crípticas do complexo *A. f.* é de relevante importância, pois ao longo da sua distribuição, há populações com *status* de praga, enquanto outras não apresentam importância econômica, assim as restrições quarentenárias e de exportação dos frutos não seriam exigidas em todas as regiões. Além disso, uma das maneiras de combater essa praga é através da TIE (técnica do inseto estéril), que consiste na liberação em grandes quantidades (milhões por semana) de machos estéreis, produzidos em laboratório, no campo (Hendrichs *et al.* 1995), sendo a compatibilidade reprodutiva entre as fêmeas selvagens e os machos estéreis criados nas biofábricas essencial para o sucesso desse método de controle (Cayol 1999, Meza-Hernández e Díaz-Fleischer 2006, Benelli *et al.* 2014a, 2014b). Uma condição básica para que esse programa de controle seja eficiente, além de garantia da identidade correta da espécie, é que o macho liberado seja competitivo suficiente com os machos residentes da população residente. Hunt *et al.* (1998), ao estudarem o acasalamento de moscas-das-frutas da espécie *C. capitata* criadas em uma biofábrica (Mosamed Guatemala), mostraram que machos simétricos em relação às cerdas da antena e às asas obtiveram maior sucesso de cópula que machos assimétricos. Esses resultados foram confirmados posteriormente em experimentos realizados no campo em duas localidades, na Grécia e na Guatemala (Hunt *et al.* 2004).

Um organismo simétrico é aquele que pode ser dividido ao longo de um eixo e gerar duas metades iguais. Grande parte dos animais possui simetria bilateral e seus corpos são divididos em lado esquerdo e lado direito. O desenvolvimento de ambos os lados, que ocorre durante o desenvolvimento embrionário, está sob controle genético; assim, o

esperado é que estes sejam idênticos, pois são produtos da expressão de um mesmo genoma (Palmer 1996). Diferenças entre os lados direito e esquerdo supostamente refletiriam uma instabilidade nesse processo de desenvolvimento, causada pela incapacidade do indivíduo em neutralizar as perturbações na sua trajetória ontogenética (Palmer e Strobeck 1986). Esse padrão de diferenças entre as estruturas presentes nos lados esquerdo e direito do corpo é denominada assimetria flutuante (AF). Além da ocorrência de AF, são reconhecidas a assimetria direcional (AD) e a antissimetria. A diferenciação entre esses três padrões é percebida pela distribuição das diferenças entre as medidas dos dois lados do corpo. Na assimetria flutuante, os desvios são considerados aleatórios, e a maioria dos modelos assume uma distribuição normal em torno de um valor médio de zero. Na assimetria direcional, há um desvio consistente para um dos lados, formando uma distribuição em torno de um valor diferente de zero. Já na antissimetria, que é mais rara, há um desvio consistente e aleatório para ambos os lados. A assimetria direcional e a antissimetria têm uma determinação genética, e, portanto, não servem como indicadores de perturbações no desenvolvimento. Por isso, é necessário caracterizar o tipo de assimetria que determinada estrutura apresenta para saber se pode ser utilizada como indicador de perturbações durante o desenvolvimento ontogenético.

Por estar associada à instabilidade no desenvolvimento de um organismo, a AF vem sendo utilizada por muitos pesquisadores como indicador de estresse ao longo do desenvolvimento (Leary e Allendorf 1989; Imasheva *et al.* 1998; Milton *et al.* 2003). As causas desse estresse podem ser genéticas ou ambientais. Assim, um organismo que tiver um aparato genético robusto adaptado ao ambiente em que ocorre seu desenvolvimento, é menos suscetível a perturbações ao longo do desenvolvimento, logo

apresenta baixa AF. Fatores como condições extremas de temperatura, altitude, poluição, fragmentação, nutrição, parasitismo, bem como estresses genéticos aumentam a assimetria flutuante em diferentes grupos animais, como insetos (Tsubaki 1997; Klingenberg *et al.* 1998; Vishalakshi 2011), lagartos (Sarre e Dear, 1991; Sarre 1996; Ji *et al.* 2002), aves (Anciães e Marini 2000; Lens *et al.* 2002) e mamíferos (Sciulli *et al.* 1979;). Porém, alguns autores não encontraram essa relação do estresse associado com o aumento da AF (Markow 1995; Kanegae e Lomônaco, 2003).

Vários estudos também utilizam a AF como um indicador de aptidão e desempenho dos indivíduos, especificamente em relação à fertilidade, crescimento, sucesso reprodutivo e as taxas de sobrevivência individual (Somarakis *et al.* 1997; Morris *et al.* 2012). Em uma revisão, Møller e Thornhill (1998), analisaram 65 estudos que relacionam a AF com o sucesso reprodutivo ou atratividade sexual e mostraram que existe uma relação negativa moderada entre a assimetria e essas características.

Existe uma diversidade de maneiras para medir os níveis de AF tanto em nível individual quanto em uma população (Palmer 1996; Graham *et al.* 1998). O mais recomendado é o uso de múltiplos caracteres para testar diferenças na estabilidade do desenvolvimento de forma a apresentar um padrão de variação real e não apenas uma característica particular de uma determinada estrutura (Palmer e Strobeck 1986; Leary e Allendorf 1989; Palmer 1996).

Os desvios de simetria podem, portanto, ser considerados produtos de perturbações (genéticas ou ambientais) experienciadas pelo indivíduo durante sua ontogenia. Já a plasticidade fenotípica é a capacidade de um genótipo de expressar fenótipos distintos, quando exposto a diferentes condições durante a ontogenia (Gotthard e Nylin 1995), sendo bastante comum a vários organismos. O fenótipo

normalmente “reage” a condições ambientais diferentes segundo uma norma de reação, ou seja, com pressões seletivas distintas (Nijhout 2003); essa variação no fenótipo pode ser causada por diferenciação genética, adaptativa ou não.

A plasticidade fenotípica é bastante comum e até esperada, já que o ambiente inclui todas as condições às quais o organismo está exposto durante o desenvolvimento, sendo o resultado direto de diferentes estímulos ambientais sobre os processos bioquímicos e fisiológicos do desenvolvimento (Gotthard e Nylin 1995; Pigliucci *et al.* 2006; Ragland *et al.* 2012). As variações fenotípicas se dão em vários níveis de organização do organismo, assim podem ser bioquímicas, fisiológicas, morfológicas e comportamentais. Geralmente, mas não exclusivamente, a fisiologia e o comportamento respondem ao ambiente de forma rápida, havendo alterações nessas características várias vezes ao longo do período de vida de um indivíduo. A maior parte dos casos de plasticidade na morfologia, no entanto, é resultado de estímulos ambientais atuando durante as primeiras fases do desenvolvimento, sendo, portanto irreversíveis, ou de resposta lenta (Pigliucci *et al.* 2006). Em insetos fitófagos o polimorfismo associado ao hospedeiro pode representar um importante estágio no processo de especiação (Feder e Bush 1989). No caso específico de insetos holometábolos, toda a morfologia do adulto é definida durante o desenvolvimento das fases imaturas, e irreversível após a metamorfose.

Há uma grande diversidade de estímulos ambientais que podem gerar respostas fenotípicas, como temperatura, umidade, pressão, fotoperíodo, disponibilidade de alimentos e abrigo, presença de inimigos naturais, substâncias tóxicas. Historicamente, os trabalhos clássicos acerca de influências ambientais no fenótipo estudaram influências da

temperatura, no caso de animais, e do fotoperíodo, no caso de plantas, por serem as duas variáveis ambientais mais facilmente medidas e controladas experimentalmente.

Os insetos fitófagos e suas plantas hospedeiras são um excelente modelo no estudo da influência do ambiente sobre o fenótipo (incluindo AF), uma vez que as plantas hospedeiras são, praticamente, a única fonte de alimento e modulam a interação do herbívoro com outras espécies (Schoonhoven 2005; Soto *et al.* 2014). Assim, espera-se que a planta hospedeira exerça influência em diversas características dos insetos herbívoros, desde diferenças relacionadas ao desempenho até diferenças sutis na morfologia (Gotthard e Nylin 1995), atuando como um fator epigenético. Para os endófagos, a planta hospedeira, além de fonte de alimento, é o ambiente em que estão inseridos durante toda fase imatura. No caso das moscas-das-frutas, o embrião e a larva passam por todo seu desenvolvimento no interior do fruto hospedeiro, o que torna a relação entre o indivíduo e sua planta hospedeira bastante intensa.

Diferentes hospedeiros alternativos proporcionam ambientes de criação diversos na natureza, o que pode contribuir para variações morfológicas e genéticas de populações. Assim, a espécie *A. sp.1*, que é polífaga, constitui um ótimo modelo biológico para o estudo das bases ecológicas e genéticas de adaptação e diferenciação entre populações.

## II. Objetivos

---

Esse trabalho tem como objetivo investigar se a utilização de diferentes frutos hospedeiros por uma espécie polífaga, *Anastrepha sp.1 affinis fraterculus*, resulta em diferenças morfológicas e/ou comportamentais.

### II.1. Objetivos Específicos

1. Verificar eventuais variações morfológicas nas asas por meio de análise de morfometria geométrica;
2. Verificar se eventuais alterações morfológicas das asas resultariam do aumento do número ou tamanho das células das asas;
3. Avaliar se os diferentes frutos hospedeiros causam perturbações ontogenéticas pela análise de assimetria de diferentes estruturas;
4. Avaliar se indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros apresentam diferenças nos tipos de sensilas quimiorreceptoras dos flagelos das antenas;
5. Avaliar se a mudança na utilização do fruto hospedeiro seria um fator de estresse capaz de causar perturbações ontogenéticas;
6. Verificar se existe preferência na escolha de parceiros sexuais entre os indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros.

### III. Material e Métodos

---

#### III.1. Obtenção das amostras de *A. sp.1 affinis fraterculus*

Foram realizadas coletas de frutos em pomares de dois centros experimentais, o IAC (Instituto Agronômico de Campinas – Centro de Frutas) localizado no município de Jundiaí-SP e a APTA – Leste (Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Polo Leste) no município de Monte Alegre do Sul-SP e em um pomar no município de Poços de Caldas-MG (Tabela I). Os frutos coletados foram levados ao laboratório e acondicionados em caixas plásticas contendo vermiculita. Após sete dias, a vermiculita foi peneirada para obtenção das pupas, que foram colocadas em caixas plásticas separados para emergência dos adultos. Os frutos que continham larvas e pupas foram novamente acondicionados para uma nova triagem após uma semana. Após a emergência e identificação, os adultos foram armazenados em álcool 70% a -20°C para a identificação molecular e análises morfológicas. Para os experimentos de comportamento, os adultos foram separados por sexo e acondicionados em gaiolas até atingirem a maturidade sexual. A identificação da espécie foi confirmada por meio da análise do marcador molecular ITS1 do DNA ribossômico (Anexo I).



**Tabela I:** Localidades e frutos hospedeiros coletados.

<b>Localidade</b>	<b>Fruto hospedeiro</b>
IAC*	Ameixa (exótica)
Jundiaí-SP (23°06'46"S; 46°55'56"W)	<i>Prunus salicina</i> (Rosaceae)
	Goiaba (nativa)
	<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)
	Jambo (exótica)
	<i>Syzygium jambos</i> (Myrtaceae)
	Maçã (exótica)
	<i>Mallus</i> spp. (Rosaceae)
	Nêspera (exótica)
	<i>Eriobotrya japônica</i> (Rosaceae)
	Pêssego (exótica)
	<i>Prunus pérsica</i> (Rosaceae)
	Umê (exótica)
	<i>Prunus mume</i> (Rosaceae)
	Uvaia (nativa)
	<i>Eugenia pyriformis</i> (Myrtaceae)
APTA**	Café (exótica)
Monte Alegre do Sul – SP (22°40'50"S; 46°40'45"W)	<i>Coffea arábica</i> (Rubiaceae)
	Goiaba (nativa)
	<i>Psidium guava</i> (Myrtaceae)
	Nêspera (exótica)
	<i>Eriobotrya japônica</i> (Rosaceae)
	Pêssego (exótica)
	<i>Prunus pérsica</i> (Rosaceae)
Poços de Caldas – MG (21°47'18"S; 46°33'45"W)	Café (exótica)
	<i>Coffea arabical</i> (Rubiaceae)
	Nêspera (exótica)
	<i>Eriobotrya japônica</i> (Rosaceae)

\* IAC: Instituto Agronômico de Campinas.

\*\* APTA: Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios.

## **III.2. Análises morfológicas de indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros de ocorrência simpátrica**

### **III.2.1. Morfologia das asas**

As asas direita e esquerda de cada indivíduo foram retiradas com auxílio de pinças e incluídas em um meio de montagem (Entelan®) entre lâmina e lamínula. Após a secagem, as asas foram fotografadas com câmera digital Leica IC A acoplada a um estereomicroscópio Leica MZ 125, com aumento de 20x.

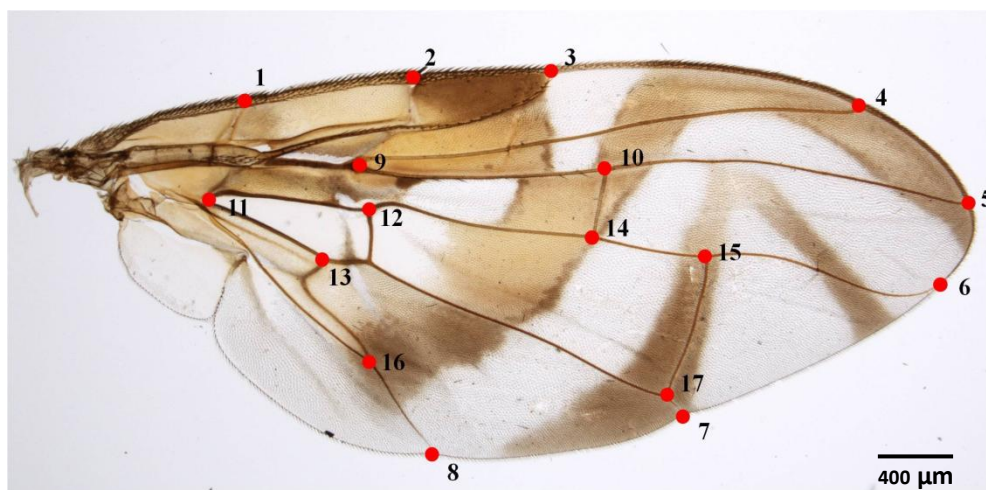
#### **III.2.1.1. Morfometria geométrica**

Para verificar se os frutos hospedeiros influenciam na forma das asas, foi realizada uma análise de morfometria geométrica. Foram utilizadas imagens da asa direita de indivíduos (fêmeas e machos) provenientes de frutos coletados no município de Jundiaí – SP (IAC), totalizando 150 imagens (Tabela II). Com o auxílio do *software* TpsUtil versão 1.38 (Rohlf 2006), foi gerado um arquivo que permite a análise das imagens. Posteriormente, um conjunto de 17 marcos anatômicos homólogos determinados pelo sistema de venação das asas (Figura 1) foi mapeado em cada imagem utilizando o *software* TpsDig versão 1.40 (Rohlf 2004) e então transformados em coordenadas cartesianas (x e y). Primeiramente, as conformações dos marcos anatômicos foram superpostas pelo método de Procrustes para eliminar variações causadas pela posição e rotação das asas e para excluir os efeitos do tamanho, uma vez que todos os indivíduos são padronizados para o mesmo tamanho. A partir dessas conformações transformadas, foi realizada uma Análise de Variância Multivariada (ANOVA) para detectar a variação,

seguida de uma Análise de Componentes Principais (ACP), com o objetivo de descrever e visualizar a variação entre indivíduos provenientes das diferentes amostras. Também foi realizada uma Análise Discriminante Linear (ADL), para verificar a possibilidade de separar os espécimes apenas com base na forma da asa. As análises foram realizadas no *software* R (R Development Core Team 2008), utilizando o *geomorph-package*.

**Tabela II:** Número de imagens das asas de fêmeas e machos provenientes de diferentes frutos hospedeiros utilizado nas análises de morfometria geométrica.

Fruto hospedeiro	Fêmeas	Machos	Total de imagens
Ameixa	9	8	17
Goiaba	10	10	20
Jambo	6	7	13
Maçã	12	8	20
Nêspera	10	10	20
Pêssego	10	10	20
Umê	10	10	20
Uvaia	10	10	20



MARCOS ANATÔMICOS	DESCRIÇÃO
1	Intersecção das nervuras costal e umeral (C e h)
2	Intersecção da nervura subcostal (Sc) e a borda da asa
3	Intersecção do setor radial $R_1$ e a borda da asa
4	Intersecção do setor radial $R_{2+3}$ com a borda da asa
5	Intersecção do setor radial $R_{4+5}$ com a borda da asa
6	Intersecção da nervura mediana (M) com a borda da asa
7	Intersecção da nervura cubital $A_1$ ( $CuA_1$ ) com a borda da asa
8	Intersecção da nervura anal (A) com a borda da asa
9	Intersecção das nervuras $R_1$ e $R_{2+3}$
10	Intersecção da nervura r-m e o setor radial $R_{4+5}$ (r-m e $R_{4+5}$ )
11	Intersecção da nervura M e a base da célula bm
12	Intersecção das nervuras M e m-cu
13	Intersecção das nervuras m-cu e $CuA_1$
14	Intersecção das nervuras mediana e r-m (M e r-m)
15	Intersecção das nervuras dm-cu e a mediana(dm-cu e M)
16	Intersecção da nervura A e ápice da célula cup
17	Intersecção das nervuras $CuA_1$ e dm-cu

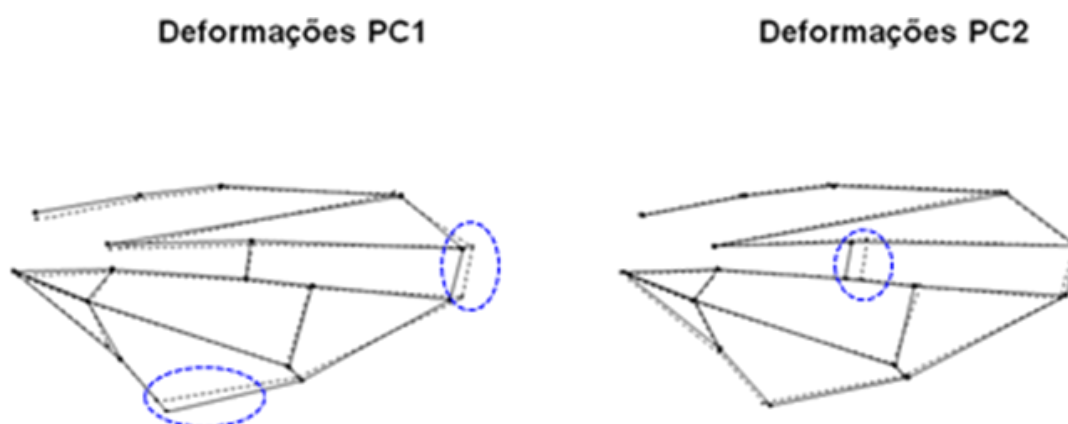
**Figura 1:** Marcos anatômicos e descrição das nervuras das asas.

### III.2.1.2. Número de tricomas

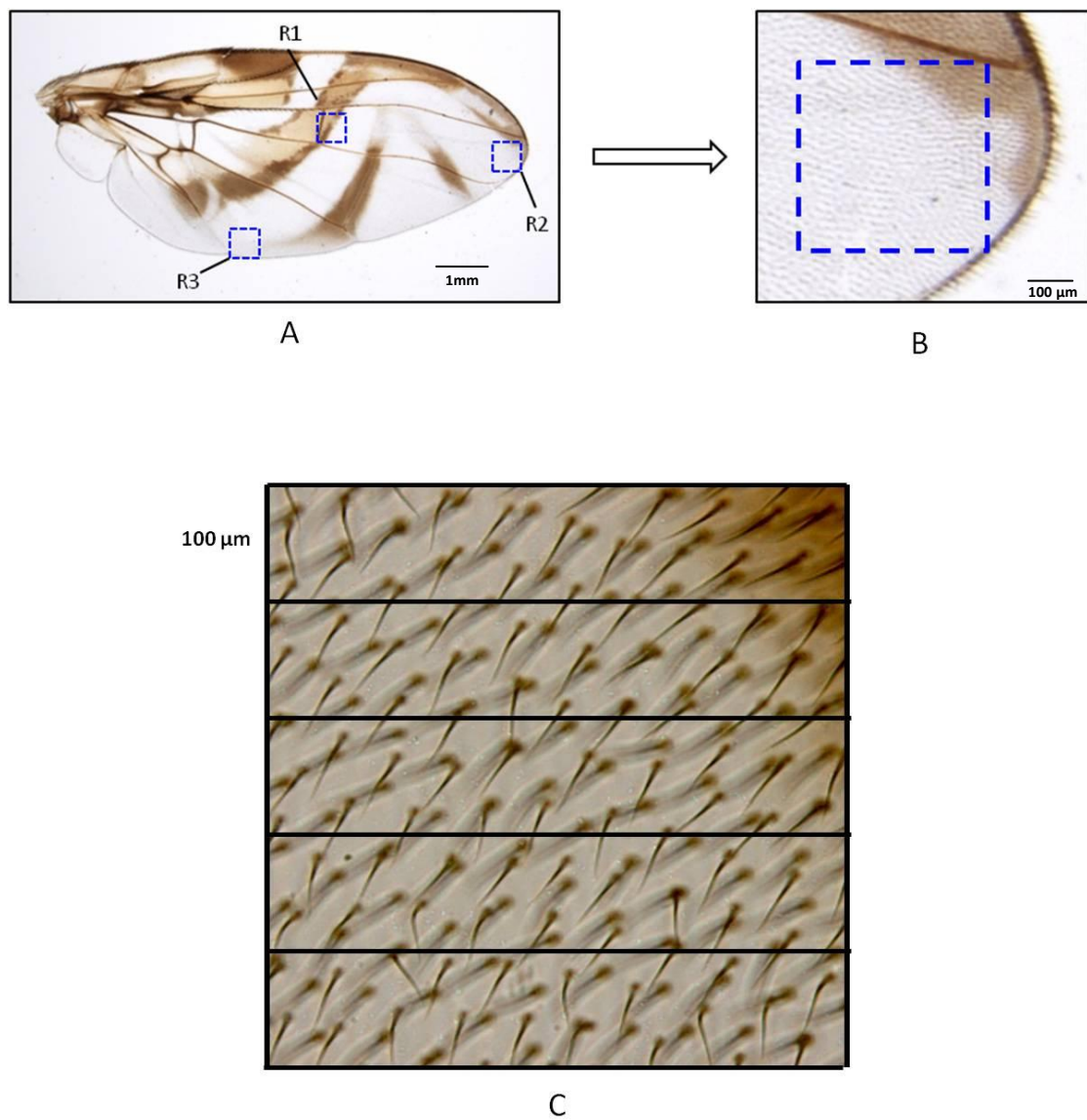
As asas dos dípteros são formadas por células que estão associadas cada uma a um tricoma; assim, o número de tricomas existente na asa equivale ao número de células que ela possui (Dobzhansky 1929). O trabalho de Perre (2012) mostrou, por meio de análises de morfometria geométrica, que as formas das asas variam entre indivíduos provenientes de diferentes hospedeiros e que essa variação ocorre principalmente devido a alterações em três regiões das asas (Figura 2). A fim de esclarecer se a variação na forma das asas ocorreu devido a uma diferença no número de células ou no tamanho das células, os mesmos indivíduos utilizados por Perre (2012) – provenientes de goiaba, nêspera e pêssigo, coletados em um pomar em Monte Alegre do Sul-SP – foram analisados. Foram aleatorizadas 12 asas (preparações permanentes/lâminas) de cada amostra e dessas foram obtidas medidas de comprimento e largura (Figura 3). Para estimar o número de células em cada região, foram determinadas três áreas de 250mm<sup>2</sup>, chamadas de R1, R2 e R3, sendo uma em cada região. Cada área foi dividida em cinco subáreas de 1mm de lado para facilitar a contagem dos tricomas (Figura 3). O total de tricomas de cada área é a soma dos números de cada subárea. As asas foram analisadas em um microscópio Zeiss aumento 312x, a contagem do número de tricomas foi feita por meio de câmera clara acoplada ao microscópio com auxílio de um registrador eletrônico que possui um contador de batidas inserido em um circuito elétrico como mostra Figura 4. Foram analisados apenas os números de tricomas da lâmina lado dorsal da asa.

Para cada amostra (diferentes frutos hospedeiros) primeiramente foi testada a correlação entre o tamanho da asa e o número de células que elas apresentam. As medidas utilizadas para estimar o tamanho das asas foram comprimento e largura da asa (Figura 5). Foram realizados testes de correlação e regressões para entre comprimento da

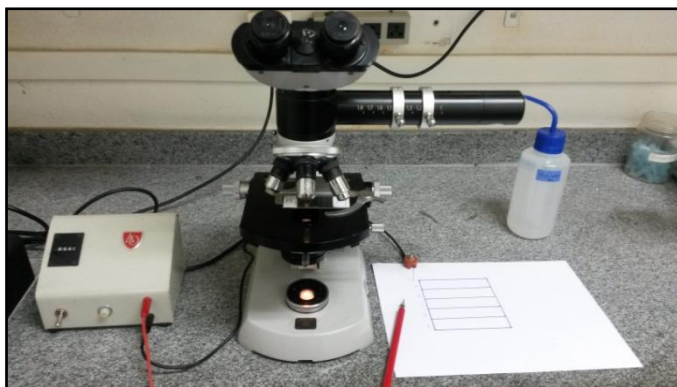
asa e número de tricomas na R1 e na R2 e entre largura e número de tricomas na R1 e na R3 nas três amostras. Foram, então, calculados a média e desvio padrão do número de tricomas em cada região nas diferentes amostras seguidos de um teste de normalidade. Para a detecção de eventuais diferenças entre as amostras, foi realizada uma ANOVA para cada região analisada. As análises foram feitas no *software* Statistica10 (STATSOFT 2010).



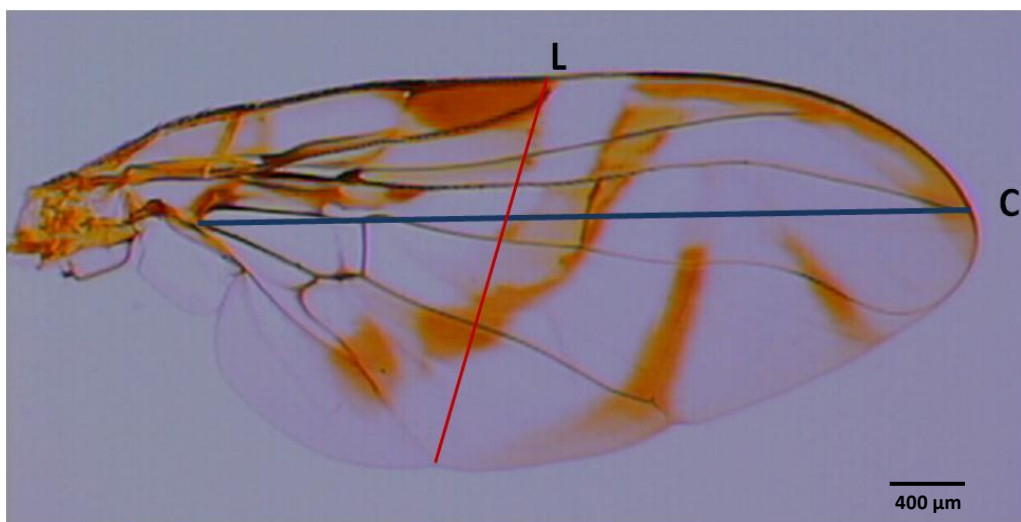
**Figura 2:** Variação na forma da asa ao longo dos dois primeiros eixos da ACP de *A. fraterculus sensu lato* provenientes de três hospedeiros (goiaba, nêspera e pêsego). A linha tracejada representa a forma em valores mínimos e a linha contínua representa a forma em valores máximos. Reproduzido de Perre (2012).



**Figura 3:** A: Localização das três áreas (R1, R2 e R3) que foram contadas de acordo com as regiões que sofreram deformações (Perre 2012). B: Imagem de R2 com destaque para área de contagem. C: subáreas analisadas.



**Figura 4:** Câmera clara acoplada ao microscópio óptico e registrador eletrônico que possui um contador de batidas inserido em um circuito elétrico.



**Figura 5:** Medidas (mm) utilizadas para inferir o comprimento (C) e largura (L) da asa. C: reta que vai da intersecção da nervura M e a base da célula  $bm$  à intersecção do setor radial  $_{4+5}$  ( $R_{4+5}$ ) com a borda da asa. L: reta que vai da intersecção do setor radial  $_1$  ( $R_1$ ) e a borda da asa à intersecção da nervura anal (A) com a borda da asa.



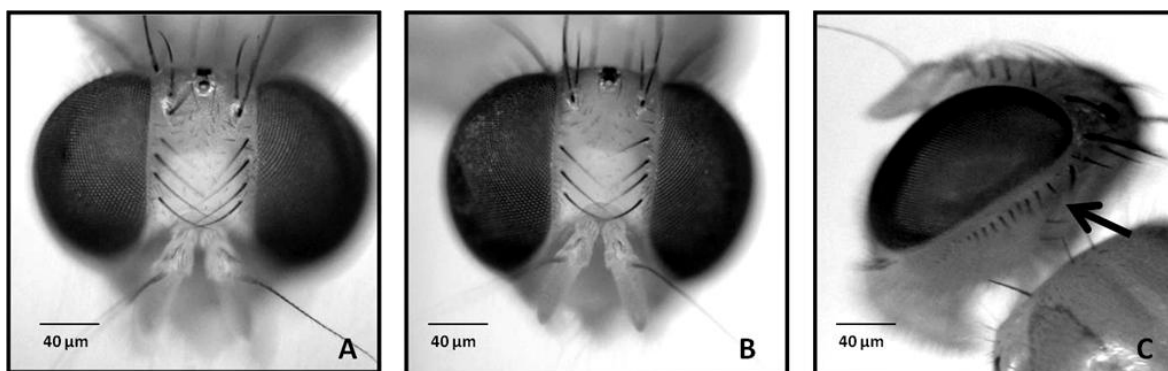
### III.2.1.3. Assimetria

Para as análises que buscavam avaliar a existência de diferentes níveis de assimetria das asas entre as amostras, primeiramente as imagens das asas esquerdas foram invertidas no programa Microsoft Picture Manager, para que todas as imagens ficassem no mesmo sentido, e duplicadas, gerando um arquivo com 588 imagens. Com o auxílio do *software* TpsUtil versão 1.38 (Rohlf 2006), foi gerado um novo arquivo que permite a análise das imagens. Posteriormente, os 17 marcos anatômicos homólogos determinados pelo sistema de venação das asas (Figura 1) foram marcados em cada imagem utilizando o *software* TpsDig versão 1.40 (Rohlf 2004), esses marcos foram transformados em coordenadas cartesianas (x e y) para análises estatísticas. Como na morfometria geométrica, foi realizada a superposição de Procrustes para determinação do centroide seguida de uma ANOVA para cada conjunto de imagens (referente a cada fruto hospedeiro) para testar o tipo de assimetria, tanto em relação à forma quanto ao tamanho das asas. Em seguida, para analisar se os graus de assimetria das asas diferem entre os indivíduos provenientes dos diferentes frutos hospedeiros, os dados foram comparados por meio de uma ANOVA. Todas as análises foram realizadas no software R (R Development Core Team, 2008), utilizando o pacote *geomorph-package*.

### III.2.2. Assimetria das cerdas frontais e pós-oculares

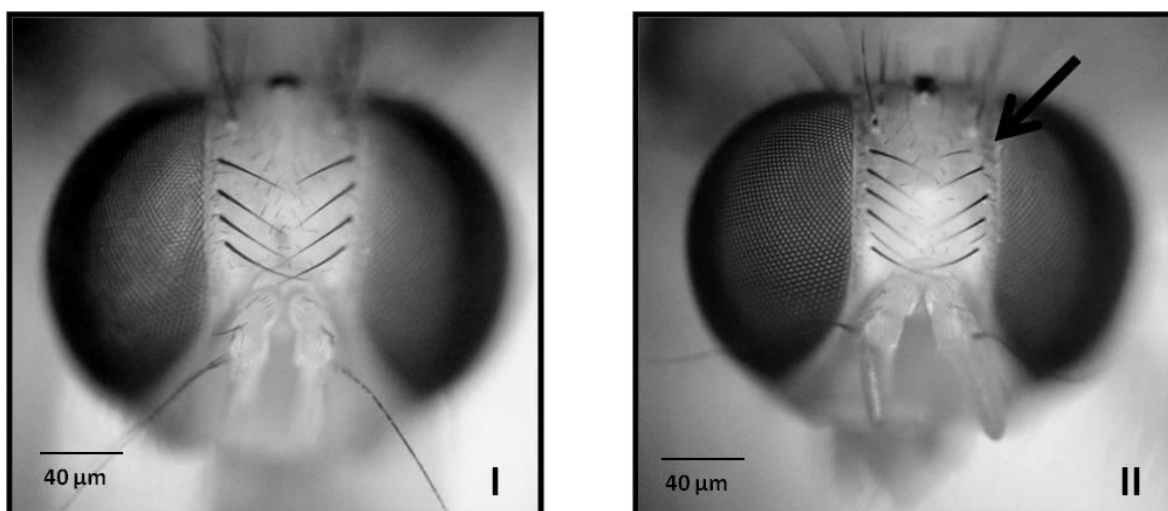
Dois tipos de assimetria em relação às cerdas frontais foram considerados: a assimetria numérica e a assimetria da posição das cerdas. Para as cerdas pós-oculares apenas a assimetria numérica foi avaliada.

**III.2.2.1. Assimetria do número das cerdas frontais e pós-oculares:** Os conjuntos de cerdas frontais e pós-oculares (Figura 6) foram analisados segundo trabalhos anteriores com *Anastrepha* (Pires 2005; Souza *et al.* 2007). As moscas foram examinadas sob esteromicroscópio e os números de cerdas dos lados direito e esquerdo da cabeça foram registrados. A assimetria foi calculada pela diferença entre o número de cerdas do lado direito e lado esquerdo (D-E) (Palmer e Strobeck 1986). O tipo de assimetria esperado é o de assimetria flutuante, como demonstrado por Pires (2005) e Souza *et al.* (2007) para essas cerdas de *Anastrepha*, mas o teste *t*-pareado foi conduzido para comprovação de que os escores (com sinal) da assimetria apresentam distribuições ao redor de zero. Também foram calculados as médias, os desvios e curtoses da distribuição dos escores com sinal da assimetria (D-E) para testar a normalidade. Após esses testes, foi verificado por meio do teste de Levene, se as variâncias eram homogêneas. Como os módulos apresentam uma distribuição “meia normal”, os dados foram transformados ( $\text{Power}, (|D-E| + 0,00005)^{0,33}$ ) (Graham *et al.* 2010) e testados por uma ANOVA. Os testes estatísticos foram feitos no *software* Statistica10 (STATSOFT 2010).



**Figura 6:** Cerdas frontais da cabeça de *A. sp.1.*: padrão numérico simétrico (A) e padrão numérico assimétrico. Cerdas pós-oculares (C)

**III.2.2.2. Assimetria da posição das cerdas frontais:** As cerdas frontais estão organizadas em duas fileiras, ordenadas verticalmente na placa frontal, sendo cada fileira próxima à borda dos olhos em linha reta; essa morfologia alinhada foi considerada como padrão (I); assim indivíduos com esse padrão são considerados simétricos quanto à posição das cerdas frontais. Na situação alternativa, quando uma ou mais cerdas estão deslocadas do alinhamento vertical, tem-se o padrão (II); considerado padrão assimétrico (Figura 7). Após a contagem do número de indivíduos com cada tipo de padrão, as frequências de cada tipo de padrão foram comparadas por meio de um teste de chi-quadrado seguido de um teste de Fisher. Os testes estatísticos foram feitos no *software* Statistica10 (STATSOFT 2010).



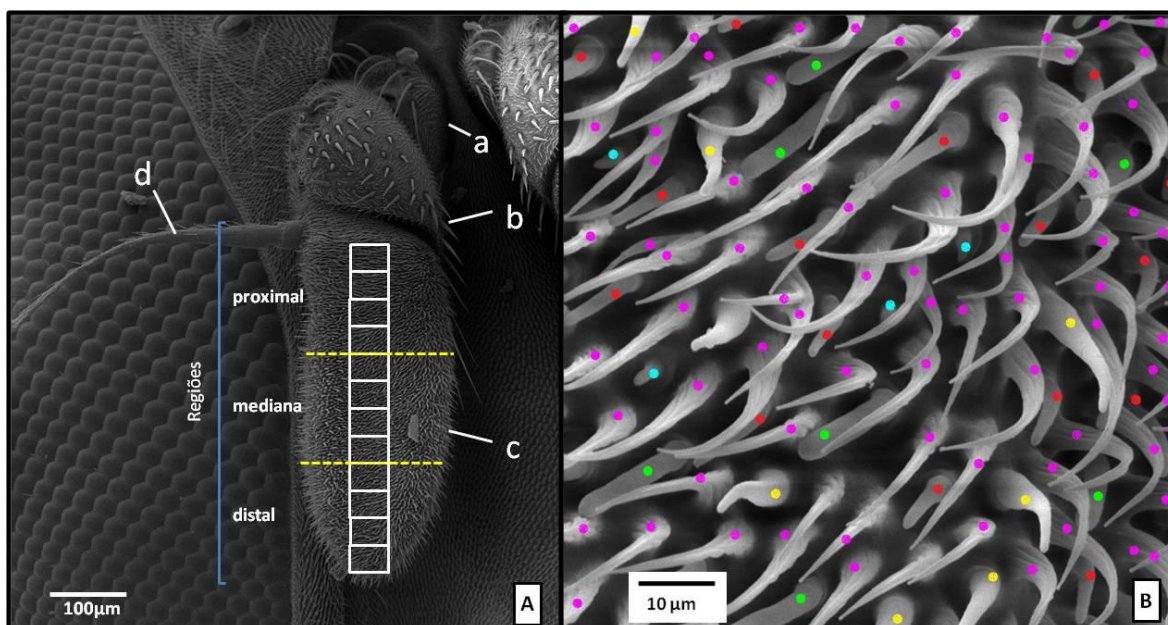
**Figura 7:** Descrição do padrão de posição das cerdas frontais. Padrão I: fileira de cerdas alinhadas (simétrico). Padrão II: fileira com cerdas desalinhadas (assimétrico).

### III.2.3. Análises das sensilas dos flagelos das antenas

Foram utilizados espécimes provenientes de amostras de frutos pertencentes a cinco espécies, sendo mamão (*Carica papaya*) da família Caricaceae, goiaba (*Psidium guajava*) e uvaia (*Eugenia pyriform*) da família Myrtaceae e nêspera (*Eriobotrya japônica*) e umê (*Myrcia specios*) da família Rosaceae. As amostras de mamão pertencem a uma população de laboratório. Os adultos foram fixados pelo método do 2,2-dimetoxipropano (DMP) (Bjerker *et al.* 1979). Primeiramente, 500µl da solução DMP foram acidificados com 1µl de HCl puro; essa solução acidificada foi diluída em 1,5ml de etanol 100%. As cabeças das moscas anestesiadas foram retiradas e imersas nessa solução, na qual permaneceram por 4 horas a temperatura ambiente. Os exemplares foram, então, lavados quatro vezes em etanol 100% e secos ao ar livre em placas de petri. As cabeças foram colocadas em *stubs*, secos em ponto crítico, cobertos com ouro e, então fotografados em MEV com aumento de 2000x. Foram montados cinco *stubs* (um para cada hospedeiro) e em cada *stub* foram fixadas seis cabeças, totalizando 30 indivíduos (60 antenas).

De acordo com Bisotto *et al.* (2011), em *A. fraterculus s.l.* não há diferença entre o lado dorsal e ventral do flagelo e entre as antenas direita e esquerda, dessa forma, somente o lado dorsal da antena em melhor condição e/ou posição foi analisado. Os comprimentos dos flagelos direitos e esquerdos foram medidos na região central. O flagelo foi dividido em três regiões: proximal, mediana e distal, cada uma com aproximadamente 125µm de comprimento. Foram registradas imagens de 1343µm<sup>2</sup> na região central do flagelo, indo da parte inferior do pedicelo até o ápice do flagelo (Figura 8). As sensilas foram contadas e identificadas de acordo com as classificações de Arzuffi *et al.* (2008) e Bisotto *et al.* (2011):

- *Microtríquias*: presentes em toda antena, são as mais abundantes (cerca de 70%), com sulcos que se estendem da base até o ápice.
- *Tricoides*: mais longas, com a região distal recoberta de poros.
- *Basicônicas*: com curvatura que se inicia próxima à base, inúmeros poros espalhados pela superfície, aparência digitiforme (*finger-like*).
- *Clavadas*: semelhantes às basicônicas, porém sem curvatura próxima à base e região distal achatada.
- *Estilocônicas*: bastante diminutas, com processos digitiformes.



**Figura 8:** A: Estruturas da antena de *A. sp.1* (a: escapo; b: pedicelo; c: flagelo; d: arista), regiões proximal, mediana e distal do flagelo, os retângulos representam as áreas amostrais em cada região. B: área amostral ( $1343 \mu\text{m}^2$ ) onde pontos da mesma cor representam mesmo tipo de estrutura; rosa: microtríquia, amarelo: tricoide, vermelho: basicônica, verde: clavada e azul: estilocônica.

Os tamanhos dos flagelos das antenas direitas e esquerdas foram comparados por amostra e entre as amostras. O número médio de cada tipo de sensila foi estimado por região (soma das imagens na região) e ao longo do flagelo (somas de todas as imagens). Após testes de normalidade dos dados, foi realizado um teste de correlação entre o número médio de sensilas e o tamanho da antena, a fim de verificar se os dados não precisariam de uma correção. Esses números foram então comparados entre indivíduos de cada amostra e entre os grupos amostrais. As análises foram feitas por ANOVA, seguidas de teste de Tukey utilizando o programa Statistica10 (STATSOFT 2010).

### **III.3. Aspectos reprodutivos associados ao uso de diferentes frutos hospedeiros**

Frutos maduros de diferentes espécies que ocorrem em simpatria foram coletados para obtenção das moscas-das-frutas em duas localidades nos municípios de Jundiaí-SP e Poços de Caldas-MG. Os frutos infestados foram trazidos para o laboratório, onde foram acondicionados até a obtenção das pupas. Após emergirem, os adultos tiveram seu mesotórax marcado com tinta atóxica à base de água com cores distintas de acordo com o fruto do qual se originaram (Figura 9A). As imagos foram separadas de por sexo e colocadas em caixas plásticas (22 x 13,5 x 14 cm) contendo água e alimento até atingirem a maturidade sexual (17 dias).

Foram realizados quatro experimentos de testes de compatibilidade reprodutiva entre indivíduos de *A. sp.1* provenientes de dois frutos hospedeiros distintos coletados em simpatria. Os testes foram realizados segundo quatro combinações de cruzamentos, baseados no número de disponibilidade de indivíduos, sendo dois cruzamentos controles

(um para cada tipo de fruto) e outros dois de escolha, envolvendo cruzamentos recíprocos, com indivíduos sintópicos (provenientes do mesmo fruto hospedeiro) e simpátricos (coletados em um mesmo local, porém provenientes de hospedeiros distintos). Os cruzamentos realizados, frutos e locais de procedência estão apresentados na Tabela III.

**Tabela III:** Diferentes tratamentos e cruzamentos realizados em cada experimento, fruto hospedeiros e seus respectivos locais de coleta.

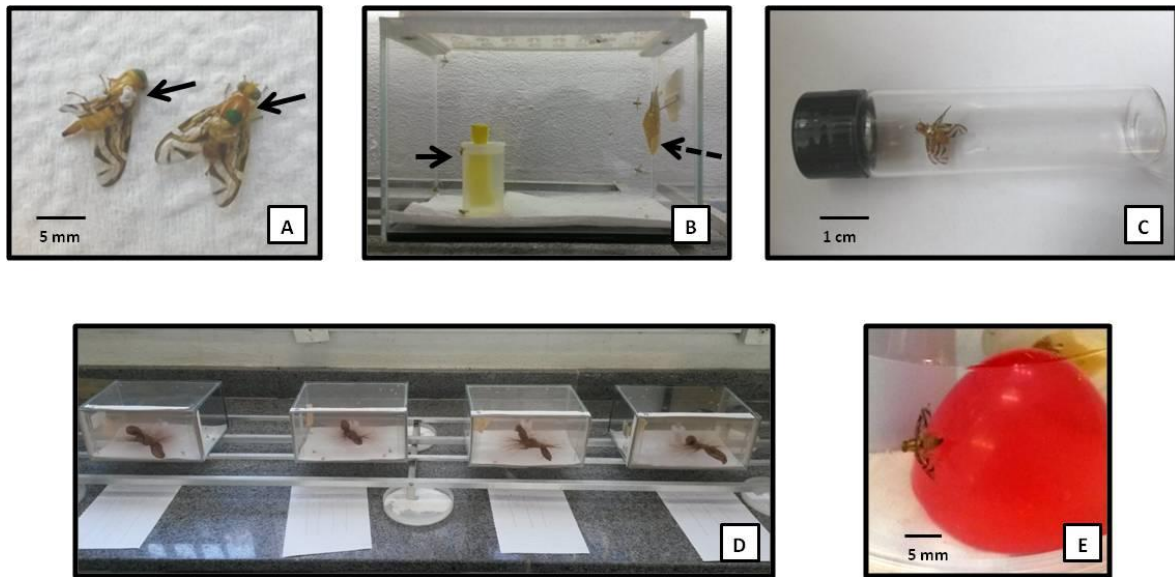
Hospedeiros	Tratamento	Cruzamentos	Local de coleta
<i>Experimento 1</i> Café (C) Nêspira (N)	Controle	5♀♀ C X 10♂♂ C	Poços de Caldas - MG
		5♀♀ N X 10♂♂ N	
	Escolha	5♀♀ C X 5♂♂ N + 5♂♂ C	
		5♀♀ N X 5♂♂ N + 5♂♂ C	
<i>Experimento 2</i> Umê (U) Uvaia (V)	Controle	5♀♀ U X 10♂♂ U	IAC* – Jundiaí - SP
		5♀♀ V X 10♂♂ V	
	Escolha	5♀♀ U X 5♂♂ U + 5♂♂ V	
		5♀♀ V X 5♂♂ U + 5♂♂ V	
<i>Experimento 3</i> Goiaba (G) Uvaia (V)	Controle	5♀♀ G X 10♂♂ G	IAC* – Jundiaí - SP
		5♀♀ V X 10♂♂ V	
	Escolha	5♀♀ G X 5♂♂ G + 5♂♂ V	
		5♀♀ V X 5♂♂ G + 5♂♂ V	
<i>Experimento 4</i> Goiaba (G) Pêssego (P)	Controle	5♀♀ G X 10♂♂ G	IAC* – Jundiaí - SP
		5♀♀ P X 10♂♂ P	
	Escolha	5♀♀ G X 5♂♂ G + 5♂♂ P	
		5♀♀ P X 5♂♂ G + 5♂♂ P	

\*IAC: Instituto Agrônômico de Campinas

Um dia antes do experimento, os machos foram colocados em arenas de vidro (20 x 10 x 14 cm) com a abertura fechada por tecido voal, contendo água e alimento (Figura 9B). As fêmeas foram transferidas para a arena no dia seguinte cerca de 30 minutos antes de a iluminação artificial ser acionada; o comportamento foi, então, observado por quatro horas (das 7:30 às 11:30). Após o início da cópula, foram registrados o tempo de cópula e a escolha do parceiro. Após o término da cópula, os machos foram armazenados em etanol 100% e as fêmeas colocadas em uma gaiola de plástico (14 x 13,5 x 12 cm) contendo água e alimento. Um substrato artificial em forma de hemisfera para oviposição envolto em Parafilm (Selivon *et al.* 2005) foi colocado nas gaiolas das fêmeas que acasalaram (Figura 9E). Esse substrato foi trocado a cada 48 horas por um período de 10 dias. O número de ovos retirados de cada substrato foi registrado e estes foram então colocados em placas contendo ágar (8g em 500ml) e mantidos em estufa a 25°C por quatro dias até a eclosão das lavas. O número de larvas eclodidas foi registrado para inferir a fertilidade dos ovos. Os experimentos foram realizados em sala climatizada com temperatura 25°C ± 2°C e 65% ± 2% de umidade relativa.

Análises comparativas entre os tipos de cruzamentos foram realizadas por ANOVA e teste-t para cada experimento e posteriormente com os dados combinados (soma dos dados dos experimentos). Os parâmetros analisados foram: número de cópulas, escolha do parceiro pela fêmea, tempo de duração da cópula e fertilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Statisca10 (STATSOFT 2010).



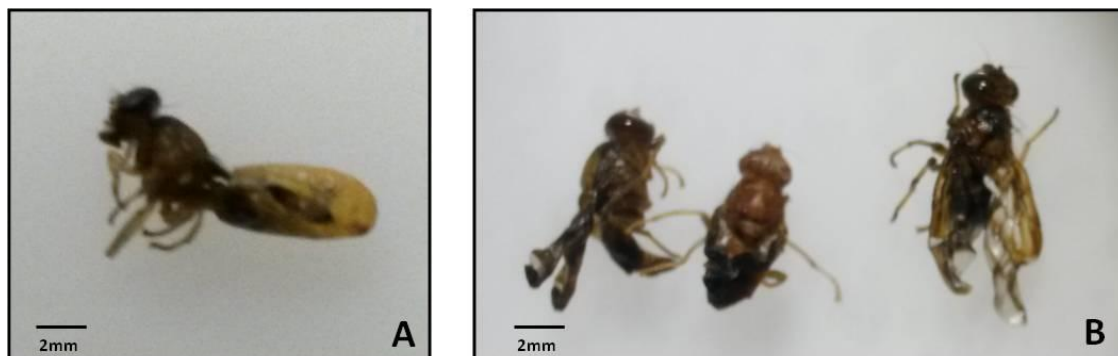


**Figura 9:** A: espécimes com mesotórax marcado para identificação (setas indicam a marcação). B: arena experimental, contendo água (seta contínua) e alimento (seta tracejada). C: tubo de vidro com casal em cópula. D: réplicas experimentais, sendo cada uma um tipo distinto de tratamento/cruzamento. E: substrato artificial para oviposição.

### III.4. Perturbações ontogenéticas associadas ao estresse da troca de fruto hospedeiro

Indivíduos de uma colônia criada em mamão e mantida em laboratório a aproximadamente 170 gerações foram utilizados para o experimento. As colônias são mantidas em sala climatizada a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa  $65\% \pm 2\%$ , fotoperíodo de 12 horas. Para dar início ao experimento, foram selecionadas quinhentas pupas provenientes dos mamões infestados. Adultos provenientes dessa população foram separados em quatro réplicas nas quais o fruto fornecido para oviposição passou a ser goiaba e foi mantida uma réplica controle (mamão). Os frutos oferecidos às moscas continham massas equivalentes (aproximadamente 450g, equivalente a um mamão e três goiabas).

Durante duas semanas, a cada três dias os frutos foram substituídos, colocados em vermiculita e mantidos na estufa a 25°C por 15 dias; após esse período a vermiculita foi peneirada e as pupas colocadas em uma nova gaiola para emergência da progênie. Os seguintes dados dessa geração foram registrados para análises: número de pupas, número de adultos emergidos (machos e fêmeas), número de indivíduos que não concluíram a emergência (Figura 10A), número de adultos com alterações morfológicas (Figura 10B); esses dados foram comparados por meio de análises de chi-quadrado com correção de Yates. Quarenta indivíduos de cada tratamento (20 fêmeas e 20 machos) foram aleatorizados para as seguintes análises: morfometria das asas e assimetria das cerdas frontais e pós-oculares e das asas (a de montagem de lâminas e aquisição de imagens das asas, análises de morfometria geométrica e assimetria, procedimentos de contagem e análises das cerdas frontais e pós-oculares foram realizados como descrito anteriormente nos itens III.2.1 e III.2.2).



**Figura 10:** A: indivíduos que não concluíram a emergência (ficaram presos na pupa) B: adultos com alterações morfológicas (não expandiram as asas).

## IV. Resultados

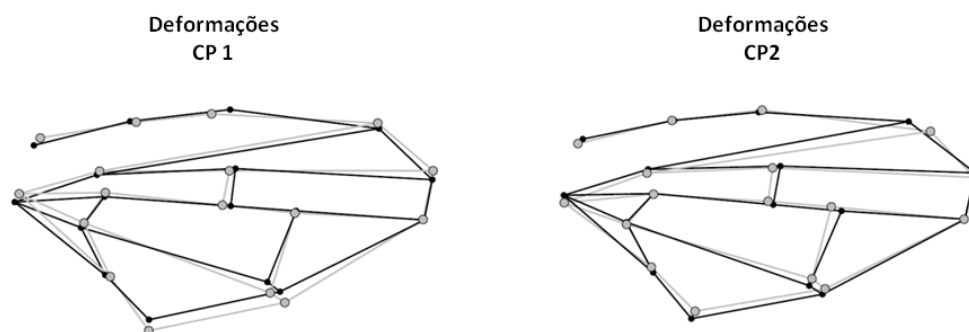
---

### IV. 1. Análises morfológicas de indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros de ocorrência simpátrica

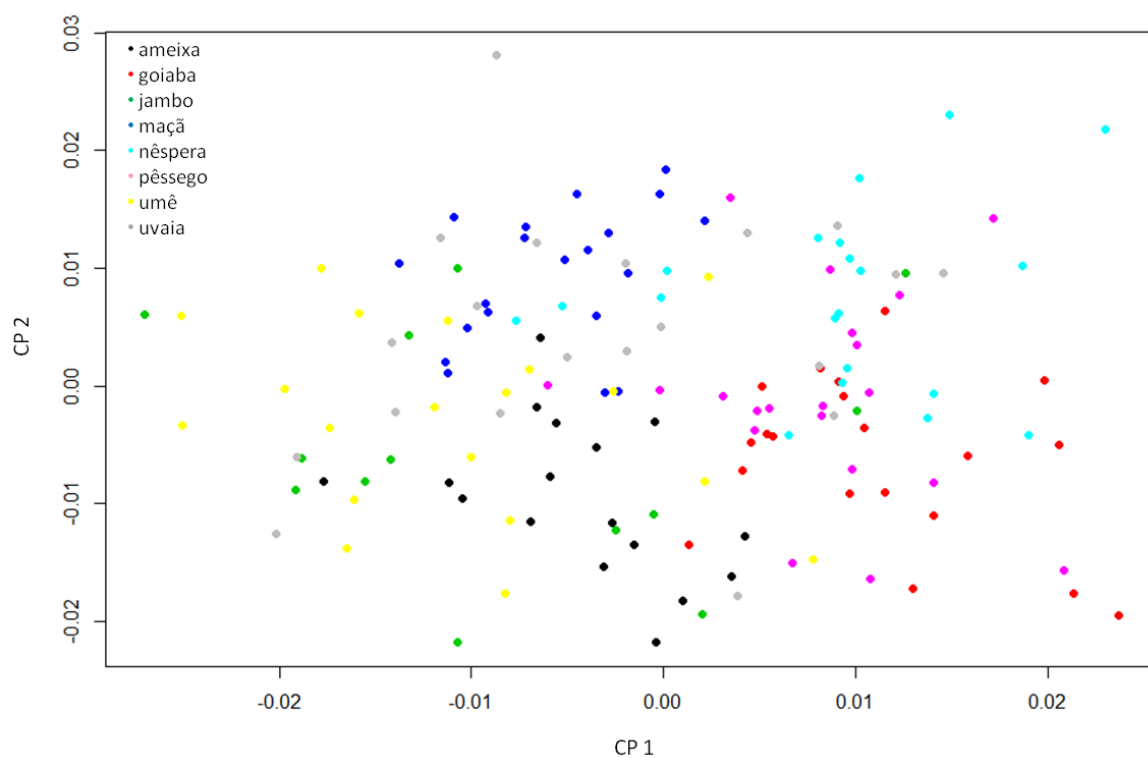
#### IV.1.1. Morfologia das asas

##### IV.1.1.1. Morfometria geométrica

A análise comparativa da forma da asa dos indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros coletados em simpatria por morfometria geométrica, seguida de uma Análise de Componentes Principais (ACP), mostrou a existência de diferenças significativas entre as amostras (ANOVA;  $F=6,1857$ ;  $p=0,001$ ). A maior variação encontrase na região posterior da asa (CP 1) e na região mediana – próximo à veia r-m (CP 2) (Figura 11). Além disso, pela ACP, o CP 1 separou indivíduos provenientes da ameixa e maçã dos indivíduos provenientes de goiaba e nêspera; já o CP 2 separou indivíduos de maçã e nêspera dos indivíduos de ameixa e goiaba. Assim, notamos que essas quatro amostras apresentam uma menor variação na forma em relação às outras. Já as amostras com indivíduos provenientes de jambo, pêssgo, umê e uvaia, apresentaram uma grande variação na forma da asa, sobrepondo aos demais (Figura 12).

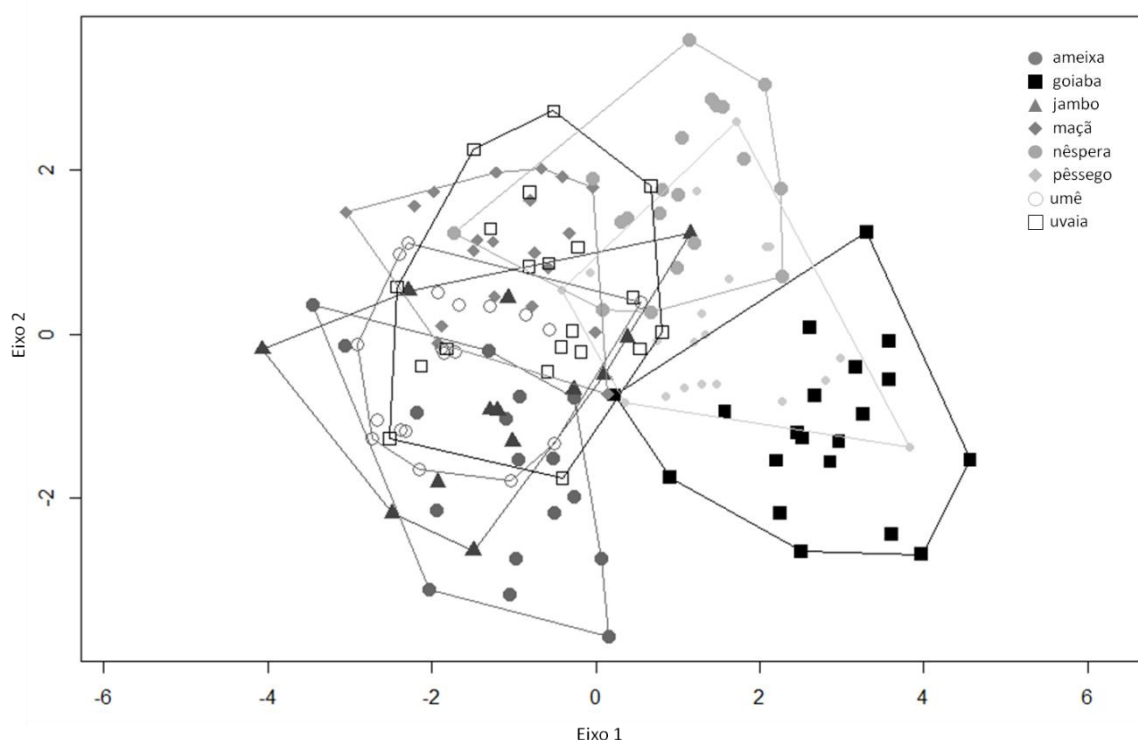


**Figura 11:** Variação na forma da asa ao longo dos dois primeiros eixos de ACP das variáveis de *A. sp.1* dos oito hospedeiros. A linha tracejada representa a forma em valores mínimos de cada CP e a linha contínua representa a forma em valores máximos.



**Figura 12:** Distribuição dos espécimes de *A. sp.1*. provenientes de diferentes frutos hospedeiros segundo o contraste entre os Componentes Principais 1 e 2 gerada a partir de variáveis de forma da asa.

A Análise Discriminante Linear separou amostras em alguns grupos que não se sobrepõem, principalmente o grupo formado por indivíduos provenientes de goiaba (Figura 13). Entretanto, ainda se observa uma variabilidade intrapopulacional. A partir de uma validação, em que um indivíduo é deixado de fora da construção da função discriminante e então é identificado (Tabela IV), em todas as amostras alguns espécimes não foram corretamente associados a seus frutos hospedeiros. As porcentagens de classificações corretas foram baixas, sendo os indivíduos provenientes de goiaba os que tiveram um maior número de classificações corretas (85%) e os de jambo o menor número (39%), indicando uma grande plasticidade intrapopulacional na forma da asa.



**Figura 13:** - Distribuição dos espécimes de *A. sp1.* provenientes de diferentes frutos hospedeiros segundo o contraste entre os Eixos 1 e 2 gerada a partir de variáveis de forma e tamanho da asa.

**Tabela IV** – Matriz de classificação dos indivíduos de *A. sp.1*, considerando o fruto hospedeiro independentemente, baseada na Análise Discriminante Linear de variáveis de forma da asa, seguida de validação. As linhas apresentam as classificações observadas e as colunas, as classificações preditas.

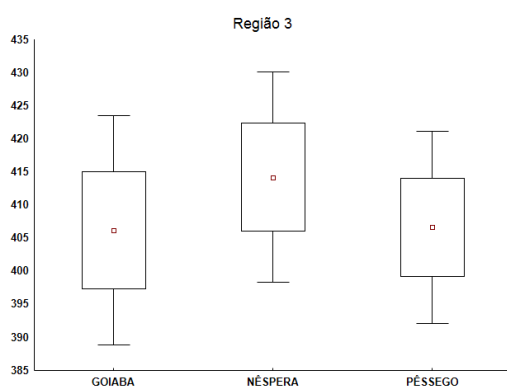
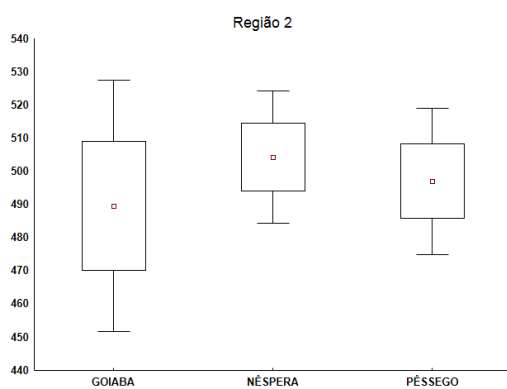
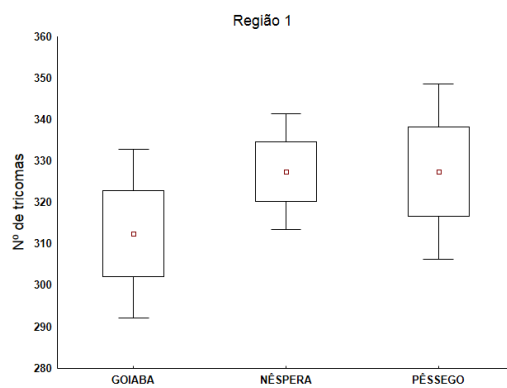
	%CL	Ameixa	Goiaba	Jambo	Maçã	Nêspera	Pêssego	Umê	Uvaia
<b>Ameixa</b>	53%	9	0	1	2	0	0	3	2
<b>Goiaba</b>	85%	1	17	0	0	1	1	0	0
<b>Jambo</b>	39%	1	0	5	0	0	3	3	1
<b>Maçã</b>	80%	0	0	0	16	0	0	0	4
<b>Nêspera</b>	70%	0	1	0	0	14	3	1	1
<b>Pêssego</b>	50%	0	5	1	0	2	10	1	1
<b>Umê</b>	43%	5	0	1	1	1	0	8	3
<b>Uvaia</b>	40%	1	0	0	5	4	0	2	8

#### IV.1.1.2. Número de tricomas

As médias das medidas de comprimento e largura das asas nas três amostras (goiaba, nêspera e pêssego) não apresentaram diferenças significativas. O número de tricomas variou igualmente nas três regiões nas amostras analisadas, sendo R1 com menor número, seguida de R3 e R2 (Tabela V). Os indivíduos da amostra goiaba foram os que apresentaram, nas três regiões, o menor número médio de tricomas e a maior variação intraespecífica (principalmente na R2) (Figura 14).

**Tabela V:** Valores da média ( $\bar{x}$ ), desvio padrão (DP), número mínimo (Min) e número máximo (Max) dos tricomas contidos nas regiões analisadas das asas de *A. sp.1* provenientes de três diferentes hospedeiros.

Hospedeiro	N	Região 1				Região 2				Região 3			
		Média	DP	Min	Max	Média	DP	Min	Max	Média	DP	Min	Max
Goiaba	12	312,5	36,0	241	363	489,6	67,1	369	590	406,2	30,6	373	463
Nêspera	12	327,5	24,6	287	360	504,3	35,2	451	564	414,2	28,2	369	462
Pêssego	12	327,5	37,4	267	388	497,1	39,1	401	536	406,7	25,7	371	447



**Figura 14:** Variação no número de tricomas em cada região analisada de *A. sp.1* em relação ao uso de três diferentes hospedeiros (goiaba, nêspera e pêsego).



Anterior à comparação do número de tricomas entre as amostras, foram feitas análises de correlação desses valores com o comprimento e largura da asa, para verificar se o tamanho das asas não influencia nos resultados. Os valores médios do comprimento e largura das asas estão demonstrados na Tabela VI. Os números médios de tricomas nas regiões R1 e R2 não apresentaram correlação com o comprimento das asas nas três amostras (R1:  $R^2_{\text{goiaba}} = 0,0283$ ;  $R^2_{\text{nêspira}} = 0,1411$ ;  $R^2_{\text{pêssego}} = 0,2945$ ; R2:  $R^2_{\text{goiaba}} = 0,0058$ ;  $R^2_{\text{nêspira}} = 0,0043$ ;  $R^2_{\text{pêssego}} = 0,1726$ ) e o mesmo foi encontrado para as regiões R1 e R3 em relação à largura das asas (R1:  $R^2_{\text{goiaba}} = 0,0035$ ;  $R^2_{\text{nêspira}} = 0,1220$ ;  $R^2_{\text{pêssego}} = 0,3102$ ; R3:  $R^2_{\text{goiaba}} = 0,0248$ ;  $R^2_{\text{goiaba}} = 0,0006$ ;  $R^2_{\text{pêssego}} = 0,0348$ ), assim, não foi necessário uma correção de escala dos valores para a realização das análises de comparação. Como os dados não apresentaram uma distribuição normal, os valores foram transformados em uma escala  $\text{Log}_{10}$  e então comparados. Os resultados das ANOVAS mostraram que não existem diferenças significativas no número de tricomas nas regiões analisadas entre as diferentes amostras (Tabela VII).

**Tabela VI:** Valores médios (em mm) do comprimento (C) e largura (L) asas de indivíduos provenientes de goiaba, nêspira e pêssego. D.P: desvio padrão.

Hospedeiro	Medida	Média	D.P.
Goiaba	C	4,6783	0,1511
	L	2,4100	0,0958
Nêspira	C	4,1266	0,2149
	L	2,1016	0,1079
Pêssego	C	4,3408	0,3800
	L	2,2308	0,1770

**Tabela VII:** ANOVA do número de tricomas das asas de *A. sp.1* associada à utilização de diferentes hospedeiros.  $p < 0,05$ .

	<b>Df</b>	<b>Df error</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Região 1	2	33	0,8181	0,4500
Região 2	2	33	0,2662	0,7678
Região 3	2	33	0,3052	0,7389

#### **IV.1.1.3. Assimetria**

Para avaliar a existência de diferentes níveis de assimetria das asas nos indivíduos provenientes dos diferentes frutos, primeiramente foi feita uma análise de procustes ANOVA para o tipo de assimetria em relação à forma. Os resultados, que apresentados na Tabela VIII. Os indivíduos da amostra ameixa não apresentaram AF e os da amostra jambo não apresentam nenhum dos dois tipos de assimetria testados.

As análises em relação à assimetria do tamanho das asas mostraram os indivíduos da população de pêsego apresentam assimetria do tipo AF e os da população de nêsepa apresentam AD. As outras populações não tiveram valores significativos para AF e para AD de tamanho das asas (Tabela IX).

**Tabela VIII:** Teste Procrustes ANOVA para o tipo de assimetria (AF e/ou AD) em relação à FORMA das asas de indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros. Df: graus de liberdade, Sum Sq: soma dos quadrados, Mean Sq: média dos quadrados, F e p (significância: ‘\*\*\*’ 0,01 ‘\*’ 0,05). ind: variação individual, AD: assimetria direcional, AF: assimetria flutuante.

		Df	Sum Sq	Mean Sq	F	p
Ameixa	ind	16	0,0236385	0,00147741	5,0151	0,031 *
	AD	1	0,0006348	0,00063483	2,1549	0,047 *
	FA	16	0,0047134	0,00029459	2,7340	0,075
	erro	34	0,0036635	0,00010775		
Goiaba	ind	19	0,0298658	0,00157189	3,7752	0,491
	AD	1	0,0013672	0,00136715	3,2835	0,010 *
	FA	19	0,0079110	0,00041637	5,1581	0,001 **
	erro	40	0,0032289	0,00008072		
Jambo	ind	11	0,0256861	0,00233510	10,0385	0,005 **
	AD	12	0,0003673	0,00036727	1,5789	0,129
	FA	11	0,0025588	0,00023261	2,4084	0,126
	erro	24	0,0023180	0,00009658		
Maçã	ind	19	0,0178036	0,00093703	3,5818	0,242
	AD	1	0,0004885	0,00048845	1,8671	0,068
	FA	19	0,0049705	0,00026161	3,4197	0,005 **
	erro	40	0,0030600	0,00007650		
Nêspera	ind	19	0,032714	0,00172181	6,2837	0,017 *
	AD	1	0,000608	0,00060805	2,2190	0,025 *
	AF	19	0,005206	0,00027401	3,2535	0,015 *
	erro	40	0,003369	0,00008422		
Pêssego	ind	19	0,0288842	0,00152022	3,0240	0,866
	AD	1	0,0013854	0,00138535	2,7557	0,022 *
	AF	19	0,0095516	0,00050271	8,1947	0,001 **
	erro	40	0,0024538	0,00006135		
Umê	ind	17	0,0302945	0,00178203	9,1986	0,008 **
	AD	1	0,0004349	0,00043488	2,2448	0,044 *
	AF	17	0,0032934	0,00019373	3,3122	0,005 **
	erro	36	0,0021056	0,00005849		
Uvaia	ind	19	0,040328	0,00212251	9,6343	0,011 *
	AD	1	0,000576	0,00057555	2,6125	0,011 *
	AF	19	0,004186	0,00022031	3,2999	0,002 **
	erro	40	0,002670	0,00006676		

**Tabela IX:** Teste Procrustes ANOVA para o tipo de assimetria (AF e/ou AD) em relação ao TAMANHO das asas de indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros. Df: graus de liberdade, Sum Sq: soma dos quadrados, Mean Sq: média dos quadrados, F e p (significância: ‘\*\*\*’ 0,01 ‘\*’ 0,05). ind: variação individual, AD: assimetria direcional, AF: assimetria flutuante.

		Df	Sum Sq	Mean Sq	F	p
Ameixa	ind	16	5,7376e-07	3,5860e-08	4,6753	0,229
	AD	1	3,0040e-08	3,0037e-08	3,9161	0,094
	FA	16	1,2272e-07	7,6700e-09	1,8929	0,472
	erro	34	1,3777e-07	4,0520e-09		
Goiaba	ind	19	2,4920e-06	1,3116e-07	11,2117	0,183
	AD	1	2,3590e-08	2,3588e-08	2,0163	0,207
	FA	19	2,2227e-07	1,1698e-08	3,4551	0,224
	erro	40	1,3544e-07	3,3860e-09		
Jambo	ind	11	3,7699e-07	3,4272e-08	3,4918	0,372
	AD	12	3,3230e-08	3,3232e-08	3,3859	0,112
	FA	11	1,0796e-07	9,8150e-09	2,2031	0,383
	erro	24	1,0692e-07	4,4550e-09		
Maçã	ind	19	1,4356e-07	7,5556e-09	1,3757	0,740
	AD	1	3,1240e-09	3,1243e-09	0,5689	0,471
	FA	19	1,0435e-07	5,4921e-09	3,0243	0,276
	erro	40	7,2640e-08	1,8160e-09		
Nêspera	ind	19	1,2465e-06	6,5606e-08	6,6882	0,229
	AD	1	5,8570e-08	5,8568e-08	5,9708	0,030 *
	AF	19	1,8637e-07	9,8090e-09	2,7370	0,292
	erro	40	1,4336e-07	3,5840e-09		
Pêssego	ind	19	2,0914e-06	1,1008e-07	2,3266	0,795
	AD	1	7,3720e-08	7,3717e-08	1,5581	0,241
	AF	19	8,9894e-07	4,7312e-08	25,8186	0,019 *
	erro	40	7,3300e-08	1,8320e-09		
Umê	ind	17	1,0538e-06	6,1987e-08	6,3051	0,421
	AD	1	6,6800e-09	6,6760e-09	0,6790	0,441
	AF	17	1,6713e-07	9,8310e-09	6,4975	0,085
	erro	36	5,4470e-08	1,5130e-09		
Uvaia	ind	19	1,2126e-06	6,3819e-08	3,9191	0,508
	AD	1	1,0000e-10	9,6000e-11	0,0059	0,939
	AF	19	3,0940e-07	1,6284e-08	6,6623	0,087
	erro	40	9,7770e-08	2,4440e-09		

## IV.1.2. Assimetria das cerdas frontais e pós-oculares

### IV.1.2.1. Assimetria do número das cerdas frontais e pós-oculares

Nas análises de assimetria em relação ao número de cerdas da cabeça, primeiramente foi testada, para cada amostra, a possível correlação entre a magnitude/tamanho da estrutura (D+E/2) e escore de assimetria de cada indivíduo (D-E). Tanto as cerdas frontais quanto as pós-oculares não apresentaram correlações em todas as amostras (*ameixa*:  $R^2_{\text{frontais}}=0,018$ ,  $R^2_{\text{pós-oculares}}=0,0243$ ; *jambo*:  $R^2_{\text{frontais}}=0,0003$ ,  $R^2_{\text{pós-oculares}}=0,0021$ ; *goiaba*:  $R^2_{\text{frontais}}=0,0766$ ,  $R^2_{\text{pós-oculares}}=0,141$ ; *nêspera*:  $R^2_{\text{frontais}}=0,0399$ ,  $R^2_{\text{pós-oculares}}=0,0105$ ; *pêssego*:  $R^2_{\text{frontais}}=0,0092$ ,  $R^2_{\text{pós-oculares}}=0,0123$ ; *umê*:  $R^2_{\text{frontais}}=0,0207$ ,  $R^2_{\text{pós-oculares}}=0,003$ ; *uvaia*:  $R^2_{\text{frontais}}=0,0001$ ,  $R^2_{\text{pós-oculares}}=0,001$ ), indicando que não há necessidade de uma correção de escala dos escores. O teste-t pareado para ambos os grupos de cerdas em cada amostra mostrou que as diferenças entre as médias dos números de cerdas entre os lados direito e esquerdo, estão em torno de zero e não variam significativamente em nenhuma amostra (Tabela X), indicando que todas apresentam assimetria do tipo AF. O que foi confirmado pelas análises de desvio (Skewness) e distribuição normal (Curtose) (Tabela XI) que não apresentaram desvios na distribuição dos escores. Os escores da assimetria sem sinal tanto para cerdas frontais quanto para cerdas pós-oculares não são homogêneos, (Shapiro-Wilk; Frontais:  $W=0.6215$ ,  $p=0,0000$ ; Pós-oculares:  $W=0.8388$ ,  $p=0,0000$ ), assim os dados foram transformados para a comparação das amostras. Os resultados mostraram que existe diferença na magnitude da AF das cerdas frontais entre as amostras analisadas (ANOVA;  $p=0.0077$ ), o teste de Newman-Keuls mostrou que essas

diferenças ocorrem entre as amostras ameixa em relação a goiaba, jambo, umê e uvaia (Tabela XII). Em relação à AF das cerdas pós-oculares, não houve diferença entre as amostras (ANOVA,  $p=0.6570$ ).

**Tabela X:** Resultados do teste-t pareado dos números de cerdas frontais e pós-oculares dos lados direito (FD) e esquerdo (FE) dos indivíduos provenientes de ameixa, café, goiaba, jambo, mamão, nêspira, pêssego, umê e uvaia.  $p<0,05$ .

Hospedeiro		N	df	Frontais				Pós-oculares			
				Média	sd	Diff.	p	Média	sd	Diff.	p
Ameixa	FD	28	27	4,750	0,799	0,071	0,690	14,929	2,089	0,286	0,368
	FE			4,679	0,904			14,643	2,329		
Goiaba	FD	30	29	4,633	0,808	-0,033	0,845	15,333	1,988	0,200	0,385
	FE			4,667	1,061			15,333	1,548		
Jambo	FD	30	29	4,400	0,563	-0,067	0,536	13,800	1,827	0,167	0,502
	FE			4,467	0,571			13,633	1,884		
Nêspira	FD	30	29	3,967	0,668	-0,033	0,786	13,367	1,732	1,680	0,392
	FE			4,000	0,787			13,100	1,583		
Pêssego	FD	30	29	4,400	0,621	-0,133	0,354	15,167	1,967	1,479	0,095
	FE			4,533	0,681			14,700	2,120		
Umê	FD	30	29	4,467	0,730	0,033	0,787	14,333	1,605	0,033	0,443
	FE			4,433	0,817			14,300	1,622		
Uvaia	FD	30	29	4,367	0,809	0,033	0,787	14,100	1,605	0,033	0,455
	FE			4,333	0,802			14,067	1,617		

**Tabela XI:** Média, desvio (Skewness) e normalidade (Kurtosis) das diferenças do número de cerdas frontais dos dois lados (D-E) dos indivíduos observados.

Hospedeiro	N	Frontais				Pós-oculares			
		Média	S.D.	Skewness	Kurtosis	Média	S.D.	Skewness	Kurtosis
Ameixa	28	0,071	0,940	-0,438	0,302	0,285	1,652	0,461	1,279
Goiaba	30	-0,033	0,927	0,346	0,201	0,200	1,243	-0,637	0,319
Jambo	30	-0,066	0,583	-0,003	0,229	0,167	1,341	-0,233	0,680
Nêspira	30	-0,033	0,669	0,037	-0,589	0,267	1,680	-0,499	0,417
Pêssego	30	-0,133	0,776	-0,707	0,797	0,467	1,479	0,069	0,473
Umê	30	0,033	0,669	-0,037	-0,589	0,033	1,098	-0,739	-0,119
Uvaia	30	0,033	0,669	0,705	1,788	0,033	1,129	-0,685	-0,405

**Tabela XII:** Médias dos valores de assimetria das cerdas frontais transformados. Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Hospedeiro	Média
Ameixa	0,5809 <sub>b</sub>
Goiaba	0,2625 <sub>a</sub>
Jambo	0,2304 <sub>a</sub>
Nêspira	0,4549 <sub>a, b</sub>
Pêssego	0,4399 <sub>a, b</sub>
Umê	0,2304 <sub>a</sub>
Uvaia	0,2204 <sub>a</sub>

#### IV.1.2.2. Assimetria da posição das cerdas frontais

A análise dos padrões de posição das cerdas frontais apresentou uma diferença significativa entre os indivíduos das amostras dos frutos estudados (graus de liberdade=5;  $\chi^2=14,460$ ;  $p=0,0213$ ). A tabela de contingência mostrou que o padrão I, que indica indivíduos simétricos, é mais frequente nas amostras goiaba, jambo, umê e uvaia. Nas amostras nêspira e pêssego indivíduos com o padrão II de posição das cerdas frontais, que indica indivíduos assimétricos, são maioria (Tabela XIII).

**Tabela XIII:** Número de indivíduos provenientes de cada fruto hospedeiro associado aos padrões de posição das cerdas frontais.

Fruto	Padrão I	Padrão II	Total
Goiaba	19	11	30
Jambo	21	9	30
Nêspira	12	18	30
Pêssego	10	20	30
Umê	20	10	30
Uvaia	19	11	30
Total	101	79	180

### IV.1.3. Análises das sensilas dos flagelos das antenas

Em relação ao comprimento dos flagelos, em todas as amostras analisadas não foram encontradas diferenças nos tamanhos dos flagelos das antenas entre os lados direito e esquerdo (Tabela XIV), mostrando que são simétricos quanto a esse caractere. A homogeneidade dos valores das medidas foi confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk ( $W=0,9826$ ;  $p=0,6451$ ). O tamanho dos flagelos das antenas variou significativamente entre as amostras estudadas (ANOVA;  $p=0,0028$ ) e o teste de Tukey mostrou que os flagelos dos indivíduos da amostra mamão são menores que os provenientes dos outros frutos, com exceção dos da amostra goiaba (Tabela XV).

**Tabela XIV:** Resultados do teste-t pareado dos tamanhos (em  $\mu\text{m}$ ) dos flagelos das antenas direita e esquerda dos indivíduos provenientes de goiaba, mamão, nêspira, pêssigo, umê e uvaia.  $p<0,05$ .

Fruto	Lado	Média ( $\mu\text{m}$ )	DP ( $\mu\text{m}$ )	p
Goiaba	Dir.	386,58	35,38	0,2385
	Esq.	377,94	24,31	
Mamão	Dir.	345,16	14,99	0,4074
	Esq.	353,40	19,63	
Nêspira	Dir.	389,42	55,63	0,2364
	Esq.	399,70	42,08	
Umê	Dir.	379,82	16,45	0,0799
	Esq.	390,98	19,90	
Uvaia	Dir.	407,60	30,04	0,2773
	Esq.	393,25	30,65	



**Tabela XV:** Média e desvio padrão do comprimento (em  $\mu\text{m}$ ) dos flagelos das antenas de *A. sp.1* provenientes de diferentes hospedeiros. Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Fruto	N	Média e DP ( $\mu\text{m}$ )	Desvio Padrão
Goiaba	11	377,65 a, b	31,45
Mamão	13	350,49 b	17,03
Nêspera	9	393,87 a	43,07
Umê	10	385,40 a	18,19
Uvaia	9	395,68 a	30,73

Todos os flagelos analisados continham os cinco tipos de sensilas (microtríquias, tricoides, basicônicas, clavadas e estilocônicas). O número total (considerando a soma das áreas analisadas) de cada tipo de sensila foi comparado entre os indivíduos provenientes dos diferentes frutos. Primeiramente foram feitos os testes de correlações entre o tamanho do flagelo e o número de cada tipo de sensila. Como não foram encontradas correlações entre o tamanho do flagelo e o número de sensilas ( $R^2_{\text{microtríquias}} = 0,0433$ ;  $R^2_{\text{tricoides}} = 0,1157$ ;  $R^2_{\text{basicônicas}} = 0,0382$ ;  $R^2_{\text{clavadas}} = 0,1082$ ;  $R^2_{\text{estilocônicas}} = 0,0982$ ), não foi necessário fazer uma correção dos valores. As médias de todas as amostras foram comparadas e o número médio de microtríquias variou entre as amostras, sendo significativamente menor na amostra umê quando comparados com a amostra mamão (Kruskal-Wallis:  $p=0,0080$ ); já os outros tipos de sensilas não apresentaram diferenças significativas em seus números médios (Tabela XVI).

**Tabela XVI:** Número médio e desvio padrão (DP) de cada tipo de sensila ao longo do flagelo de antenas de *A. sp.1* provenientes de diferentes frutos hospedeiros. Kruskal-Walis das médias ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Tipo de sensila	Fruto	Média e DP	p
Microtríquia	Goiaba	852,5 ± 178,39 <sub>a, b</sub>	0,01406
	Mamão	906,8 ± 162,20 <sub>b</sub>	
	Nêspera	799,2 ± 148,70 <sub>a, b</sub>	
	Umê	598,0 ± 50,34 <sub>a</sub>	
	Uvaia	773,8 ± 56,81 <sub>a, b</sub>	
Tricoide	Goiaba	181,0 ± 41,52	0,0809
	Mamão	188,5 ± 34,40	
	Nêspera	182,8 ± 58,65	
	Umê	147,4 ± 7,95	
	Uvaia	174,2 ± 34,43	
Basicônica	Goiaba	94,3 ± 17,30	0,2064
	Mamão	114,6 ± 18,83	
	Nêspera	107,0 ± 32,16	
	Umê	95,2 ± 18,52	
	Uvaia	116,6 ± 22,28	
Clavada	Goiaba	8,3 ± 4,45	0,2394
	Mamão	9,3 ± 8,82	
	Nêspera	11,4 ± 10,38	
	Umê	6,2 ± 3,34	
	Uvaia	4,8 ± 4,49	
Estilocônica	Goiaba	25,1 ± 7,62	0,6330
	Mamão	28,1 ± 10,68	
	Nêspera	29,4 ± 16,25	
	Umê	19,6 ± 13,61	
	Uvaia	16,6 ± 13,90	

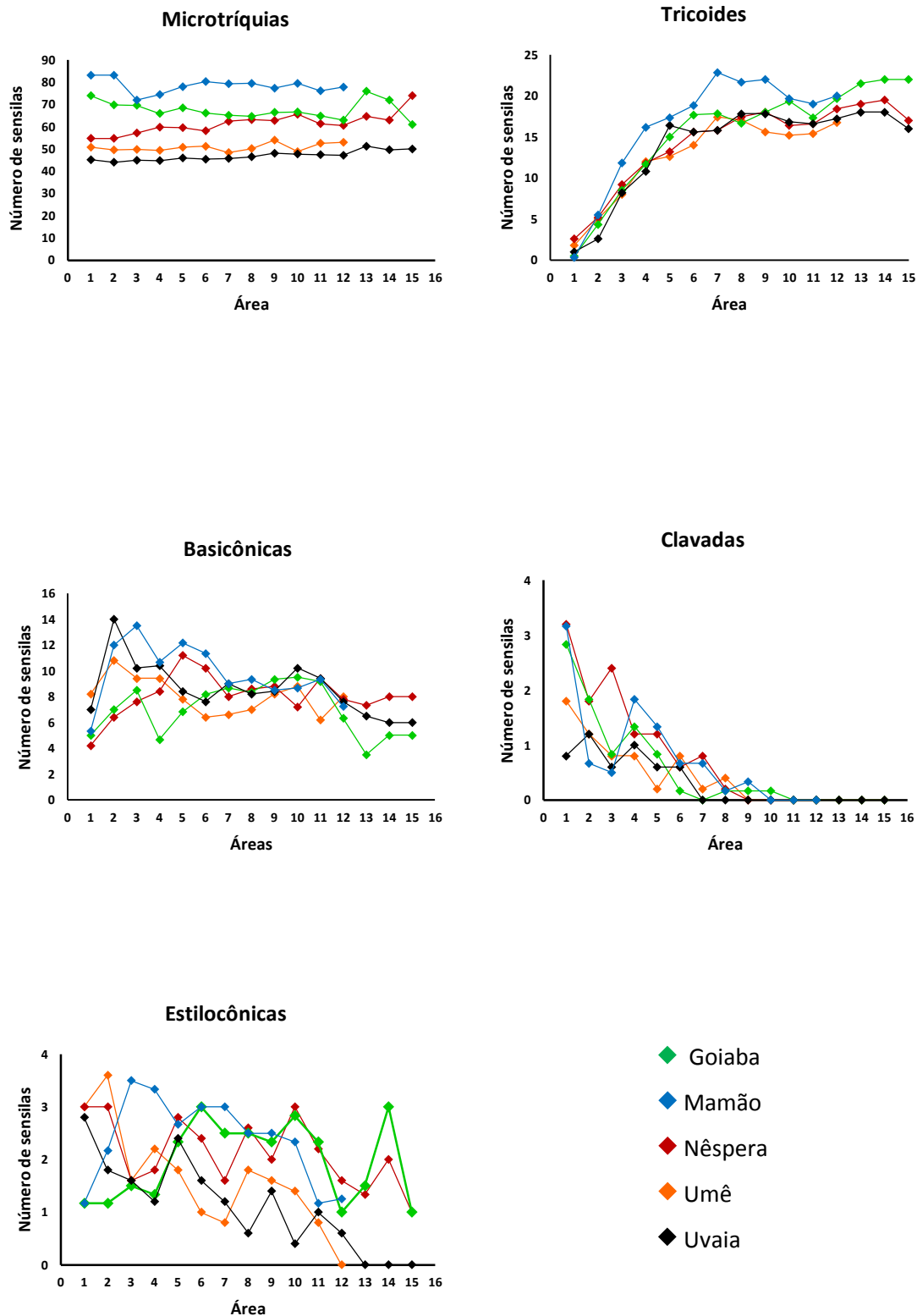
O número de cada tipo de sensila variou de maneira distinta ao longo do flagelo (da região proximal, próximo ao pedicelo, até o ápice do flagelo na região distal) nas diferentes amostras (Figura 15). Os resultados das análises da variação do número de cada tipo de sensilas por região do flagelo nas diferentes amostras feitas por Kruskal-Wallis estão demonstrados na Tabela XVII.

As microtríquias foram as sensilas mais abundantes nas três regiões em todas as amostras e o número médio não variou entre as regiões em nenhuma amostra. O número de sensilas tricoides aumentou progressivamente nas áreas da região proximal, sendo significativamente maior na região P, mas não variou significativamente entre as regiões mediana e distal em todas as amostras. Já as sensilas basicônicas, clavadas e estilocônicas variaram entre as regiões de forma distinta nas diferentes amostras.

O número de basicônicas varia nas áreas das três regiões, porém não segue um padrão; nas amostras goiaba e umê não variou, na amostra nêspera foi significativamente diferente nas regiões P e M e nas amostras uvaia e mamão foi significativamente maior na região P em relação à D.

As sensilas clavadas são as menos abundantes e tendem a decrescer da região proximal para a distal, não estando presentes na região distal, com exceção da amostra mamão; as amostras goiaba e umê apresentaram diferenças significativas entre as regiões P e M, a amostras mamão apresentou diferença entre a região P e D, já nas amostras de nêspera e uvaia, não houve diferença no número de clavadas entre as regiões.

O número das sensilas estilocônicas também é baixo, mas essa sensila é encontrada nas três regiões. O número médio diminuiu ao longo dos flagelos nos indivíduos das amostras de goiaba, umê e uvaia, nas outras não houve variação significativa.



**Figura 15:** Número médio de cada tipo de sensila registrado nas áreas ao longo dos flagelos as das antenas. Região proximal (área 1 a 5), região mediana (área 6 a 10) e região distal (área 11 a 15). Para mamão: região proximal (área 1 a 4), região mediana (área 5 a 8) e região distal (9 a 12).

**Tabela XVII:** Número médio das sensilas antenais nas regiões distal, mediana e proximal nas áreas fotografadas em flagelos de *A. sp.1* provenientes de diferentes frutos hospedeiros. Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Amostra/Fruto	Região	Microtríquia	Tricoide	Basicônica	Clavada	Estilocônica
Goiaba	Proximal	69,9 ± 9,29	7,2 ± 5,75 <sub>b</sub>	6,8 ± 3,40	1,8 ± 2,01 <sub>a</sub>	1,5 ± 1,32 <sub>a</sub>
	Mediana	65,7 ± 11,94	18,0 ± 4,36 <sub>a</sub>	8,8 ± 2,61	0,2 ± 0,53 <sub>b</sub>	2,7 ± 1,13 <sub>b</sub>
	Distal	65,3 ± 8,91	18,6 ± 3,76 <sub>a</sub>	7,7 ± 3,10	0,0 ± 0,00 <sub>b</sub>	1,9 ± 1,53 <sub>a, b</sub>
Mamão	Proximal	70,5 ± 15,56	7,5 ± 6,40 <sub>b</sub>	9,5 ± 4,89 <sub>a</sub>	1,8 ± 2,28 <sub>a</sub>	2,2 ± 1,57
	Mediana	74,3 ± 19,35	19,4 ± 4,54 <sub>a</sub>	9,8 ± 2,31 <sub>a, b</sub>	1,0 ± 1,21 <sub>a, b</sub>	3,6 ± 1,92
	Distal	75,4 ± 20,18	20,0 ± 5,75 <sub>a</sub>	8,4 ± 2,36 <sub>b</sub>	0,12 ± 0,34 <sub>b</sub>	2,1 ± 1,75
Nêspera	Proximal	60,5 ± 10,52	8,3 ± 6,38 <sub>b</sub>	6,6 ± 4,97 <sub>b</sub>	1,5 ± 1,39 <sub>a</sub>	2,6 ± 2,81
	Mediana	64,9 ± 7,37	16,3 ± 4,7 <sub>a</sub>	10,3 ± 2,78 <sub>a</sub>	0,7 ± 1,48 <sub>a, b</sub>	2,7 ± 1,83
	Distal	63,6 ± 8,42	16,9 ± 4,36 <sub>a</sub>	9,2 ± 1,87 <sub>a, b</sub>	0,0 ± 0,00 <sub>b</sub>	2,6 ± 1,44
Umê	Proximal	48,6 ± 5,54	6,75 ± 4,04 <sub>b</sub>	8,7 ± 3,00	1,12 ± 1,08 <sub>a</sub>	2,68 ± 2,27 <sub>a</sub>
	Mediana	49,5 ± 7,42	14,6 ± 2,89 <sub>a</sub>	7,2 ± 2,48	0,4 ± 0,72 <sub>b</sub>	1,0 ± 1,28 <sub>b</sub>
	Distal	51,3 ± 4,25	15,5 ± 1,93 <sub>a</sub>	8,3 ± 3,05	0,0 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,9 ± 1,23 <sub>b</sub>
Uvaia	Proximal	60,1 ± 10,01	6,6 ± 5,18 <sub>b</sub>	10,2 ± 3,34 <sub>a</sub>	0,7 ± 1,14 <sub>a</sub>	1,7 ± 2,07 <sub>a</sub>
	Mediana	60,8 ± 7,04	17,0 ± 3,60 <sub>a</sub>	7,8 ± 2,23 <sub>a, b</sub>	0,2 ± 0,66 <sub>a, b</sub>	1,0 ± 1,58 <sub>a, b</sub>
	Distal	64,5 ± 7,61	17,0 ± 4,93 <sub>a</sub>	7,8 ± 3,04 <sub>b</sub>	0,0 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,3 ± 0,70 <sub>b</sub>

Para saber se os tipos de sensilas variam diferentemente nas regiões entre as amostras estudadas foram feitas comparações por meio de um teste não paramétrico (Kruskal-Wallis) (Tabelas XVIII e XIX), uma vez que os dados não são homogêneos.

Em relação às sensilas da região proximal apenas o número das microtríquias e basicônicas variaram significativamente entre as amostras (Tabela XVIII). Os números de microtríquias foram significativamente maiores nas amostras mamão e goiaba e menores na amostra umê. Os números de basicônicas foram significativamente maiores em indivíduos provenientes de uvaia e menores nos indivíduos de goiaba.

Na região mediana, apenas os números de sensilas clavadas não variaram entre os indivíduos das diferentes amostras. As diferenças de cada tipo de sensila entre as amostras na região M estão detalhadas na Tabela XIX.

Na região distal, os números médios das sensilas tricoides, basicônicas e clavadas não variaram entre os indivíduos das diferentes amostras. As microtríquias foram mais abundantes em indivíduos provenientes de mamão e menos abundantes nos indivíduos de umê. As estilocônicas estavam presentes em maior número nos indivíduos de mamão e em menor número nos indivíduos de uvaia.

**Tabela XVIII:** Resultados do teste Kruskal-Wallis dos números médio das sensilas antenais nas regiões distal, mediana e proximal.  $p < 0,05$ .

<b>Tipo de sensila</b>	<b>Proximal</b>	<b>Mediana</b>	<b>Distal</b>
	<b>p</b>	<b>p</b>	<b>p</b>
Microtríquia	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>
Tricoide	0,9731	<b>0,0240</b>	<b>0,0283</b>
Basicônica	<b>0,0320</b>	<b>0,0071</b>	0,3835
Clavada	0,4330	0,1159	0,0755
Estilocônica	0,4491	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>

**Tabela XIX:** Número médio das sensilas antenais em cada região dos flagelos de *A. sp.1* provenientes de diferentes frutos hospedeiros. Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

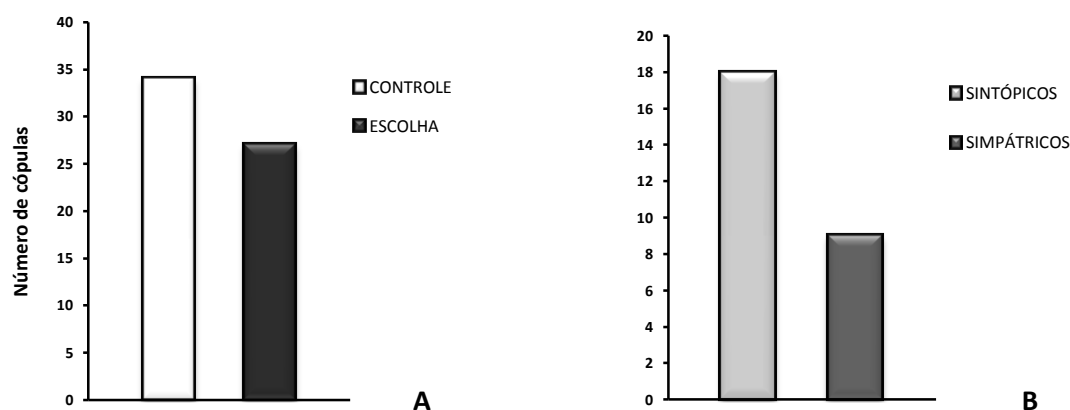
Região	Fruto	Microtríquia	Tricoide	Basicônica	Clavada	Estilocônica
Proximal	Goiaba	69,9 ± 9,29 <sub>a</sub>	7,2 ± 5,75	6,8 ± 3,40 <sub>c</sub>	1,8 ± 2,01	1,5 ± 1,32
	Mamão	70,5 ± 15,56 <sub>a</sub>	7,5 ± 6,40	9,5 ± 4,89 <sub>a,b</sub>	1,8 ± 2,28	2,2 ± 1,57
	Nêspera	60,5 ± 10,52 <sub>b</sub>	8,3 ± 6,38	6,6 ± 4,97 <sub>b,c</sub>	1,5 ± 1,39	2,6 ± 2,81
	Uvaia	60,1 ± 10,01 <sub>b</sub>	6,6 ± 5,18	10 ± 3,34 <sub>a</sub>	0,7 ± 1,14	1,7 ± 2,07
	Umê	48,6 ± 5,54 <sub>c</sub>	6,7 ± 4,04	8,7 ± 3,00 <sub>a,b</sub>	1,1 ± 1,08	2,6 ± 2,27
Mediana	Goiaba	65,7 ± 11,94 <sub>a,b</sub>	18,0 ± 4,36 <sub>a,b</sub>	8,8 ± 2,61 <sub>a,b</sub>	0,2 ± 0,53	2,7 ± 1,13 <sub>a</sub>
	Mamão	74,3 ± 19,35 <sub>b</sub>	19,4 ± 4,54 <sub>a</sub>	9,8 ± 2,31 <sub>a</sub>	1,0 ± 1,21	3,6 ± 1,92 <sub>a</sub>
	Nêspera	64,9 ± 7,37 <sub>a,b</sub>	16,3 ± 4,78 <sub>a,b</sub>	10,3 ± 2,78 <sub>a</sub>	0,7 ± 1,48	2,7 ± 1,83 <sub>a</sub>
	Umê	49,5 ± 7,42 <sub>c</sub>	14,6 ± 2,89 <sub>b</sub>	7,2 ± 2,48 <sub>b</sub>	0,4 ± 0,72	1,0 ± 1,28 <sub>b</sub>
	Umê	51,3 ± 4,25 <sub>c</sub>	15,5 ± 1,93	8,3 ± 3,05	0,0 ± 0,00	0,9 ± 1,23 <sub>a,b</sub>
Distal	Goiaba	65,3 ± 8,91 <sub>b</sub>	18,6 ± 3,76	7,7 ± 3,10	0,0 ± 0,00	1,9 ± 1,53 <sub>a,b</sub>
	Mamão	75,4 ± 20,18 <sub>a</sub>	20,0 ± 5,75	8,43 ± 2,36	0,1 ± 0,34	2,1 ± 1,75 <sub>a,b</sub>
	Nêspera	63,6 ± 8,42 <sub>b</sub>	16,9 ± 4,36	9,2 ± 1,87	0,0 ± 0,00	2,6 ± 1,44 <sub>b</sub>
	Umê	51,3 ± 4,25 <sub>c</sub>	15,5 ± 1,93	8,3 ± 3,05	0,0 ± 0,00	0,9 ± 1,23 <sub>a,b</sub>
	Uvaia	64,5 ± 7,61 <sub>b</sub>	17,0 ± 4,93	7,8 ± 3,04	0,0 ± 0,00	0,3 ± 0,70 <sub>c</sub>

## IV.2. Aspectos reprodutivos associados ao uso de diferentes frutos hospedeiros

Nos experimentos realizados, em que foram colocados para acasalar fêmeas e machos provenientes do mesmo fruto hospedeiro (sintópicos) e de frutos hospedeiros diferentes (simpátricos), ocorreram 61 cópulas, ou seja, 76,25% das fêmeas acasalaram. Das cópulas ocorridas, 34 (55,74%) foram nos controles e 27 (44,26%) ocorreram nas escolhas, não havendo diferença significativa (Mann-Whitney;  $p=0,4008$ ) (Figura 16A). Considerando apenas as cópulas ocorridas na situação de



escolha, houve diferença significativa entre casais sintópicos (18 cópulas, 66,5%) e simpátricos (9 casais, 33,5%) (Mann-Whitney;  $p=0,0433$ ) (Figura 16B).



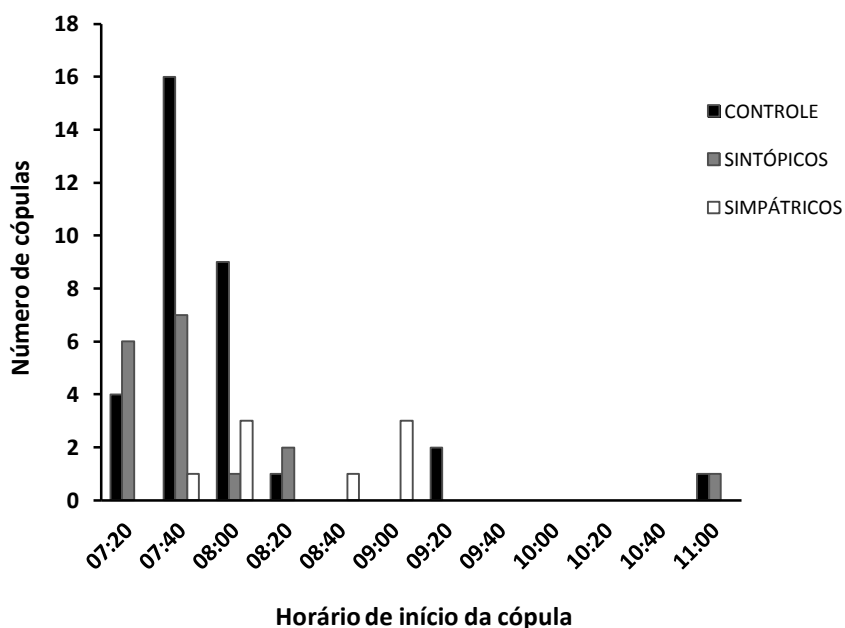
**Figura 16:** A: Número total de cópulas ocorridas nos controles e nas situações de escolha. B: Número de cópulas ocorridas de casais sintópicos e de casais simpátricos quando estavam na situação de escolha.

O horário de início e tempo médio das cópulas entre os diferentes casais (Tabela XX; Figura 17) apresentaram diferenças, embora não significativas (Kruskal-Wallis; Horário de início:  $p=0,4376$ ; Tempo de cópula:  $H_{2,57}=1,0046$ ,  $H_{2,58}=4,8650$ ,  $p=0,6051$ ). Nos controles as cópulas se iniciaram em média às 7:49 hs e duraram 66 minutos, sendo o menor tempo 20 minutos e o maior 145 minutos. Nos testes de escolha, as cópulas entre indivíduos sintópicos iniciaram em média às 7:44 hs e duraram em média 62 minutos, com menor tempo de cópula de 20 minutos e maior de 140 minutos; já as cópulas com casais simpátricos, iniciaram em média às 8:20 hs e

tiveram um tempo médio de duração de 49 minutos, sendo o maior tempo de cópula de 70 minutos, bem abaixo dos outros tratamentos. Em relação à fertilidade dos ovos, a ANOVA mostrou que existe uma diferença significativa entre os tipos de cruzamentos ( $p=0,0485$ ). O teste de Tukey mostrou que essa diferença se dá entre os casais do controle e os casais simpátricos (Tabela XX).

**Tabela XX:** Número total de cópulas, horário médio de início da cópula, tempo médio de duração da cópula e taxa de fertilidade média dos diferentes tipos de cruzamentos. Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Tratamento/ Cruzamento	Número de cópulas	Início da cópula	Tempo de cópula (min)	Fertilidade (%)
CONTROLE	34	7:49	66 ± 35	97,79 ± 3,5 <sub>a</sub>
ESCOLHA: sintópicos	18	7:44	62 ± 28	95,11 ± 3,4 <sub>a,b</sub>
ESCOLHA: simpátricos	9	8:13	49 ± 17	86,8 ± 14,8 <sub>b</sub>



**Figura 17:** Horário de início das cópulas ocorridas entre os casais do controle e em situação de escolha (sintópicos e simpátricos).

Os resultados encontrados em cada experimento estão descrito a seguir.

#### - Experimento 1:

- **Frutos hospedeiros: Café (*Coffea arabica*) e Nêspera (*Eriobotrya japonica*)**

Ocorreram 16 cópulas no total, sendo sete nos controles e nove nos testes de escolha. Nos testes de escolha, 66,6% das fêmeas copularam com machos provenientes do mesmo fruto hospedeiro. Em relação ao tempo de cópula, o teste-t mostrou que não há uma diferença significativa entre controle e escolha ( $p=0,4789$ ). Ao considerar apenas os casais em situação de escolha, o tempo médio de cópula, apesar de menor nos simpátricos, não apresentou diferença significativa, assim como a taxa de fertilidade (Tabela XXI).

**Tabela XXI:** Número de cópulas, tempo médio de duração da cópula (minutos) e taxa de fertilidade média (porcentagem) dos ovos. C: café, N: nêspera.

Cruzamento	Número de cópulas	Tempo da cópula (minutos)	Fertilidade (%)
CONTROLE C	5	67 ± 43	86, 24 ± 10,59
CONTROLE N	2	32 ± 3	100
SINTÓPICO ♀C x ♂C	3	70 ± 35	97,61 ± 3,37
SIMPÁTRICO ♀C x ♂N	1	55	87,50
SINTÓPICO ♀N x ♂N	3	90 ± 37	99,07 ± 2,72
SIMPÁTRICO ♀N x ♂C	2	52,5 ± 17	88,14 ± 25, 25

#### - Experimento 2:

- **Frutos hospedeiros: Umê (*Prunus mume*) e Uvaia (*Eugenia pyriformis*)**

Ocorreram 24 cópulas, sendo 13 nos controles e 11 nas escolhas. Das cópulas que ocorreram nas escolhas, sete (63,63%) foram entre casais sintópicos. A ANOVA do tempo de cópula não mostrou uma diferença significativa entre os tipos de cruzamentos ( $p=0,6360$ ). Não foram todas as fêmeas que copularam que colocaram ovos, as fêmeas dos cruzamentos ♀umê x ♂uvaia e ♀uvaia x ♂uvaia não oviporaram durante os 10 dias de observação após a cópula. A fertilidade nos controles foi significativamente maior que nas escolhas (teste-t;  $p=0,0440$ ). Ao comparar a fertilidade somente dos casais dos testes de escolha, o teste-t mostrou que a fertilidade entre casais sintópicos foi maior que em casais simpátricos (teste-t;  $p=0,0314$ ) (Tabela XXII).

**Tabela XXII:** Número de cópulas, tempo médio de duração da cópula (minutos) e taxa de fertilidade média (porcentagem) dos ovos. Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). U: ume, V: uvaia. -----: não houve oviposição.

	Número de cópulas	Tempo da cópula (minutos)	Fertilidade (%)
CONTROLE ♂U	7	79 ± 34	98,25 ± 2,01
CONTROLE ♂V	6	55 ± 30	98,72 ± 2,22
SINTÓPICO ♀U x ♂U	6	53 ± 24	95,94 ± 4,00 <sub>a</sub>
SIMPÁTRICO ♀U x ♂V	1	60	-----
SINTÓPICO ♀V x ♂V	1	60	-----
SIMPÁTRICO ♀V x ♂U	3	48 ± 25	92,68 ± 1,77 <sub>b</sub>

### - Experimento 3:

- **Frutos hospedeiros: Goiaba (*Psidium guajava*) e Uvaia (*Eugenia pyriformis*)**

Neste experimento ocorreram 10 cópulas. Novamente o número de cópulas nos controles foi maior que nos testes de escolha, sendo seis e quatro cópulas respectivamente. Nos testes de escolha, nenhuma cópula ocorreu entre ♀goiaba x ♂goiaba e entre ♀uvaia x ♂goiaba. O tempo de cópula nos controles foi aproximadamente o dobro que nos testes de escolha. Já em relação à fertilidade dos ovos não houve diferença. Fêmeas do cruzamento CONTROLE V (♀uvaia x ♂uvaia) não colocaram ovos (Tabela XXIII). Como neste experimento o número amostral foi extremamente baixo, não foi possível realizar testes estatísticos de significância.

**Tabela XXIII:** Número de cópulas, tempo médio de duração da cópula (minutos) e taxa de fertilidade média (porcentagem) dos ovos. Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). G; goiaba, V: uvaia. -----: não houve oviposição.

Cruzamento	Número de cópulas	Tempo da cópula (minutos)	Fertilidade (%)
CONTROLE G	4	79 ± 54	100
CONTROLE V	2	70	-----
SINTÓPICO ♀G x ♂G	0	-----	-----
SIMPÁTRICO ♀G x ♂V	2	30	100
SINTÓPICO ♀V x ♂V	2	35 ± 21	97 ± 3,98
SIMPÁTRICO ♀V x ♂G	0	-----	-----

#### - Experimento 4:

- **Hospedeiros: Goiaba (*Psidium guajava*) e Pêssego (*Prunus pérsica*)**

Ocorreram no total 10 cópulas, sendo sete nos controles e apenas três nos testes de escolha. As três cópulas que ocorreram nos testes de escolha foram entre indivíduos sintópicos, não ocorrendo nenhuma cópula entre fêmeas e machos simpátricos. O tempo de cópula diferiu entre as populações provenientes dos diferentes frutos (ANOVA;  $p=0,0253$ ); o número de cópulas entre indivíduos criados em pêssego foi maior que entre os criados em goiaba. Apenas dois tipos de cruzamentos colocaram ovos, CONTROLE P (♀pêssego x ♂pêssego) e SINTÓPICO ♀goiaba x ♂goiaba, e a fertilidade média dos ovos foi de 98,25% e 89,70%, respectivamente (Tabela XXIV). Como número amostral foi extremamente baixo, não foi possível realizar testes estatísticos de significância.

**Tabela XXIV:** Número de cópulas, tempo médio de duração da cópula (minutos) e taxa de fertilidade média (porcentagem) dos ovos. Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente ( $p < 0,05$ ). G: goiaba, P: pêssego. -----: não houve oviposição.

Cruzamento	Número de cópulas	Tempo da cópula (minutos)	Fertilidade (%)
CONTROLE G	5	44 ± 16 <sub>b</sub>	-----
CONTROLE P	2	107 ± 17 <sub>a</sub>	98,25
SINTÓPICO ♀G x ♂G	2	57 ± 24 <sub>b</sub>	89,70
SIMPÁTRICO ♀G x ♂P	0	-----	-----
SINTÓPICO ♀P x ♂P	1	90 <sub>a, b</sub>	-----
SIMPÁTRICO ♀P x ♂G	0	-----	-----

### IV.3. Perturbações ontogenéticas associadas ao estresse da troca de fruto hospedeiro

O número de pupas e o número de adultos emergidos da progênie de cada amostra foram registrados e, com base nesses dados, foi calculada a frequência de emergência para cada uma delas. O teste de  $\chi^2$  com correção de Yates mostrou que as diferenças são significativas entre as réplicas experimentais e o controle. Nas condições de troca de fruto, a porcentagem média de adultos emergidos foi de 70,18%, enquanto que no controle foi de 83,79%. A porcentagem de machos e fêmeas não variou, sendo de aproximadamente 50% de cada sexo nas duas situações (Tabela XXV).

Em relação ao número de indivíduos que não completaram a emergência (presos na pupa), a diferença também foi significativa; na situação de estresse foi de 14,64% e no controle foi de 3,86%. Já em relação à presença de deformações nas asas,

a diferença não foi significativa, notamos que a média foi maior quando os indivíduos trocaram de fruto que no controle, sendo 4,82% e 2,58% respectivamente, porém isso não ocorreu quando analisamos as réplicas individualmente (Figura 23; Tabela XXVI).

**Tabela XXV:** Número de pupas, número e porcentagem de adultos (emergências) e valores de p do teste  $\chi^2$  com a correção de continuidade de Yates entre a proporção de emergência das diferentes réplicas com troca de fruto hospedeiro e controle (significativo  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,0001$ ; N/A = não se aplica). Número de fêmeas e machos emergidos (♀♀, ♂♂).

Amostra	Número de pupas	Porcentagem de emergências	p valor	♀♀	♂♂
Réplica A	183	75,40%	0,0236	68	48
Réplica B	144	81,25%	0,6008	53	52
Réplica C	86	53,48%	***	18	23
Réplica D	204	70,58%	0,0002	53	60
CONTROLE	432	83,79%	N/A	174	188

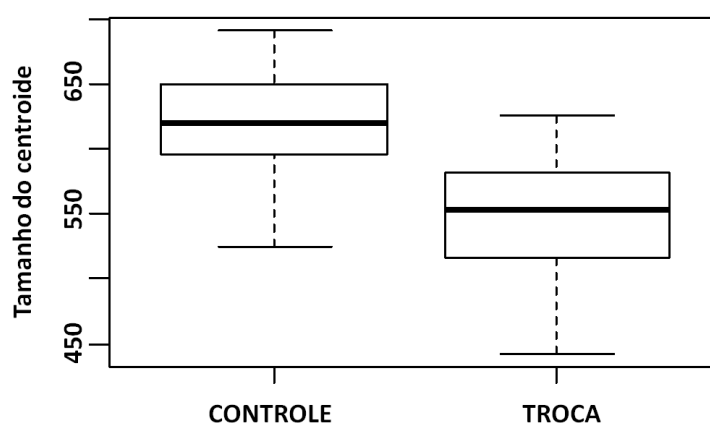


**Tabela XXVI:** Valores totais e percentuais para cada fator analisado e respectivos valores de p para o teste  $\chi^2$  com a correção de continuidade de Yates para duas calasses ( $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,0001$ ) comparando as réplicas com troca de fruto hospedeiro e o controle.

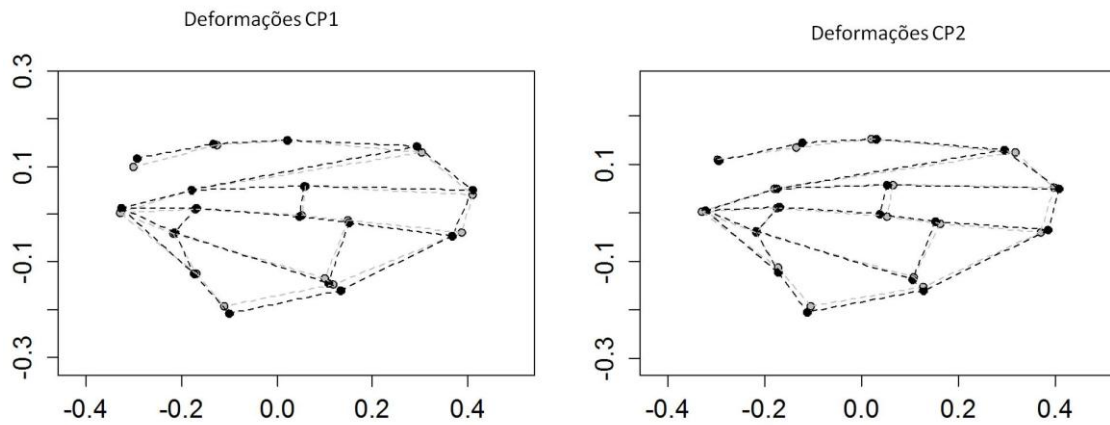
Fator analisado		Réplica A			Réplica B			Réplica C			Réplica D			CONTROLE	
		Total	%	p	Total	%	p	Total	%	p	Total	%	p	Total	%
Emergência não concluída	Sim	22	15,94%	***	12	10,25%	0,1570	5	10,87	0,0799	31	21,53%	***	14	3,86%
	Não	116	84,05%		105	89,74%		41	89,13		113	78,47%		348	96,14%
Asas atrofiadas	Sim	5	4,32%	0,5308	6	5,12%	0,2081	2	4,88%	0,7344	5	4,42%	0,5003	9	2,58%
	Não	111	96,68%		99	94,88%		39	95,12%		108	95,58%		339	97,42%

### IV.3.1. Morfometria geométrica das asas

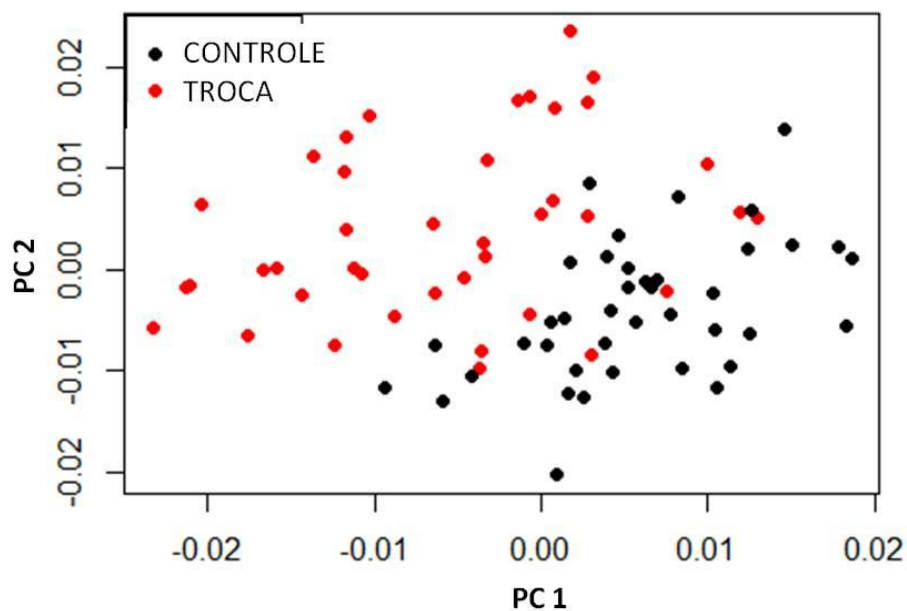
Com base nas análises de morfometria geométrica da asa, foram detectadas diferenças altamente significativas entre os indivíduos cujo desenvolvimento larval ocorreu em mamão e em goiaba (estresse) em relação ao tamanho das asas (ANOVA,  $p < 0,0001$ ) (Figura 18). Por meio de uma Procustes ANOVA, detectou-se também uma diferença significativa na forma das asas desses indivíduos ( $p = 0,001$ ). Os dois eixos que descrevem a maior proporção da variação entre as espécies está na região posterior da asa (CP 1) e nas regiões distal e da célula M (CP 2) (Figura 19). Além disso, pela Análise dos Componentes Principais (ACP), o CP 1 separou com sucesso os indivíduos dos diferentes tratamentos, formando dois grupos distintos (Figura 20).



**Figura 18:** Tamanho do centroide das asas dos indivíduos que não trocaram de fruto hospedeiro (CONTROLE) e dos indivíduos que trocaram de fruto hospedeiro (TROCA).



**Figura 19:** Variação na forma da asa ao longo dos dois primeiros componentes principais (CP) da Análise de Componentes Principais. A linha cinza representa a forma em valores mínimos de cada eixo (componente principal) e a linha preta representa a forma em valores máximos.



**Figura 20:** Distribuição dos espécimes de *A. sp1.* criados no mesmo hospedeiro (CONTROLE) e em condição de troca de fruto hospedeiro (TROCA) segundo o contraste entre os Componentes Principais 1 e 2 gerada a partir de variáveis de forma da asa.

### IV.3.2. Assimetria das asas

As análises de assimetria das asas mostraram que em relação ao tamanho, o tipo de assimetria encontrado nos indivíduos, tanto os que mantiveram quando os que trocaram o fruto hospedeiro é AF (Tabela XXVII). A AF de tamanho foi maior no quando houve a troca ( $F_{\text{controle}}=2,7532$ ;  $F_{\text{troca}}=26,1178$ ), porém uma ANOVA mostrou que essa diferença não foi significativa ( $p=0,0837$ ). Já em relação à assimetria da forma das asas, foram encontradas AF e AD e as diferenças dos valores de assimetria, tanto AF quanto AD, entre os indivíduos que mantiveram e os que trocaram o fruto hospedeiro foi bastante baixa.

**Tabela XXVII:** Procrustes ANOVA para testar qual o tipo de assimetria (AF e/ou AD) em relação ao tamanho e forma das asas de indivíduos que mantiveram o fruto hospedeiro (CONTROLE) e os que mudaram de fruto hospedeiro (TROCA). Df: graus de liberdade, Sum Sq: soma dos quadrados, Mean Sq: média dos quadrados, F e p ( $p < 0,05$ ). ind: variação individual, AD: assimetria direcional, AF: assimetria flutuante.

		Df	Sum Sq	Mean Sq	F	p
Tamanho						
CONTROLE	ind	39	7,5847e-07	1,9448e-08	4,3493	0,00001
	AD	1	2,4500e-09	2,4457e-09	0,5469	0,46400
	AF	39	1,7439e-07	2,0987e-08	2,7532	<b>0,00007</b>
	Erro	80	1,2993e-07	2,0987e-08		
TROCA	Ind	39	5,4610e-06	1,4003e-07	1,1166	0,36614
	AD	1	1,6700e-07	1,6700e-07	1,3317	0,25553
	AF	39	4,8907e-06	1,2540e-07	26,1178	<b>0,00000</b>
	Erro	80	3,8410e-07	4,8010e-09		
Forma						
CONTROLE	Ind	1170	0,048403	4,137e-05	5,5510	0,0000
	AD	30	0,000566	1,885e-05	2,5294	<b>0,0010</b>
	AF	1170	0,008720	7,453e-06	3,2782	<b>0,0000</b>
	Erro	2400	0,005456	2,273e-06		
TROCA	Ind	1170	0,070791	6,050513e-05	3,8805	0,00000
	AD	30	0,000915	3,05e-05	1,9569	<b>0,00161</b>
	AF	1170	0,018243	1,559231e-05	3,2718	<b>0,00000</b>
	Erro	2400	0,011437	4,765417e-06		

### IV.3.3. Assimetria das cerdas frontais e pós-oculares

#### IV.3.3.1. Assimetria do número das cerdas frontais e pós-oculares

Em relação ao número de cerdas, primeiramente foi realizado um teste de Levene a fim de analisar a homogeneidade das variâncias entre os sexos para confirmar se o número de cerdas não está relacionado ao sexo, o que implicaria um

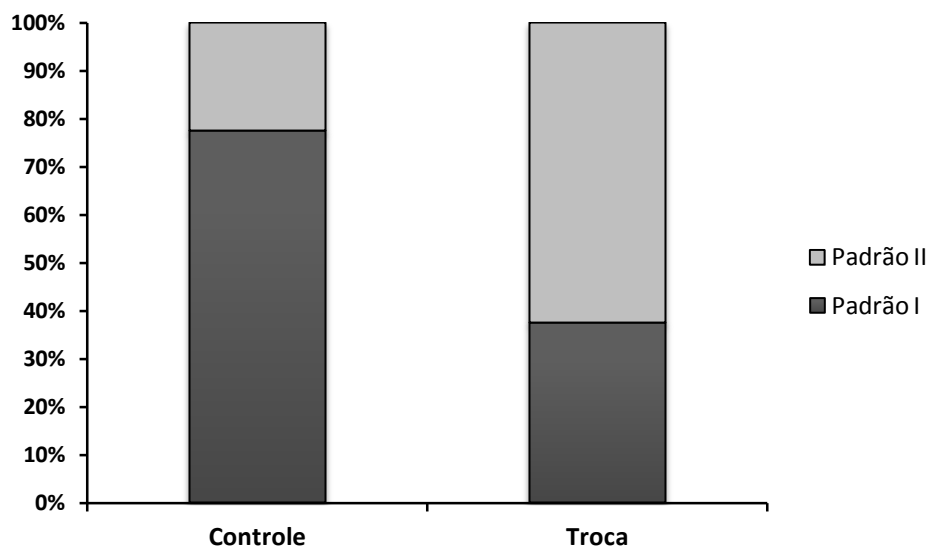
possível dimorfismo sexual. No controle e nas réplicas com troca de fruto, tanto para as cerdas frontais quanto para as pós-oculares, os dados apresentaram uma distribuição homogênea, mostrando que o sexo não influencia no número das cerdas (Troca:  $p_{\text{frontais}}=0,5304$ ,  $p_{\text{pós-oculares}}=0,8440$ ; Controle:  $p_{\text{frontais}}=0,1999$ ,  $p_{\text{pós-oculares}}=0,0952$ ). Também foi testada a possível correlação entre o tamanho da estrutura ( $D+E/2$ ) e o escore de assimetria de cada indivíduo ( $D-E$ ). Tanto as cerdas frontais quanto as pós-oculares não apresentaram correlações (CONTROLE:  $R^2_{\text{frontais}}=0,0035$ ,  $R^2_{\text{pós-oculares}}=0,0119$ ; TROCA:  $R^2_{\text{frontais}}=0,0052$ ,  $R^2_{\text{pós-oculares}}=0,0222$ ;) não sendo necessária a correção de escala dos escores. O tipo de assimetria foi determinado por meio de um teste-t pareado para ambos os grupos de cerdas em cada amostra; o resultado mostrou que nos dois tratamentos o tipo de assimetria é a AF (Troca,  $p_{\text{frontais}} = 1,000$ ,  $p_{\text{pós-oculares}} = 0,0935$ ; Controle:  $p_{\text{frontais}}=0,8118$ ,  $p_{\text{pós-oculares}}=0,6859$ ) (Tabela XXVIII). As análises de assimetria e curtose não apresentaram desvios na distribuição dos escores. Como as variâncias das cerdas frontais não são homogêneas (Levene,  $p=0,8440$ ) foi realizado um teste não paramétrico (Mann-Whitney) para comparar os escores da AF entre os tratamentos. Já as variâncias das cerdas pós-oculares apresentam um padrão homogêneo (Levene,  $p=0,0282$ ), assim, o teste utilizado para comparação da AF foi o teste-t (paramétrico). Ambos os testes mostraram diferenças significativas nas assimetrias das cerdas frontais ( $p=0,038$ ) e pós-oculares ( $p=0,006$ ) entre os indivíduos que mantiveram o mesmo fruto hospedeiro e os que trocaram de fruto.

**Tabela XXVIII:** Resultados do teste-t pareado dos números de cerdas frontais e pós-oculares dos lados direito (FD) e esquerdo (FE) dos indivíduos Controle e os que alteraram o fruto hospedeiro (Troca).  $p < 0,05$ .

Tratamento	N	df	Frontais				Pós-oculares			
			Média	sd	Diff.	p	Média	sd	Diff.	p
Controle	FD		4,250	0,780			14,131	1,742		
	FE	40	4,400	0,777	0,025	<b>0,811</b>	14,052	2,026	1,194	<b>0,685</b>
Troca	FD		3,975	0,576			14,100	2,273		
	FE	40	3,975	0,619	0,784	<b>1,000</b>	14,125	2,015	-0,025	<b>0,935</b>

#### IV.3.3.2. Assimetria da posição das cerdas frontais

A análise dos padrões de disposição das cerdas frontais apresentou uma diferença altamente significativa entre os indivíduos que mantiveram o fruto hospedeiro e os que trocaram de fruto (Pearson Chi-square=13,0946, df=1,  $p=0,0002$ ). A tabela de contingência mostrou que há uma tendência linear significativa entre os padrões I e II e os tratamentos, sendo o padrão I (simétrico) muito mais frequente em indivíduos do controle enquanto que o padrão II (assimétrico) é mais frequente nos indivíduos que trocaram o fruto hospedeiro (Figura 21; Tabela XXIX). Esta análise mostra que os indivíduos que mantiveram o mesmo fruto hospedeiro são mais simétricos em relação ao alinhamento (posição) das cerdas frontais que os que trocaram de fruto.



**Figura 21:** Porcentagem de indivíduos que apresentaram Padrão I (simétrico) e Padrão II (assimétrico) de posição das cerdas frontais no controle e na situação de mudança de fruto hospedeiro (Troca).

**Tabela XXIX:** Número de indivíduos que mantiveram o fruto hospedeiro (CONTROLE) e os que mudaram de fruto (TROCA) associados aos padrões de posição das cerdas frontais.

Tratamento	Padrão I	Padrão II	Total
CONTROLE	31 77,5%	9 22,5%	40
TROCA	15 37,5%	25 62,5%	40
TOTAL			80



## V. Discussão

---

A enorme diversidade de táxons de insetos fitófagos pode ser, parcialmente, explicada por mudanças adaptativas relacionadas à mudança de planta hospedeira, que pode causar desde sutis modificações na morfologia, até o isolamento reprodutivo (Soto *et al.* 2014). Os fitófagos e suas plantas hospedeiras formam um excelente sistema para o estudo de processos de adaptação e divergência interespecífica, uma vez que a planta constitui o ambiente em que o inseto se desenvolve (local e alimento) durante sua ontogenia. As moscas da família Tephritidae são um exemplo de insetos fitófagos amplamente estudados, pois, além de propícias a estudos evolutivos, sua condição de inseto praga faz com que uma ampla gama de estudos sobre sua biologia básica e métodos de controles tenham sido desenvolvidos (Belocher e Feder 2002; Selivon *et al.* 2004, 2005a, 2005b; Cha *et al.* 2012; Powel *et al.* 2014; De Meyer *et al.* 2015; Gomes-Cendra *et al.* 2016; Ragland *et al.* 2016).

Nesse trabalho verificou-se que a dieta larval influencia a morfologia das asas em *A. sp.1*. Essa variação morfológica proporcionou um considerável nível de discriminação entre os indivíduos criados em diferentes plantas hospedeiras, principalmente os provenientes de goiaba. Esses resultados vão de acordo com os encontrados por Gomes-Cendra *et al.* (2016), que analisaram seis medidas morfométricas (sendo duas medidas da asa) de *A. sp.1* provenientes de três diferentes hospedeiros (goiaba, noz e pêssago) coletados em simpatria, na região norte da Argentina. Vários estudos também detectaram plasticidade fenotípica associada ao

hospedeiro em outros grupos de insetos, alguns exemplos são a mariposa *Ectomyelois ceratoniae* (Mozaffarian *et al.* 2007), as moscas dos cactos *Drosophila gouveai* e *D. antonietae* (Soto *et al.*, 2008) e a borboleta *Heliconius erato*, que utiliza diferentes espécies de maracujá (*Passiflora* sp.) como hospedeiros (Jorge *et al.* 2011).

Ao contrário do encontrado por Perre (2012), não houve uma grande variação na região distal da asa, mas variações nas regiões centrais (veia r-M) e posterior se confirmaram. As diferenças nas asas de indivíduos provenientes de três frutos hospedeiros (goiaba, nêspera e pêsego), descritas no trabalho de Perre (2012), devem-se possivelmente a uma alteração no tamanho e/ou forma das células, uma vez que não foram detectadas alterações no número de células das asas, evidenciada pela análise de tricomas. Os processos de divisão celular (mitoses) e formação das asas nos dípteros são coordenados por genes, chamados de morfogenes, e não dependem de forças externas exercidas sobre os tecidos; porém, os processos de como tais morfogenes controlam a divisão e os rearranjos celulares ainda não são claros e precisam ser mais bem estudados (Lecuit e Goff 2007; Torquato *et al.* 2014).

A utilização de diferentes frutos hospedeiros por uma espécie generalista, que é o caso de *A. sp.1*, não necessariamente significa que a qualidade nutricional e/ou a densidade populacional das larvas nos frutos, não tenham consequências durante o desenvolvimento ontogenético do inseto. As análises de assimetria das asas mostraram que existe tanto assimetria direcional quanto flutuante em relação à forma das asas, sendo significativas em quase todas as populações, porém não há um padrão claro nesses resultados, sendo difícil de interpretar. A presença de AF e AD é bastante comum em asas de insetos (Pelabon e Hansen 2008) e o problema de encontrar os

dois tipos de assimetria ao mesmo tempo, é a que a AD, que é determinada geneticamente, dificulta identificar os efeitos da AF; nesses casos é necessário um número amostral alto para que as ferramentas estatísticas consigam analisar separadamente os tipos de assimetria (Klingenberg e McIntyre 1998). Já em relação à assimetria de tamanho das asas, apenas uma população apresentou AF (pêssego) e uma AD (nêspera), indicando que o tamanho das asas não difere entre os lados, ou que essa assimetria é tão sutil que o teste estatístico não foi robusto o bastante para detectá-la. Quando diferentes características de uma mesma estrutura são analisadas, elas podem reagir de forma distinta à mesma mudança no ambiente, ou seja, podem apresentar diferentes normas de reação (Whitman e Agrawal 2009). Nesse estudo, as asas apresentaram uma maior plasticidade em relação à forma e uma plasticidade reduzida em relação ao tamanho.

As análises de assimetria do número das cerdas da cabeça (frontais e pós-oculares) confirmaram, como previamente sugerido em outros trabalhos (Pires 2005; Souza *et al.* 2007), assimetria do tipo AF para os dois conjuntos de cerdas e, portanto, essas estruturas seriam adequadas para o estudo sobre o impacto de estresses ambientais ou genéticos em populações de moscas-das-frutas. As análises das cerdas frontais, tanto de número quanto de posição, indicam que as larvas sofrem algum estresse durante seu desenvolvimento em determinados frutos. Já foram realizados estudos que mostram a existência de AF em moscas-das-frutas nas espécies *Ceratitis capitata* (Hunt *et al.* 2002), *A. grandis* (Pires *et al.* 2004), *A. obliqua* (Pires 2005) e *A. sp.1* e *A. sp.2* (Souza *et al.* 2007). Tais estudos utilizaram como padrão de assimetria o número de cerdas da cabeça. Entretanto, apesar de ser mais fácil de mensurar, apenas

o número de cerdas pode não ser a melhor métrica para avaliar níveis de AF, uma vez que não leva em consideração a posição das cerdas, ou seja, o modo como elas estão dispostas espacialmente.

Diferentes características do fruto hospedeiro podem ser responsáveis pelo desequilíbrio no desenvolvimento ontogenético das moscas das frutas e levar a um aumento na AF, como: a) composição nutricional e química do fruto, b) disponibilidade e tamanho do fruto, que podem levar a uma competição de recurso de acordo com a densidade populacional da mosca, c) tempo de adaptação (tempo de contato com o fruto), no caso dos frutos exóticos. No presente trabalho, vários frutos coletados eram de espécies exóticas e os espécimes que utilizaram alguns desses frutos (jambo e umê) como hospedeiros, eram pouco assimétricos. Isto indica que *A. sp.1* já está adaptada ao uso desses hospedeiros, pois é uma espécie generalista e que as moscas-das-frutas se adaptam a novas condições ambientais em poucas gerações.

Embora ainda não se conheça ao certo o que determina se uma espécie será especialista ou generalista (Rausher 1993), sabe-se que variações na disponibilidade de hospedeiros podem ser responsáveis por diferenças na dieta entre espécies e até mesmo entre populações de uma mesma espécie (Jaenike 1990). A mudança de planta hospedeira também pode ocorrer por fuga de inimigos naturais ou para evitar a competição (Feder *et al.* 1995). A troca de hospedeiro pode ser prejudicial, uma vez que expõe os indivíduos a características desconhecidas da nova planta para o inseto, tanto quanto a aspectos estruturais (pelos, espinhos, dureza), quanto a propriedades nutritivas (vitaminas, proteínas), além de metabólitos secundários das plantas, que normalmente são tóxicos (Baldwin 2001; Kliebenstein *et al.* 2001).

O experimento sobre os efeitos da troca de hospedeiro em uma população de laboratório de *A. sp.1*, mostrou que a troca de hospedeiro interfere na morfologia e na AF em relação ao tamanho das asas, sendo significativamente maior nos indivíduos que mudaram de fruto hospedeiro. As análises do número de cerdas da cabeça mostraram que as AF das cerdas, tanto das frontais quanto das pós-oculares, são altamente influenciadas pela troca de fruto hospedeiro, assim como o padrão de alinhamento das cerdas frontais. Estudos realizados com *C. capitata* (Hunt, *et al.* 1998, 2002) e com *A. sp.1* (Perre *et al.* – em preparação) mostram que há uma preferência das fêmeas para acasalar com machos simétricos em relação às cerdas frontais. Os efeitos provocados pela mudança de substrato do desenvolvimento larval foram distintos para as asas e cerdas, havendo manifestação no aumento da assimetria flutuante apenas nessas últimas. A diferença de resposta das estruturas pode resultar de distinção na robustez dos mecanismos que promovem a estabilidade ontogenética dessas estruturas (Rocha *et al.* 2009). Sabe-se que outros tipos de perturbação no desenvolvimento podem não levar à AF, como efeitos de maior escala que não atuem independentemente nos dois lados do corpo (Dongen 2006). Além disso, a compreensão de como o ruído causado por variações estocásticas durante o desenvolvimento leva à assimetria, e sua interação com o estresse e a aptidão, são pouco conhecidos. À medida que se avança na compreensão da complexidade da arquitetura genética e sua interação com o meio ambiente, percebe-se que a maioria dos efeitos das perturbações se dá de forma não linear, dificultando a relação com alterações na AF. Devido a esse conjunto de fatores, a AF tem sido considerada com muita cautela como indicadora de estresse e aptidão. A maioria dos autores que

revisaram esse tema aconselha que os trabalhos desenvolvidos busquem medir efeitos no desempenho de forma mais direta (Palmer e Strobeck 1986; Lens *et al.* 2002; Dongen 2006). Por isso, além de medir a assimetria das asas e cerdas da cabeça, outras características da progênie foram avaliadas.

Os resultados apresentados mostraram que a mudança de fruto hospedeiro em uma população, além de diminuir o número de descendentes (menor número de pupas, menor número de emergência de adultos), aumenta a quantidade de indivíduos anômalos. Esses resultados indicam que a mudança de fruto hospedeiro em uma população já estabelecida (ex: pomares comerciais que produzem a mesma espécie de frutífera o ano todo) atuaria como um fator de estresse, favorecendo a permanência da população no mesmo hospedeiro. Uma relação como essa, associada ao fato de disponibilidade frequente de frutos, pode explicar a rápida colonização de frutos introduzidos e comerciais, como sugerido por Kovaleski *et al.* (2000a). Os autores estudaram o aumento de populações de *A. fraterculus* s.l. em culturas de macieira introduzidas no município de Vacarias-RS; a princípio, o número de espécimes coletados no pomares era menor e com desenvolvimento mais lento em relação aos coletados nas matas ao redor dos pomares. No entanto, devido à intensa atividade reprodutiva dos adultos e a falta de disponibilidade dos frutos silvestres para oviposição, *A. fraterculus* passou a ser uma praga nos pomares de maçã nessa região em menos de 30 anos de introdução (Kovaleski *et al.* 2000b).

Os insetos possuem a capacidade de lidar com essas “barreiras” impostas por uma nova planta hospedeira de várias maneiras e de se adaptar a elas em poucas gerações. Mudanças fisiológicas e comportamentais relacionadas à adaptação ao novo

hospedeiro podem exercer uma forte pressão seletiva sobre a morfologia (Schonrogge *et al.* 2002; Bickford *et al.* 2007). Se o novo hospedeiro diferir, principalmente quimicamente do hospedeiro original, a colonização pode levar a especialização; as “novas” larvas, já adaptadas, tendem a se desenvolver melhor no novo hospedeiro (Blair *et al.* 2010) e o isolamento reprodutivo dos adultos pode ocorrer por esses serem atraídos para os frutos em que se desenvolveram e por produzirem feromônios diferenciados (Rundle *et al.* 2005, Symonds e Elgar 2008).

Alguns componentes dos feromônios de machos de *Anastrepha* são encontrados nos frutos e nos voláteis de folhas verdes (compostos secundários) das plantas hospedeiras. O estudo realizado por Oronó *et al.* (2013), mostra que adaptação à química da planta parece ter produzido diferenciação populacional em *A. sp.1* no norte da Argentina. Os autores examinaram a composição química de três hospedeiros (goiaba, noz e pêsego) coletados em simpatria, sendo dois em sincronia (pêsego e noz) na região norte da Argentina e a composição genética das moscas associadas a esses frutos. A composição de nutrientes e de compostos secundários variou bastante entre os frutos hospedeiros; as análises da composição genética dessas populações as separaram em grupos distintos, sendo um formado por indivíduos que utilizam pêsego e outro formado por indivíduos que utilizam frutos goiaba e noz. A análise do ISSR mostrou que fluxo gênico é bastante baixo entre as populações de pêsego e as outras, porém o mesmo não acontece entre as populações de goiaba e noz.

As antenas dos insetos são de extrema importância para o desempenho de vários comportamentos durante vida adulta, estando envolvidas na localização e discriminação de hospedeiros, além do reconhecimento de parceiros coespecíficos

(Ochieng *et al.* 2000). Assim, o estudo das estruturas sensitivas é essencial para que estratégias de controle de pragas obtenham sucesso, principalmente as que envolvam a percepção de feromônios ou até o desenvolvimento de inseticidas que bloqueiem a função das sensilas. Este é o primeiro trabalho que analisa plasticidade dessas estruturas associada ao uso de diferentes hospedeiros em moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha*. Os resultados das comparações dos comprimentos dos flagelos das antenas direitas e esquerdas de moscas provenientes de diferentes hospedeiros, não apresentaram diferenças, indicando que essa estrutura não apresentou assimetria estatisticamente significativa. O comprimento dos flagelos dos indivíduos criados em mamão e goiaba, foram significativamente menores que os de indivíduos provenientes de nêspera, pêssigo e uvaia, porém como não foram feitas correlações com o tamanho dos indivíduos, não se pode afirmar que essas diferenças são devidas ao uso de diferentes hospedeiros.

As análises da constituição das sensilas quimiorreceptoras presentes nos flagelos mostraram que existem diferenças entre os indivíduos provenientes de diferentes hospedeiros. A sensibilidade do inseto ao odor está diretamente relacionada ao número de sensilas que ele possui (Chapman 1982), quanto maior o número de sensilas mais sensível aos odores eles são. Os cinco tipos de sensilas descritos em outros trabalhos (microtríquias, tricoides, basicônicas, clavadas e estilocônicas) (Giannakakis e Fletcher 1985; Bisotto *et al.* 2011; Awad *et al.* 2015) foram encontrados em todas as amostras populacionais. A comparação do número total de cada tipo de sensila mostrou que apenas as microtríquias variaram significativamente entre as amostras, ocorrendo em menor número nos indivíduos



provenientes de umê, em relação aos provenientes de goiaba e mamão. Porém, quando foram analisadas a distribuição e o número de cada tipo de sensila nas diferentes regiões do flagelo (proximal, mediana e distal), houve variações nos cinco tipos de sensilas, sendo a região mediana a que mais variou. Awad *et al.* (2015) descreveu os tipos de sensilas encontrados nas antenas de *Bactrocera zonata* que utilizam três diferentes frutos hospedeiros (goiaba, pêssego e laranja) e encontrou uma grande plasticidade tanto em relação ao tamanho quanto à abundância e localização das sensilas, principalmente em relação às sensilas clavadas. Chapman e Lee (1991) estudaram a relação do número de sensilas com a alimentação e odor no gafanhoto *Schistocerca americana* e registraram que o número de sensilas tricoides é menor em indivíduos que se alimentam de apenas uma planta hospedeira e que se desenvolvem em ambiente em que não há uma mistura de odores, apenas odores da mesma planta em que ele se desenvolveu; já os que se alimentaram de várias espécies de plantas e em local com uma mistura de odores, o número de sensilas foi menor. De acordo com esses autores, a plasticidade no número de sensilas não está relacionada com um déficit nutricional, o que foi confirmado por Rogers e Simpson (1997) ao estudarem a associação da composição nutricional com o número de sensilas em outra espécie de gafanhoto, *Locusta migratória*. Os gafanhotos que se alimentaram de dietas com a mesma composição nutricional, porém com diferentes odores adicionados, apresentaram diferentes números de sensilas. Nesse estudo, os odorantes emitidos pelos tipos de frutos, podem estar também relacionados às diferenças na abundância dos tipos de sensilas encontradas nas amostras. Assim, a prevalência de um determinado tipo de sensila pode determinar a atratividade por uma ou outra

espécie de fruto. Outras análises são necessárias para um melhor esclarecimento e compreensão desses cenários.

As variações morfológicas encontradas em indivíduos de *A. sp.1* criados em diferentes frutos hospedeiros mostraram várias evidências de plasticidade fenotípica. Esses indivíduos foram criados em frutos coletados em um mesmo pomar, sob as mesmas condições ambientais, ou seja, variações devido às diferenças geográficas são descartadas. Tais variações podem ser o resultado da qualidade nutricional dos frutos e seus efeitos no desenvolvimento dos indivíduos. A diversidade nas normas de reação das diferentes estruturas associada ao uso do recurso alimentar, é tida como um dos mais importantes papéis da plasticidade fenotípica na diversificação dos organismos (Pfennig *et al.* 2010); assim, variações fenotípicas relacionadas com a utilização dos hospedeiros podem ser geradoras de diferenciação populacional em *A. sp.1*.

Outra maneira da variação na morfologia levar à diversificação é pelo reconhecimento e escolha de parceiros reprodutivos. Indivíduos criados em hospedeiros diferentes podem apresentar diferenças na forma e tamanho do corpo (Nylin e Janz 2009), o que pode influenciar na compatibilidade reprodutiva entre as populações ou na competitividade dos machos reprodutivos, contribuindo para o isolamento pré-cópula (Bryant e Meffert 1990, 1996; Klingenber e Monteiro 2005). No caso das moscas-das-frutas, é relatado que a simetria das cerdas frontais dos machos de *Ceratitis capitata*, influencia na escolha do parceiro reprodutivo pela fêmea (Hunt *et al.* 1998; 2002; 2004).

O isolamento reprodutivo de indivíduos criados em diferentes hospedeiros pode levar à formação de raças-hospedeiro, que são definidas como populações de

uma mesma espécie adaptadas na exploração de diferentes recursos e que, normalmente, apresentam um sistema de corte e cópula intimamente associado à planta hospedeira (Bush 1969). Raças-hospedeiro, além de poderem apresentar diferenças genéticas, tendem a apresentar diferenças na escolha do hospedeiro, tempo de eclosão, comportamento de corte e cópula (Berlocher e Feder, 2002; Fordyce 2010; Cha *et al.*, 2012.). Esses fatores são suficientes para permitir uma intensidade de seleção que supere o fluxo gênico, mantendo as diferenças entre as raças a cada geração. Esses modelos são estabelecidos para espécies especialistas e univoltinas, o que não é o caso de *A. sp.1*, uma espécie polífaga e multivoltina. Porém, os resultados apresentados nesse trabalho mostraram que o fruto hospedeiro pode agir como um fator promotor da diferenciação.

Experimentos nos quais fêmeas maduras sexualmente foram colocadas em arenas com machos provenientes do mesmo fruto e de frutos diferentes, mostraram que o fruto hospedeiro pode influenciar na reprodução das moscas-das-frutas atuando como um fator ambiental ativo na escolha de parceiros reprodutivos. Os resultados mostraram que não houve diferença no número de cópulas nos controles quando machos e fêmeas derivaram de um mesmo fruto em relação à situação de escolha; porém na situação de escolha – quando há machos de frutos diferentes na arena – o número de cópulas entre indivíduos sintópicos foi significativamente maior que entre indivíduos simpátricos. O fato observado corrobora a ideia de que a escolha de parceiro pela fêmea pode estar relacionada com o fruto hospedeiro em que o macho se desenvolveu, havendo o reconhecimento e preferência pelos sintópicos.

Nos insetos, a preferência por um hospedeiro para acasalamento e oviposição pode ser influenciada por experiências ocorridas nas fases de larva ou de adulto recém-emergido (Coyne e Orr 2004; Henniges-Janssen *et al.* 2011); essa fidelidade pode ocorrer por condicionamento ou aprendizado larval (Coyne e Orr 2004; Dambroski *et al.* 2005; Barron 2009) e não apenas por diferenças de preferência herdadas. Uma das explicações desse aprendizado seria que compostos químicos dos hospedeiros permaneceriam na cutícula do indivíduo mesmo após o processo de metamorfose (Prokopy *et al.* 1982, 1986). Essa pode ser a mesma explicação do reconhecimento e preferência em acasalar com machos provenientes do mesmo fruto hospedeiro, uma vez que o reconhecimento de parceiros e “aparentados” se dá por meio da identificação de feromônios e hidrocarbonetos de cutícula. Outro fator que pode explicar a relação do fruto hospedeiro com a escolha do parceiro pela fêmea, é que a constituição química da dieta é um dos precursores da síntese de feromônios e dos hidrocarbonetos de cutícula (Rundle *et al.* 2005, Symonds e Elgar 2008).

As cópulas entre os casais do controle ocorreram mais rapidamente do que nas situações de escolha. Pode ser que nessas situações exista uma mistura de voláteis e a fêmea leve mais tempo para reconhecer o parceiro ideal. O tempo de cópula também foi maior entre os casais com indivíduos provenientes do mesmo fruto, embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas. A ausência de significância pode ser devido ao baixo número amostral, principalmente nos nove casais dos cruzamentos de hospedeiros diferentes. A taxa de eclosão das larvas foi significativamente mais baixa quando os casais são de frutos diferentes. A causa dessa diferença pode estar relacionada com a falha na transferência de esperma, que pode

ocorrer tanto devido ao tempo insuficiente da cópula quanto a diferenças na qualidade nutricional dos frutos em que se desenvolveram. Como a taxa de eclosão foi alta e não diferiu entre os diferentes controles, que envolveram cinco tipos de frutos, a qualidade nutricional do fruto pode ser um fator descartado.

Os trabalhos sobre compatibilidade reprodutiva no complexo *A.fraterculus* envolvem populações de diferentes localidades (Selivon *et al.* 1999; Vera *et al.* 2006; Caceres *et al.* 2009; Rull *et al.* 2013; Abraham *et al.* 2014; Dias *et al.* 2015) ou criadas em laboratório (Dias *et al.* 2015), esse é o primeiro trabalho que estuda a compatibilidade reprodutiva associada ao uso de diferentes hospedeiros com populações encontradas em simpatria.

As análises do presente estudo evidenciaram que o fruto hospedeiro no qual a larva se desenvolve, influencia a morfologia das asas, o reconhecimento de parceiros reprodutivos e pode ser um fator de estresse durante a ontogenia. Novos estudos sobre variações (morfológicas, comportamentais, fisiológicas ou bioquímicas) integrados a estudos sobre os padrões e dinâmicas das populações poderão contribuir para elucidar o complexo cenário dos efeitos da utilização de diferentes frutos hospedeiros pelas moscas-das-frutas.

## VI. Conclusões

---

1. A utilização de diferentes frutos pelo estágio larval influencia na morfologia das asas de *A. sp.1*;
2. A variação na forma da asa associada ao uso de diferentes hospedeiros, possivelmente, está relacionada com a mudança no tamanho e/ou forma das células, uma vez que a análise dos tricomas não indicou uma alteração no número de células das asas;
3. As asas de indivíduos provenientes de diferentes frutos hospedeiros apresentam tanto assimetria flutuante quanto direcional em relação à forma e os graus de assimetria não apresentam diferenças. Portanto, não são consideradas estruturas adequadas para a análise de efeitos do estresse no desenvolvimento ontogenético em *A. sp.1*;
4. Assimetrias de tamanho, tanto flutuante quanto direcional, não são frequentes em *A. sp.1*, independente do fruto em que se desenvolveram;
5. Os graus de assimetria flutuante do número das cerdas da cabeça (frontais e pós-oculares) em *A. sp.1* diferem nos indivíduos que se desenvolvem em diferentes frutos hospedeiros;
6. Indivíduos provenientes de frutos hospedeiros distintos apresentam diferenças no padrão de posição das cerdas frontais, indicando que os diferentes frutos causam diferentes níveis de estresse ontogenético;

7. A abundância e a disposição de algumas sensilas quimiorreceptoras presentes ao longo flagelos das antenas são variáveis entre os indivíduos provenientes de diferentes hospedeiros;
8. A troca de fruto hospedeiro pode ser um fator de estresse para as moscas-das-frutas, uma vez que os níveis de AF das asas e das cerdas da cabeça foram maiores nos indivíduos que mudaram de fruto hospedeiro;
9. A troca de frutos também influencia o desempenho da progênie, pois causou uma queda no número de descendentes e um aumento na quantidade de indivíduos anômalos nas progênies;
10. Há uma preferência das fêmeas em copular com machos provenientes do mesmo fruto hospedeiro, indicando que a composição química do fruto pode influenciar o reconhecimento dos parceiros reprodutivos;
11. O fruto hospedeiro pode agir como um fator promotor de diferenciação populacional em *A. sp.1*.

## VII. Referências Bibliográficas

---

- Abraham, S.; Rull, J.; Mendoza, M.; Liendo, M.C.; Devescovi, F.; Roriz, A.k.; Kovaleski, A.; Segura, D.F.;2, Vera, M.T. 2014. Differences in sperm storage and remating propensity between adult females of two morphotypes of the *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) cryptic species complex. *Bulletin of Entomological Research*, 104: 376–382.
- Aluja, M.; Prokopy, R.J. 1992. Host search behaviour by *Rhagoletis pomonella* flies: inter-tree movement patterns in response to wind-borne fruit volatiles under field conditions. *Physiological Entomology*, 17:1-8.
- Aluja, M.; Norrbom, A.L. 2000. Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior. CRC Press, Boca Ratón, 994 p.
- Aluja, M.; Piñero, J.; Jácome, I.; Díaz-Fleischer, F.; Sivinski, J. 1999. Behavior of flies in the genus *Anastrepha* (Trypetinae: Toxotripanini). In: Aluja, M.; Norrbom, A.L. (Ed.). Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior. Boca Ratón: CRC Press, p. 375-406.
- Anciães, M.; Marini, M.A. 2000. The effects of fragmentation on fluctuating asymmetry in passerine birds of Brazilian tropical forest. *Journal of Applied Ecology*. 37:1013-1028.
- Arzuffi, R.; Robledo, N.; Jorge, V. 2008. Antennal sensilla of *Toxotrypana curvicauda* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomology*, 91: 669–673.
- Awad, A.A.; Mohamed, H.O.; Ali, N.A. 2015. Differences in antennal sensillae of male and female peach fruit flies in relation to hosts. *Journal of Insect Science*, 15: 1-10.
- Baker, A.C.; Stone, W.E.; Plummer, C.C.; MacPhail, H., 1944. A review of studies on the mexican fruit fly and related mexican species. United States Department of Agriculture. *Miscellaneous Publication*, v. 531, p. 1-155.
- Baldwin, I.T. 2001. An ecologically motivated analysis of plant-herbivore interactions in native tobacco. *Plant Physiology*, 127:1449-1458.



- Barr, N.B.; Cui, L.; McPherson, B.A. 2005. Molecular systematics of nuclear gene period in genus *Anastrepha* (Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 98: 173–180.
- Barron, A.B. 2009. Learned host preferences. In: Whitman, D.W.; Ananthakrishna, T.N. (Ed.). *Phenotypic plasticity in insect: Mechanisms and consequences*. Enfield: Science Publishers, p.767-779.
- Basso, A.; Sonvico, A.; Quesada-Allue, L.A.; Manso, F. 2003. Karyotypic and molecular identification of laboratory stocks of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Wied) (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 96(4):1237-1244.
- Benelli, G.; Daane, K.M.; Canale, A.; Niu, C.Y.; Messing, R.H.; Vargas, R.I. 2014a. Sexual communication and related behaviors in Tephritidae: current knowledge and potential applications for Integrated Pest Management. *Journal of Pest Science*, 87:385–405.
- Benelli, G.; Giunti, G.; Canale, A.; Messing, R.H. 2014b. Lek dynamics and cues evoking mating behavior in tephritid flies infesting soft fruits: implications for behavior-based control tools. *Applied Entomology and Zoology*, 49:363–373.
- Berlacher, S.H. 2000. Radiation and divergence in the *Rhagoletis pomonella* species group: inferences from allozymes. *Evolution*, 54(2): 543-57.
- Berlacher, S.H.; Feder, J.L. 2002. Sympatric Speciation in phytophagous insects: moving beyond controversy? *Annual Review of Entomology*, 47: 773-815.
- Bickford, D.; Lohman, D.J.; Sodhi, N.S.; Ng, P.K.; Meier, R.; Winker, K.; Ingram, K.K.; Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 22:148-155.
- Bisotto, R.; Rdaelli, L.R.; Sant'ana, J. 2011. Morphometry and distribution of sensilla on the antennae of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Neotropical Entomology*, 40: 212-216.
- Bjerke, J.M.; Freeman, T.P.; Anderson, A.W. 1979. A new method of preparing insects for scanning electron microscopy. *Stain Technology*, 54: 29-31.

- Blair, C.P.; Schlanger, R.V.; Diamond, S.E.; Abrahamson, W.G. Nutrition as a facilitator of host-race formation: the shift of a stem-boring beetle to a gall host. *Ecological Entomology*, 35: 396-406.
- Bryant, E.H.; Meffert, L.M. 1990. Nonadditive genetic structuring of morphometric variation in relation to a population bottleneck. *Heredity* (1996) 77, 168–176.
- Bush, G.L. 1969. Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus *Rhagoletis* (Diptera, Tephritidae). *Evolution*, 23: 237-251.
- Bush, G.L. 1975. Modes of animal speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 6: 339-364.
- Cáceres, C.; Segura, D.F.; Vera, M.T.; Wornoayporn, V.; Cladera, J.; Teal, P.; Sapountzis, P.; Bourtzis, K.; Zacharopoulou, A.; Robinson, A.S. 2009. Incipient speciation revealed in *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae) by studies on mating compatibility, sex pheromones, hybridization and cytology. *Biological Journal of Linnean Society*, 97: 152-165.
- Cayol, J.P.; Vilardi, J.C.; Rial, E.; Vera, M.T. 1999. New indices and methods to measure the sexual compatibility and mating performance of medfly (Diptera: Tephritidae) laboratory reared strains under field cage conditions. *Journal of Economic Entomology*, 92: 140–145.
- Cha, D.H.; Powell, T.H.Q.; Feder, J.L.; Linn, C.E. 2011. Identification of host fruit volatiles from three mayhaw species (*Crateus Series aestivales*) attractive to mayhaw-origin *Rhagoletis pomonella* flies in the southern United States. *Journal of Chemical Ecology*, 37: 961-973.
- Cha, D.H.; Powell, T.H.Q.; Feder, J.L.; Linn Jr., C.E. 2012. Geographic variation in fruit volatiles emitted by the hawthorn *Crataegus mollis* and its consequences for host race formation in the apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 143: 254–268.
- Chapman, R.F. 1982. Chemoreception: the significance of receptor numbers. *Advances in Insect Physiology*, 16: 247-356.
- Chapman, R.F.; Lee, J.C. 1991. Environmental effects on numbers of peripheral chemoreceptors on the antennae of a grasshopper. *Chemical Senses*, 16 (6): 607-616.

- Coyne, J.A.; Orr, A. 2004. Speciation. Sunderland: Sinauer. 545 pp.
- Dambroski, H.R.; Linn, C.; Berlocher, S.; Forbes, A.A.; Roelofs, W.; Feder, J.L. 2005. The genetic basis for fruit odor discrimination in *Rhagoletis* flies and its significance for sympatric host shifts. *Evolution*; 59:1953–1964.
- De Meyer, M.; Clarke, A.R.; Vera, M.T.; Hendrichs, J. 2015. Resolution of cryptic species complexes of tephritid pests to enhance SIT application and facilitate international trade. *Zookeys (Special Issue)*, 540: 558 pp.
- Devescovi, F.; Abraham, S.; Roriz, A.K.P.; Nolzco, N.; Castañeda, R.; Tadeo, E.; Cáceres, C.; Segura, D.F.; Vera, M.T.; Joachim-Bravo, I.; Canal, N.; Rull, J. 2014. Ongoing speciation within the *Anastrepha fraterculus* cryptic species complex: the case of the Andean morphotype. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 152: 238–247.
- Dias, V.S.; Silva, J.G.; Lima, K.M.; Petitinga, C.S.C.D.; Hernandez-Ortiz, V.; Laumann, R.; Paranhos, B.J.; Uramoto, K.; Zucchi, R.A.; Joachim-Bravo, I.S. 2015. An integrative multidisciplinary approach to understanding cryptic divergence in Brazilian species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 117:725-746.
- Dobzhansky, T. 1929. Genetical and cytological proof of translocations involving the third and fourth chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Biologisches Zentralblatt*, 49: 408--419.
- Dongen, S.V. 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *Journal of Evolutionary Biology*, 19: 1727-1743.
- Feder, J.F.; Bush, G.L. 1989. A field test of differential host-plant usage between two sibling species of *Rhagoletis pomonella* fruit flies (Diptera, Tephritidae) and its consequences for sympatric speciation. *Evolution*, 43: 1813-1819.
- Feder, J.L.; Chilcote, C.A.; Bush, G.L. 1990. The geographic pattern of genetic differentiation between host associated populations of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) in the eastern United States and Canada. *Evolution*, 44: 570–594.

- Feder, J.L.; Filchak, K.E. 1999. It's about time: the evidence for host plant-mediated selection in the apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella*, and its implications for fitness trade-offs in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91: 211–225.
- Felsenstein, J. 1981. Skepticism towards Santa Rosalia or why are there so few kinds of animals? *Evolution*, 57; 379-404.
- Fordyce, J.A. 2010. Host shifts and evolutionary radiations of butterflies. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Science*, 277:3735-3743.
- Futuyma D.J. 2005. *Evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 656 pp.
- Giannakakis, A.; Fletcher, B.S. 1985. Morphology and distribution of antennal sensilla of *Dacus tryoni* (Froggatt) (Diptera, Tephritidae). *Journal of Australian Entomological Society*, 24: 31-35.
- Gomes-Cendra, P.V.; Paulin, L.E.; Oroño, L. Ovruski, S.M.; Vilardi, J.C. 2016. Morphometric differentiation among *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) exploiting sympatric alternate hosts. *Environmental Entomology*, 1-10.
- Gotthard, K.; Nylin, S. 1995. Adaptive plasticity and plasticity as an adaptation – a selective review of plasticity in animal morphology and life-history, *Oikos*. 74: 3-17.
- Graham, A.; Papalopulu, N.; Krumlauf, R. 1998. The murine and *Drosophila* homeobox gene complexes have common features of organization and expression. *Cell*, 56:367-378.
- Graham, J.H.; Hel-Or, S.R.H.; Nevo, E. 2010. Fluctuating Asymmetry: methods, theory and applications. *Symmetry*, 2: 466-540.
- Hendrichs, J.; Franz, G.; Rendon, P. 1995. Increased effectiveness and applicability of the sterile insect technique through male-only releases for control of Mediterranean fruit-flies during fruiting seasons. *Journal of Applied Entomology*, 119: 371–377.
- Henniges-Janssen, K.; Reineke, A.; Heckel, D.G.; Groot, A.T. 2011. Complex inheritance of larval adaptation in *Plutella xylostella* to a novel host plant. *Heredity*, 107:421–432.

- Hernandez-Ortiz, V.; Gomez-Anaya, J.A.; Sanchez, A. G.; McPheron, A.; Aluja, M. 2004. Morphometric analysis of Mexican and South American populations of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae) and recognition of a distinct Mexican morphotype. *Bulletin of Entomological Research*, 94: 487-499.
- Hernandez-Ortiz, V.; Bartolucci, A.F.; Morales-Valles, P.; Frías, D.; Selivon, D. 2012. Cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera, Tephritidae): a multivariate approach for the recognition of South American morphotypes. *Annals of Entomological Society of America*, 105: 305-318.
- Hernández-Ortiz, V.; Canal, N.A.; Tigrero, J.O.; Ruíz-Hurtado, F.M.; Dzul-Cauich, J.F. 2015. Taxonomy and phenotypic relationships of the *Anastrepha fraterculus* complex in the Mesoamerican and Pacific Neotropical dominions (Diptera, Tephritidae). In: De Meyer, M.; Clarke, A.R.; Vera, M.T.; Hendrichs, J. (Ed.). *Resolution of Cryptic Species Complexes of Tephritid Pests to Enhance SIT Application and Facilitate International Trade*. *ZooKeys*, 540: 95–124.
- Hunt, M.K.; Crean, C.S.; Wood, R. J.; Gilburn, A.S. 1998. Fluctuating asymmetry and sexual selection the Mediterranean fruitfly (Diptera, Tephritidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 64: 385-396.
- Hunt, M.K.; Roux, E.A.; Wood, R.J.; Gilburn, A.S. 2002. The effect of Supra-fronto-orbital (SFO) bristle removal on male mating success in the mediterranean fruit fly (Diptera : Tephritidae). *Florida Entomologist*, 85:83-8.
- Hunt, M.K.; Nicholls, C.J.; Wood, R.J.; Rendon, A.P.; Gilburn, A.S. 2004. Sexual selection for symmetrical male medflies (Diptera: Tephritidae) confirmed in the field. *Biological Journal of the Linnean society*, 81:347-355.
- Imasheva, A.G.; Loeschcke, V.; Zhivotovsky, L.A.; Lazebny, O.E. 1997. Stress temperatures and quantitative variation in *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, 81: 246–253.
- Jaenike, J. 1990. Host specialization in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 21:243-273.
- Ji Y.J.; Zhang, D.X.; He, L.J. 2002. Evolutionary conservation and versatility of a new set of primers for amplifying the ribosomal internal transcribed spacer regions in insects and other invertebrates. *Molecular Ecology Notes*, 3: 581–585.

- Jorge, L.R.; Cordeiro-Estrela, P.; Klaczko, L.B.; Moreira, G.R.P.; Freitas, A.V.L. 2011. Host-plant dependent wing phenotypic variation in the neotropical butterfly *Heliconius erato*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 102: 765–774.
- Kanegae, A.P.; Lomônaco, C. 2002. Plasticidade morfológica, reprodutiva e assimetria flutuante de *Myzuz persicae* (Sulzter) (Hemiptera, Aphidae) sob diferentes temperaturas. *Neotropical Entomology*, 32:37-43.
- Kliebenstein, D.J.; Kroymann, J.; Brown, P.; Figuth, A.; Pedersen, D.; Gershenzon, J.; Mitchell-Olds, T. 2001. Genetic control of natural variation in *Arabidopsis glucosinolate* accumulation. *Plant Physiology*, 126:811-825.
- Klingenberg, C. P.; McIntyre, G. S. 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: Analyzing patterns of fluctuating asymmetry with procrustes methods. *Evolution*, 52: 1363-1375.
- Klingenberg, C.P.; Monteiro, L.R. 2005. Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. *Systematic Biology*, 54:678–688.
- Kovaleski, A.; Sugayama, R.L.; Malavasi, A. 2000. Controle químico em macieiras. In: In: Malavasi, A. e Zucchi, R.A. (Ed.). *Moscas das frutas de interesse econômico no Brasil: conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos, p. 135-141.
- Kovaleski, A.; Sugayama, R.L.; Uramoto, K.; Malavasi, A. 2000. Rio Grande do Sul. In: In: Malavasi, A. e Zucchi, R.A. (Ed.). *Moscas das frutas de interesse econômico no Brasil: conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos, p. 285-290.
- Leary, F.R.; Allendorf, F.W. 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: Implications for conservation biology. *Trends of Ecology Evolution*, 4:214-217.
- Lecuit, T.; Goff, L. 2007. Orchestrating size and shape during morphogenesis. *Nature*, 450:189-192.
- Lens, L.; Van Dongen, S.; Kark, S.; Matthysen, E. 2002. Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? *Biological Reviews*, 77: 27-38.
- Linn, C.E.; Feder, J.L.; Nojima, S. 2003. Fruit odor discrimination and sympatric host race formation in *Rhagoletis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 17753-17758.

- Malavasi, A. 2001. Mosca-da-carambola, *Bactrocera carambolae* (Diptera, Tephritidae). In: Vilela, E.F.; Zucchi, R.A.; Cantor, F. (Ed.). Histórico e impacto das pragas introduzidas. Ribeirão Preto: Holos, p. 39-41.
- Malavasi, A.; Morgante, J.S. 1983. Population genetics of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) in different hosts: Genetic differentiation and heterozygosity. *Genetica*, 60: 2017-2021.
- Malavasi, A.; Zucchi, R.A.; Sugayama, R.L. 2000. Biogeografia. In: Malavasi, A. e Zucchi, R.A. (Ed.). Moscas das frutas de interesse econômico no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, p. 93-98.
- Markow, T. A. 1995. Evolutionary ecology and developmental instability. *Annual Review of Entomology*, 40: 105-120.
- Mayr, E. 1963. Animal species and evolution. Cambridge (MA): Harvard University Press. 797 pp.
- McPherson, B.A.; Han, H.Y.; Silva, J.G.; Norrbom, A.L. 1999. Phylogeny of genus *Anastrepha* and *Toxotrypana* (Trypetina: Toxotrypanini) based upon 16S rDNA mitochondrial sequences. In: "Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior", Ajuja, M.; Norrbom, A.L. (eds.), CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 343-361.
- Mendes, L.O.T. 1958. Observações citológicas em "moscas-das-frutas". *Bragantia*. 17: 29-39.
- Meza-Hernández, J.S.; Díaz-Fleischer, F. 2006. Comparison of sexual compatibility between laboratory and wild Mexican fruit flies under laboratory and field conditions. *Journal of Economic Entomology*, 99: 1979–1986.
- Michel, A.P.; Sim, S.; Powell, T.H.Q. 2010. Widespread genomic divergence during sympatric speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107: 9724-9729.
- Milton, C.C.; Huynh, B.; Battergam, P.; Rutherford, S.L.; Hoffmann, A.A. (2003). Quantitative trait symmetry independent of Hsp90 buffering: Distinct modes of genetic canalization and developmental stability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(23): 13396--13401.

- Moller, A.P.; Thornhill, R. 1998. Bilateral symmetry and sexual selection: a meta-analysis. *The American Naturalist*, 151: 174-192.
- Morgante, J. S.; Malavasi, A.; Bush, G. L. 1980. Biochemical systematics and evolutionary relationships of neotropical *Anastrepha*. *Annals of Entomological Society of America*, 73: 622-30.
- Morris, D.H.; Dubnau, J.; Park, J.H.; Rawls, J.M. 2012. Divergent functions through alternative splicing: The *Drosophila* CRMP gene in pyrimidine metabolism, brain, and behavior. *Genetics* 191(4): 1227--1238.
- Mozaffarian, F.; Sarafrazi, A.; Ganbalani, G.N. 2007. Host plant-associated population variation in the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Iran: a geometric morphometric analysis suggests a nutritional basis. *Journal of Insect Science*, 7: 02.
- Nijhout, H.F. 2003. The development and evolution of adaptive polyphenisms. *Evolution & Development*, 5:9-18.
- Nylin, S.; Janz, N. 2009. Butterfly host plant range: an example of plasticity as a promoter of speciation? *Evolutionary Ecology*, 23: 137-146.
- Norrbom, A.L. 2004. Host plant database for *Anastrepha* and *Toxotrypana* (Diptera: Tephritidae: Toxotrypanini). The Diptera data dissemination disk, vol. 2 (CD-Rom).
- Ochieng, S.A.; Park, K.C.; Zhu, J.W.; Baker, T.C. 2000. Functional morphology of antennal chemoreceptors of the parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), *Arthropod Structure and Development*, 29:231-240.
- Oroño, L.; Paulin, L.; Alberti, A.C.; Hila, I. M.; Ovruski, S.; Vilardi, J.C.; Rull, J.; Aluja, M. 2013. Effect of host plant chemistry on genetic differentiation and reduction of gene flow among *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) populations exploiting sympatric, synchronic hosts. *Environmental Entomology*, 42: 790-798.
- Palmer, A. R. 1996. From symmetry to asymmetry: Phylogenetic patterns of asymmetry variation in animals and their evolutionary significance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93:14279-14286.



- Palmer, A. R.; Strobeck, C. 1986. Fluctuating asymmetry - measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17: 391-421.
- Perre, P. 2012. Caracterização de três espécies do grupo *fraterculus* (Diptera, Tephritidae, *Anastrepha*) por meio da análise de imagens e morfometria. Dissertação de Mestrado. Depto. Entomologia e Acarologia, Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Pfennig, D.W.; Wund, M.A.; Snell-Rood, E.C.; Cruickshank, T.; Schlichting, C.D.; Moczek, A.P. 2010. Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, 25: 459-467.
- Pigliucci, M. 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now. *Trends in Ecology & Evolution*, 20: 481-486.
- Pigliucci, M.; Murren, M.; Schlichting, C.D. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, 209: 2362-2367.
- Pires, A.O.; Selivon, D.; Perondini, A.L.P. 2004. Variation in symmetrical patterns of development in *Anastrepha grandis* and *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). pp 259-263. Proc. 6<sup>th</sup> International Fruit Flies Symposium, 6-10 May, Stellenbosh, South Africa, B. Barnes (ed.), Isteg Scientific Publications, Irene, Africa do Sul.
- Pires, A.O. 2005. Variações no padrão de simetria de cerdas em diferentes condições de desenvolvimento em *Anastrepha* (Diptera, Tephritidae). Tese de Doutorado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Powell, T.H.Q.; Cha, D.H.; Linn, C.E.; Feder, J.L. 2012. On the scent of standing variation for speciation: behavioral evidence for native sympatric host-races of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritida) in the southern United States. *Evolution*: 66, 2739-2756.
- Powell, T.H.Q.; Forbes, A.A.; Hood, G.H.; Feder, J.L. 2014. Ecological and reproductive isolation in sympatry: genetic and phenotypic evidence for native host races of *Rhagoletis pomonella*. *Molecular Ecology*, 23: 688-704.
- Prezotto, L.F. 2008. Análise do ITS1 do DNA ribossômico em espécies do complexo *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae). Dissertação Mestrado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

- Prokopy, R.J.; Averil, A.L.; Cooley, S.S.; Roitberg, C.A. 1982. Associative learning in egg laying site selection by apple maggot flies. *Science*, 218: 76–77.
- Prokopy, R.J.; Papaj, d.R.; Cooley, S.S.; Kallet, C. 1986. On the nature of learning in oviposition site acceptance by apple maggot flies. *Animal Behaviour*, 34: 98–107.
- R development Core Team. 2008. R: a language and environment for statistical computing. pp. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Ragland, G.J.; Sim, S.B.; Goudarzi, S.; Feder, J.L.; Hahn, D.A. 2012. Environmental interations during host race formation: host fruit environment moderates a seasonal shift in phenology in host races of *Rhagoletis pomonella*. *Funtional Ecology*, 26:921-931.
- Rausher, M.D. 1993. The evolution of habitat preference: avoidance and adaptation. In: Kim, K.C.; B.A.McPheron (Ed.) *Evolution of Insect Pests: Patterns of Variation*. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc. p.453-468.
- Rocha, F.; Medeiros, H.F.; Klaczko, L.B. 2009. The reaction norm for abdominal pigmentation and its curve in *Drosophila mediopunctata* depend on the mean phenotypic value. *Evolution*, 63: 280-287.
- Rogers, S.M.; Simpson, S.J. 1997 Experience-dependent changes in the number of chemosensory sensilla on the mouthparts and antennae of *Locusta migratoria*. *Journal of Experimental Biology*, 200: 2313–2321.
- Rohlf, F.J. 2004. Program TpsDig, version 1,40: stony book. New York: New York State University, Departament of Ecology and Evolution.
- Rohlf, F.J. 2006. Program TpsUtil, version 1.38: stony book. New York: New York State University, Departament of Ecology and Evolution.
- Rueffler, C.; Van Dooren, T.J.M.; Leimar, O.; Abrams, P.A. 2006. Disruptive selection and then what? *Trends in Ecology & Evolution*, 21:238–245.
- Rull, J.; Aluja, M.; Feder, J.L. 2010. Evolution of intrinsic reproductive isolation among four North American populations of *R. pomonella*. *Biological Journal of the Linnean Society* 100: 213–233.
- Rull, J.; Abraham, S.; Kovaleski, A.; Segura, D.F.; Islam, A.; Wornoayporn, V.A.; Dammalage, T.; Santo Tomas, U.; Vera, M.T. 2012. Random mating and

- reproductive compatibility among Argentinean and southern Brazilian populations of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Entomological Research*, 102: 435–443.
- Rull, J.; Abraham, S.; Kovaleski, A.; Segura, D.F.; Mendoza, M.; Liendo, M.C.; Vera, M.T. 2013. Evolution of pre-zygotic and post-zygotic barriers to gene flow among three cryptic species within the *Anastrepha fraterculus* complex. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 148: 213–222.
- Rundle, H.D.; Chenoweth, S.F.; Doughty, P.; Blows, M.W. 2005. Divergent selection and the evolution of signal traits and mating preferences. *PLoS Biology*, 3(11): e368.
- Sarre, S. 1996. Habitat fragmentation promotes fluctuating asymmetry but not morphological divergence in two geckos. *Researches on Population Ecology*, 38:57-64.
- Sarre, S.; Dearn, J.D. 1991. Morphological variation and fluctuating asymmetry among insular populations of the sleepy lizard, *Trachydosaurus rugosus* Gray (Squamata: Scincidae). *Australian Journal of Zoology*, 39: 91–104.
- Sciulli, P.W.; Doyle, W.J.; Kelley, C.; Siegel, P.; Siegel, M.I. 1979. The interaction of stressors in the induction of increased levels of fluctuating asymmetry in the laboratory rat. *American Journal of Physical Anthropology*, 50:279-284.
- Schönrogge, K.; Barr, B.; Wardlaw, J.C.; Napper, E.; Gardner, M.G.; Breen, J.; Elmes, G.W.; Thomas, J.A. 2002: When rare species become endangered: cryptic speciation in myrmecophilous hoverflies. *Biological Journal of the Linnean Society*, 75: 291–300.
- Schoonhoven, L.M. 2005. Insect-Plant Relationships: the whole is more than the sum of its parts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115: 5-6.
- Schutze, M.K.; Dammalage, T.; Jessup, A.; Vreysen, M.J.B.; Wornoayporn, V.; Clarke, A.R. 2015. Effects of laboratory colonization on *Bactrocera dorsalis* (Diptera, Tephritidae) mating behaviour: ‘what a difference a year makes’. *ZooKeys*, 540:369-383.
- Selivon, D. 2000. Biologia e padrões de especiação. In: Malavasi, A.; Zucchi, R.A. (Ed.). *Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos Editora, p. 25-28.

- Selivon, D. 1996. Estudo sobre a diferenciação populacional em *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae). Tese de Doutorado, Depto. de Biologia, Instituto de Biociência, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Selivon, D.; Morgante, J.S. 1997. Reproductive isolation between *Anastrepha bistrigata* and *A. striata* (Diptera: Tephritidae). *Brazilian Journal of Genetics*, 20:583-585.
- Selivon, D.; Perondini, A.L.P., 1998. Eggshell morphology in two cryptic species of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Annals of Entomological Society of America*, 91: 473-478.
- Selivon, D.; Perondini, A.L.P.; Morgante, J.S. 1999. Haldane's rule and other aspects of reproductive isolation observed in the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera, Tephritidae). *Genetics and Molecular Biology*, 22: 507–510.
- Selivon, D.; Vretos, C.; Fontes, L.; Perondini, A.L.P., 2004. New variant forms in the *Anastrepha fraterculus* complex, pp 253-258. Proc. 6<sup>th</sup> International Fruit Flies Symposium, 6-10 May, Stellenbosh, South Africa, B. Barnes (ed.), Isteg Scientific Publications, Irene, Africa do Sul.
- Selivon, D.; Perondini, A.L.P.; Morgante, J.S., 2005a. A genetic-morphological characterization of two cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera, Tephritidae). *Annals of Entomological Society of America*, 98: 367-381.
- Selivon, D.; Perondini, A.L.P.; Rocha, L.S. 2005b. The mitotic chromosomes of eight species of *Anastrepha* (Diptera, Tephritidae). *Neotropical Entomology*, 34: 121-127.
- Sivinski, J.S.; Burk, T. 1989. Reproductive and mating behavior. In: Robinson, A.S.; Hooper, G. (Ed.). *World crops pests, Vol.3: Fruit flies: Their biology, natural enemies and control*. New York: Elsevier Science, p. 343-350.
- Smadja, C.; Butlin, R.K. 2009. On the scent of speciation: the chemosensory system and its role in premating isolation. *Heredity*, 101: 77–97.
- Smith-Caldas, M.R.B.; McPheron, B.A.; Silva, J.G.; Zucchi, R.A. 2001. Phylogenetic relationships among species of the *fraterculus* group (*Anastrepha*: Diptera:

- Tephritidae) inferred from DNA sequences of mitochondrial cytochrome oxidase 1. *Neotropical Entomology*, 30: 565–573.
- Somarakis, S.; Machias, A.; Kapantagakis, A.; Tsimenides, N. 1997. Application of the Daily Egg Production Method (DEPM) for the estimation of the northern Aegean Sea anchovy stock in June 1995. *Proceedings of the 5th Panhellenic Symposium on Oceanography and Fisheries*, 2 : 43-46.
- Soto, I.M.; Hasson, E.R.; Manfrin, M.H. 2008. Wing morphology is related to host plants in cactophilic *Drosophila gouveai* and *Drosophila antonietae* (Diptera, Drosophilidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 95: 655–665.
- Soto, I.M.; Carreira, V.P.; Corio, C.; Padró, J.; Soto, E.M.; Hasson, E. 2014. Differences in tolerance to host cactus alkaloids in *Drosophila koepferae* and *D. buzzatii*. *PLoS ONE*, 9: e88370.
- Souza, J.M.G.A.; Gouveia, M.; Perondini, A.L.P.; Selivon, D. 2007. Asymmetry of frontal bristles and postocular setae in species and hybrids of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera, tephritidae). *Genetics and Molecular Biology*, 30:145-151.
- Statsoft Inc. 1997. *Electronic Statistics Textbook*. Tulsa, OK: StatSoft. WEB: <http://www.statsoft.com/textbook/stathome.html>.
- Steck, G.J., 1991. Biochemical systematics and population genetic structure of *Anastrepha fraterculus* and related species (Diptera: Tephritidae). *Annals of Entomological Society of America*, 84: 10-28.
- Steck, G.J.; Sheppard, W.S. 1993. Mitochondrial DNA variation in *Anastrepha fraterculus*, pp.9-14. *In: Aluja, M; Liedo, P. (eds.), Fruit Flies: Biology and Management*. Springer-Verlag, New York.
- Stone, A. 1942. *The fruit flies of the genus Anastrepha*. U.S. Department of Agriculture, Miscellaneous Publication, 439: 1-112.
- Sugayama, R.L.; Malavasi, A. 2000. *Ecologia Comportamental*. *In: Malavasi, A.; Zucchi, R.A. (Ed.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos Editora, p. 103-108.

- Symonds, M.R.; Elgar, M.A. 2008. The evolution of pheromone diversity. *Trends in Ecology and Evolution*, 23:220-228.
- Schwarz, D.; Shoemaker, K.D.; Botteri, N.L.; McPheron, B.A. 2007. A novel preference for an invasive plant as a mechanism for animal hybrid speciation. *Evolution*, 61: 245-256.
- Torquato, L.S.; Mattos, D.; Matta, B.P.; Bitner-Mathe, B.C. 2014. Cellular basis of morphological variation and temperature-related plasticity in *Drosophila melanogaster* strains with divergent wing shapes. *Genetica*, 142:495-505.
- Tsubaki, Y. 1997. Fluctuating asymmetry of the oriental fruit fly (*Dacus dorsalis*) during the process of its extinction from the Okinawa Island. *Conservation Biology*, 12:926-929.
- Vera, M.T.; Cáceres, C.; Wornoayporn, V.; Islam, A.; Robinson, A.S.; de la Veja, M.H.; Hendrichs, J.; Cayol, J.P. 2006 . Mating incompatibility among populations of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera, Tephritidae). *Annals of Entomological Society of America*, 99:387-397.
- Vishalakshi, C. 2011. Fluctuating asymmetry in *Drosophila*. *Low Temperature Science*, 69: 51–60.
- Waddington, C. 1952. Selection of the genetic bases for an acquired character. *Nature*, 169: 625-626.
- Whitman, D.W.; Agrawal, A.A. 2009. What is phenotypic plasticity and why is it important. In: Whitman, D.W.; Ananthakrishna, T.N. (Ed.) *Phenotypic plasticity in insects: mechanisms and consequences*. Enfield: Science Publishers, p. 1 – 63.
- Waddington, C. 1956. Genetic assimilation of the bithorax phenotype. *Evolution*, 10: 1-13.
- Waddington, C. 1959. Canalization of development and genetic assimilation of acquired characters. *Nature*, 183: 1654-1655.
- West- Eberhard , M.J. 2003. *Developmental plasticity and evolution*. Oxford University Press, Oxford.
- Xie, X.; Michel, A.P.; Schwarz, D. 2008. Radiation and divergence in the *Rhagoletis pomonella* species complex: inferences from DNA sequence data. *Journal of Evolutionary Biology*, 21: 900-913.

Zucchi, R.A. 2000. Taxonomia. In: Malavasi, A.; Zucchi, R.A. (Ed.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora, p. 13-24.

Zucchi, R.A. 2008. Fruit flies in Brazil: *Anastrepha* species and their host plants and parasitoids. Disponível em: <[www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/](http://www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/)>. Acesso em: 23 out. 2016.

## VIII. Anexo

---

### - Análise do marcador molecular ITS1 do DNA ribossômico

A análise do marcador molecular ITS1 do DNA ribossômico é necessária para a confirmação de que os espécimes estudados se tratam da espécie *A. sp.1*, uma vez que os frutos foram coletados em áreas de ocorrência de *A. sp.2* e *A. sp.3* e esse é o único método seguro de identificação de indivíduos adultos dessas espécies.

- **Extração de DNA:** Foram utilizados os indivíduos de *A. sp1* provenientes dos diferentes frutos (ameixa, café, goiaba, jambo, maçã, mamão, nêspera, pêssego, umê e uvaia) e mantidos em etanol 100% a -20°C. Os indivíduos foram macerados em solução TNES [Tris-HCl 250mM (pH= 7,5), NaCl 2mM, EDTA 100mM, SDS 2,5%], seguida da adição de 5µl de proteinase K a 100 µg/ml e a mistura foi incubada a 65°C por 40 minutos. Após, foi adicionado 20µl de RNAase (Ribonuclease A, Sigma) a uma concentração final 100 µg/ml por 1 hora a 37°C ao material e este foi, então, incubado na estufa a 37°C por 30 minutos. Após a adição de 200 µl de NaCl 5M, o material foi centrifugado a 12.000 g a 4°C por 6 minutos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante transferido para outro tubo contendo 600 µl de isopropanol 100% e as amostras foram novamente centrifugadas a 12.000 g à temperatura ambiente por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e foi adicionado ao precipitado 600 µl de etanol 70%, seguido de centrifugação a 12.000 g à temperatura ambiente por 6



minutos. Após o descarte do sobrenadante, o precipitado foi seco em estufa a 37°C por 20 minutos e, então, ressuspendido em 30 µl de solução TE [Tris-HCl 10mM (pH=8,0), EDTA-NaOH (pH=8,0 1mM)] por 8 horas na geladeira. As amostras foram armazenadas a -20°C. Alíquotas do DNA foram analisadas por eletroforese em géis de agarose a 0,8% em tampão TAE. A eletroforese foi realizada em cubas horizontais contendo solução TAE 1X como tampão de corrida e 3µl do corante GelRed, por 30 minutos sob tensão elétrica de 60 V e corrente de 60 mA constantes, conforme recomendado por Sambrook *et al.* (1989).

- **Amplificação e Sequenciamento do ITS1:** Para amplificação do ITS1 foram empregados os iniciadores desenhados por Prezotto (2008)

18SF TAACTCGCATTGATTAAGTCCC

5.8SR GATATGCGTTCAAATGTCGFATG

que amplificam segmentos finais do gene 18S e iniciais do 5.8S, englobando, assim, o ITS1 completo. Para as reações de PCR, foi utilizada a enzima Taq polimerase (Invitrogen) com a seguinte programação em um termociclador Eppendorf: 2 min a 94°C, 31 ciclos de 30 s de desnaturação a 94°C, 30s de anelamento a 60°C e 2 min de alongação a 68 °C. Adicionalmente, foi feita uma extensão final de 5 min a 72 °C. Alíquotas do DNA amplificado foram analisadas por eletroforese em géis de agarose a 0,8% em tampão TAE (procedimento descrito acima).

Os fragmentos amplificados foram sequenciados após uma prévia purificação, utilizando o kit de purificação de DNA de gel (Eppendorf), segundo protocolo do fabricante. Os sequenciamentos foram realizados utilizando-se o sequenciador

automático ABI Prism Big Dye Terminator Cycles Sequencing Ready Reaction Kit, seguindo as instruções do fabricante. O material foi enviado ao Instituto de Química da USP para sequenciamento

- **Confirmação da espécie:** As sequências obtidas foram analisadas utilizando o programa BioEdit Sequence Alignment Editor versão 7.0.9.0. Em seguida, foram alinhadas utilizando o programa ClustalW (Thompson *et al.*, 1994) e a confirmação da espécie foi obtida por com a comparação com sequências do banco de dados do NCBI realizada pela ferramenta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Todas as sequências analisadas foram identificadas como *A. sp.1*.

A seguir estão os resultados dos alinhamentos obtidos das sequências de ITS1 comparadas com banco de dados do NCBI para cada amostra.

- Amostra: Ameixa

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> <a href="#">Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence</a>	601	601	100%	5e-168	90%	<a href="#">JN223387.1</a>

Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence  
 Sequence ID: [JN223387.1](#) Length: 546 Number of Matches: 1

Range 1: 62 to 546 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
601 bits(325)	5e-168	437/486(90%)	28/486(5%)	Plus/Plus

```

Query 1  TATTTATTTTTTgaat-ccatattctttttattctttttcattcaatttggtatccat 59
Sbjct 62  TATATAATTATTTTGAATCCCATATTCTTTTATTCTTTTTCATTCAATTGTTATCCAT 121
Query 60  -cattttttcatattAAATATAATAGGAGGGTCctttttgaaaggTTTTTcttatttt 118
Sbjct 122  CCCCTTATATCATATTAATATAATATGATGGTACATTTTGTAAATGTTTTTCTTATTTT 181
Query 119  ttctttt-aaaacttttAAACATGAAA-T-AAAAGTTGACTTATTATTCATCAAATATT 175
Sbjct 182  TTCTTTTAAAAACCTTTAAACATGAAAATAAAAAGTTGACTTATTATTCATCACATATA 241
Query 176  TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAAAATAACAAAAG-GGTATATTTTTTtattt 234
Sbjct 242  TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAATAAACAAAAGCGGTATATATTTATTATTA 301
Query 235  ttATACATAAAATGATTA-AAAATAC-AAATAGTG-ATCAT-ATTAATACC-CCCCTGT- 288
Sbjct 302  TTATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCCTGTA 361
Query 289  TTATTG-TGAAC-AAGA-ATTCGC-ACTTAAT--AAATG-TTAG-G-T-AATA-A-TTG- 335
Sbjct 362  TTATTGTTGAACTAAGACATTGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGTTAAATATATTGA 421
Query 336  -ATATATTA-TGAAAGAAAATCAatttatattattattattattatttaatttaCTC 393
Sbjct 422  TATATATTATTGAAAGAAAATCAATTATATATTATTATTATTATTAAATTTTACTC 481
Query 394  TTTCAATTAATATATGCaaaaaaaaaattgacatttggttataaataaaaaaaaaaaaaa 453
Sbjct 482  TTTCAATTAATATATGC-AAAAAAAAATGACATTTGTTATAAATAAAAAATAAATAAAA 540
Query 454  aaataC 459
Sbjct 541  AAATAC 546
  
```

**Related Information**

- Amostra: Café

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence</a>	872	872	100%	0.0	99%	<a href="#">JN223387.1</a>

Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence  
 Sequence ID: [JN223387.1](#) Length: 546 Number of Matches: 1

Range 1: 62 to 546 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
872 bits(472)	0.0	481/485(99%)	2/485(0%)	Plus/Plus

Query 1 TATATAATTATTTGAAT-CCATATTCTTTTATTCTTTTCATTCAATTTGTTATCCAT 59  
 Sbjct 62 TATATAATTATTTGAATCCCATATTCTTTTATTCTTTTCATTCAATTTGTTATCCAT 121

Query 60 -CAATTATATCATATTAATAATAATGATGGTACATTTTGAATGttttttcttatttt 118  
 Sbjct 122 CCCCTTATATCATATTAATAATAATGATGGTACATTTTGAATGTTTTTCTTATTTT 181

Query 119 ttcttttAAAAACCTTTAAACATGAAAATAAAAAGTTGACTTATTATTATCACAATATA 178  
 Sbjct 182 TTCTTTTAAAAACCTTTAAACATGAAAATAAAAAGTTGACTTATTATTATCACAATATA 241

Query 179 TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAACAATAACAAAAGCGGTATATATTATTATTA 238  
 Sbjct 242 TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAACAATAACAAAAGCGGTATATATTATTATTA 301

Query 239 TTATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCACTGTA 298  
 Sbjct 302 TTATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCACTGTA 361

Query 299 TTATTGTTGAACTAAGACATTGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGttaaataatttga 358  
 Sbjct 362 TTATTGTTGAACTAAGACATTGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGTAAATATATTGA 421

Query 359 tatatattattgaaagaaaatcaatttatatattattattattatttttaatttctc 418  
 Sbjct 422 TATATATTATTGAAAGAAAATCAATTTATATATTATTATTATTATTAAATTTACTC 481

Query 419 TTTCAATTAATATATGCAaaaaaaattgacatttgtataaaaaataaaaaataaaaa 478  
 Sbjct 482 TTTCAATTAATATATGCAAAAAAAATGACATTTGTTATAAATAAAAAATAAATAAAAA 541

Query 479 aataC 483  
 Sbjct 542 AATAC 546

**Related Information**

- Amostra: Goiaba

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> <a href="#">Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence</a>	867	867	100%	0.0	99%	<a href="#">JN223387.1</a>

Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence  
 Sequence ID: [JN223387.1](#) Length: 546 Number of Matches: 1

Range 1: 62 to 546 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
867 bits(469)	0.0	480/485(99%)	2/485(0%)	Plus/Plus

```

Query 1  TATATAATTATTTTGAAT-CCATATTCTTTTTATTCTTTTTTCATTCAATTGTTATCCAT 59
Sbjct 62  TATATAATTATTTTGAATCCCATATTCTTTTTATTCTTTTTTCATTCAATTGTTATCCAT 121
Query 60 -CAATTATATCATATTAATAATAATATGATGGTACATTTTGTAAATGttttttcttatttt 118
Sbjct 122 CCCCTTATATCATATTAATAATAATATGATGGTACATTTTGTAAATGTTTTTCTTATTTT 181
Query 119 ttcttttAAAAACCTTTAAACATGAAAATAAAAAGTTGTACTTATTATTCATCACATATA 178
Sbjct 182 TTCTTTTAAAAACCTTTAAACATGAAAATAAAAAGTTGTACTTATTATTCATCACATATA 241
Query 179 TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAACAATAACAAAAGCGGTATATATTTATTATTA 238
Sbjct 242 TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAACAATAACAAAAGCGGTATATATTTATTATTA 301
Query 239 TTATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCCTGTA 298
Sbjct 302 TTATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCCTGTA 361
Query 299 TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGttaaatatattga 358
Sbjct 362 TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGTTAAATATATTTGA 421
Query 359 tatatattattgaaagaaatcaatttatattattattattattattatttaatttaCTC 418
Sbjct 422 TATATATTATTGAAAGAAAATCAATTTATATATTATTATTATTATTATTAAATTTACT 481
Query 419 TTTCAATTAAATATGCaaaaaaaaaattgacatttggtataaataaaaaataaataaaaa 478
Sbjct 482 TTTCAATTAAATATGCAAAAAAAAAATTGACATTTGTTATAAATAAAAAATAAATAAAAA 541
Query 479 aataC 483
Sbjct 542 AATAC 546
  
```

**Related Information**

- Amostra: Jambo

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Anastrepha fraterculus isolate AP121214.09 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA ge</a>	643	643	100%	0.0	91%	<a href="#">KT893864.1</a>

Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence  
 Sequence ID: [JN223387.1](#) Length: 546 Number of Matches: 1

Range 1: 62 to 546 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
634 bits(343)	5e-178	448/495(91%)	22/495(4%)	Plus/Plus

```

Query 1  TATATAtttttttGGAAT-CCATAttttttttttttttttttttCTTTCaatttGTTTTCC- 58
Sbjct 62  TATATAAATATTTTGAATCCCA-TTCTTTTATTCTTTTCATTCAATTGTTATCCA 120

Query 59  CCCAATTATACCATATAAATAAATAGGAggggggCCATTTTGTAAAGTttttttttt 118
Sbjct 121  TCCCCATTATCATATAAATAAATATGA---TGGTACATTTGTAAAG-TTTTTCTT 176

Query 119  ttttttttttAAAAACCTTAAAGCATGAAAAATAAAAGTTGACTTATTATT- 173
Sbjct 177  ATTTTTCTTTAAAAACCTTAAACATGAAAAATAAAAGTTGACTTATTATTATCAC 236

Query 174  ----ATTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAaatacaaaaagtggtatatattat 229
Sbjct 237  ATATATTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAaatacaaaaagtggtatatattat 296

Query 230  tattatataatatacataaaatgattaaaaatacaaaaataatgaatcataataaataCC 289
Sbjct 297  TATTAT----TATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACC 352

Query 290  ACCACTGTATTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAAATGTTAGAGTaaa 349
Sbjct 353  ACCACTGTATTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAAATGTTAGAGTAAA 412

Query 350  tatattgatataatattgaaagaaaatcaatttatattattattgtattattta 409
Sbjct 413  TATATTTGATATATATTATTGAAAGAAAATCAATTTATATATTATTATTATTATTTA 472

Query 410  attttactctttcaattaatatatGcaaaaaaaaaattgacatttgtataaat-aaaaa 468
Sbjct 473  ATTTTACTCTTTCAATTAAATATATGC-AAAAAAAAATTGACATTTGTTATAAATAAAAA 531

Query 469  taataaaaaaaaaataC 483
Sbjct 532  TAAATAAAAAAATAC 546
  
```

**Related Information**



- Amostra: Maça

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> <a href="#">Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence</a>	771	771	100%	0.0	95%	<a href="#">JN223387.1</a>

Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence  
 Sequence ID: [JN223387.1](#) Length: 546 Number of Matches: 1

Range 1: 62 to 546 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
771 bits(417)	0.0	463/485(95%)	3/485(0%)	Plus/Plus

```

Query 1  TATTTATTTTTTgaat-ccatattctttttattctttttcattcattttgttatccat 59
Sbjct 62  TATATAATATTTTGAATCCCATATTCTTTTATTCTTTTCATTCAATTGTTATCCAT 121

Query 60  -catttatttcatattaAATAATAATGAGGGTCCTTTTGTAAAGTTTTTctttttt 118
Sbjct 122  CCCCTTATATCATATAAATAATAATGATGGTACATTTTGAATGTTTTTCTTATTTT 181

Query 119  ttcttttAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAGTTGACTTATTATTATCACAAT 178
Sbjct 182  TTCTTTTAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAGTTGACTTATTATTATCACAATA 241

Query 179  TTTGATTGAATGATAAGTTATTTTGTTCACAATAACAAAAGCGGTATATATTTTATTA 238
Sbjct 242  TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCACAATAACAAAAGCGGTATATATTTATTA 301

Query 239  TTATACATAAAATGATTAGAAAAACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCCCTGTT 298
Sbjct 302  TTATACATAAAATGATTAGAAAAACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCACTGTA 361

Query 299  TTATTGTTGAAC TAAGACATT CGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGTtaaatatattga 358
Sbjct 362  TTATTGTTGAAC TAAGACATT CGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGTAAATATATTGA 421

Query 359  tatatattattgaagaaaatcaatttatatattattattattatttttaatttCTC 418
Sbjct 422  TATATATTATTGAAGAAAAATCAATTATATATTATTATTATTATTAAATTTACTC 481

Query 419  TTCC-ATTAATATATGCaAAAAAAATGacatttgttttaaaaaataaaaaataaaaa 477
Sbjct 482  TTTCAATTAATATATGCAAAAAAAATGACATTTGTTATAAATAAAAAATAAATAAAA 541

Query 478  aatAC 482
Sbjct 542  AATAC 546
  
```

**Related Information**

- Amostra: Nêspira

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence</a>	861	861	100%	0.0	99%	<a href="#">JN223387.1</a>

Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence  
 Sequence ID: [JN223387.1](#) Length: 546 Number of Matches: 1

Range 1: 62 to 546 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
861 bits(466)	0.0	479/485(99%)	2/485(0%)	Plus/Plus

```

Query 1  TATATAATTATTTTGAAT-CCATATTCCTTTTATTCTTTTTCATTCAATTGTTATCCAT 59
Sbjct 62  TATATAATTATTTTGAATCCCATATTCCTTTTATTCTTTTTCATTCAATTGTTATCCAT 121
Query 60  -CAATTATATCATATTAATAATAATATGATGGTACATTTTGTAAATGtttttcttatttt 118
Sbjct 122  CCCCTTATATCATATTAATAATAATATGATGGTACATTTTGTAAATGTTTTCTTATTTT 181
Query 119  ttcttttAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAAGTTGTACTTATTATTCATCACATATA 178
Sbjct 182  TTCTTTTAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAAGTTGTACTTATTATTCATCACATATA 241
Query 179  TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTACAATAACAAAAGCGGTATATATTATTATTA 238
Sbjct 242  TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTACAATAACAAAAGCGGTATATATTATTATTA 301
Query 239  TTATACATAAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCCCTGTA 298
Sbjct 302  TTATACATAAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCACTGTA 361
Query 299  TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGTtaaatatatttga 358
Sbjct 362  TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGTTAAATATATTGA 421
Query 359  tatatattattgaaagaaaaatcaatttatatattattattattattattttaaatttaCTC 418
Sbjct 422  TATATATTATTGAAAGAAAATCAATTTATATATTATTATTATTATTATTAAATTTACTC 481
Query 419  TTTCAATTAATATATGCAaaaaaaaaatgacatttggtataataaaaaaaaaataaaaaa 478
Sbjct 482  TTTCAATTAATATATGCAAAAAAAAAATTGACATTTGTTATAAATAAAAAATAAATAAAAA 541
Query 479  aataC 483
Sbjct 542  AATAC 546
  
```

**Related Information**



- Amostra: Pêssego

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence</a>	863	863	99%	0.0	99%	<a href="#">JN223387.1</a>

Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence  
 Sequence ID: [JN223387.1](#) Length: 546 Number of Matches: 1

Range 1: 62 to 541 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
863 bits(467)	0.0	476/480(99%)	2/480(0%)	Plus/Plus

```

Query 1  TATATAATTATTTTGAAT-CCATATTCCTTTTATTCTTTTTCATTCAATTTGTTATCCAT 59
Sbjct 62  TATATAATTATTTTGAATCCCATATTCCTTTTATTCTTTTTCATTCAATTTGTTATCCAT 121
Query 60  -CAATTATATCATATTAATAATAATATGATGGTACATTTTGTAAATGtttttcttatttt 118
Sbjct 122  CCCCTTATATCATATTAATAATAATATGATGGTACATTTTGTAAATGTTTTCTTATTTT 181
Query 119  ttcttttAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAAGTTGACTTATTATTCATCACATATA 178
Sbjct 182  TTCCTTTAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAAGTTGACTTATTATTCATCACATATA 241
Query 179  TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCACAATAACAAAAGCGGTATATTTATTATTA 238
Sbjct 242  TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCACAATAACAAAAGCGGTATATTTATTATTA 301
Query 239  TTATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCACTGTA 298
Sbjct 302  TTATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCACTGTA 361
Query 299  TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAATGTTTAGAGTtaaatatatttga 358
Sbjct 362  TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAATGTTTAGAGTAAATATATTTGA 421
Query 359  tatatattattgaaagaaaatcaatttatatattattattattattatttaatttaCTC 418
Sbjct 422  TATATATTATTGAAAGAAAATCAATTTATATATTATTATTATTATTATTTAATTTACTC 481
Query 419  TTTCAATTAATATATGCAaaaaaaaaattgacatttgttataataaaaaataaaaaaa 478
Sbjct 482  TTTCAATTAATATATGCAAAAAAAAAATTGACATTTGTTATAAATAAAAAATAAATAAAA 541
  
```

**Related Information**

- Amostra: Umê

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> <a href="#">Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence</a>	872	872	100%	0.0	99%	<a href="#">JN223387.1</a>

Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence  
 Sequence ID: [JN223387.1](#) Length: 546 Number of Matches: 1

Range 1: 62 to 546 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
872 bits(472)	0.0	481/485(99%)	2/485(0%)	Plus/Plus

```

Query 1  TATAAATATTTTGAAT-CCATATTCCTTTTATTCTTTTCATTCAATTGTTATCCAT 59
Sbjct 62  TATAAATATTTTGAATCCCATATTCCTTTTATTCTTTTCATTCAATTGTTATCCAT 121
Query 60  -CAATTATATCATATTAATAATAATGATGGTACATTTTGTAAATGTTTTCTTATTT 118
Sbjct 122  CCCCTTATATCATATTAATAATAATGATGGTACATTTTGTAAATGTTTTCTTATTT 181
Query 119  TTTTTTAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAGTTGTAATTTATTATTCATCACATATA 178
Sbjct 182  TTTCTTTAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAGTTGTAATTTATTATTCATCACATATA 241
Query 179  TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAACAATAACAAAAGCGGTATATATTTATTATTA 238
Sbjct 242  TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCAACAATAACAAAAGCGGTATATATTTATTATTA 301
Query 239  TTATACATAAAATGATTAGAAAAACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCACTGTA 298
Sbjct 302  TTATACATAAAATGATTAGAAAAACAAAATAGTGAATCATAATAAATACCACCACTGTA 361
Query 299  TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGTtaaatatattga 358
Sbjct 362  TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAAATGTTTAGAGTAAATATATTGA 421
Query 359  tatatatttgaagaaaaatcaatttatattattattattattattatttaatttaCTC 418
Sbjct 422  TATATATTATTGAAAGAAAAATCAATTTATATATTATTATTATTATTATTTAAATTTACT 481
Query 419  TTTCAATTAATATATGCAaaaaaaaaattgacatttgtataaataaaaaaaaaataaaaa 478
Sbjct 482  TTTCAATTAATATATGCAAAAAAAAAATTGACATTTGTTATAAATAAAAAATAAATAAAAA 541
Query 479  aataC 483
Sbjct 542  AATAC 546
    
```

**Related Information**

- Amostra: Uvaia

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> <a href="#">Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence</a>	861	861	100%	0.0	99%	<a href="#">JN223387.1</a>

Anastrepha aff. fraterculus 1 LFP-2012 haplotype 1H5 internal transcribed spacer 1, complete sequence  
 Sequence ID: [JN223387.1](#) Length: 546 Number of Matches: 1

Range 1: 62 to 546 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
861 bits(466)	0.0	479/485(99%)	2/485(0%)	Plus/Plus

Query 1 TATATAATTATTTTGAAT-TCATATTCCTTTTATTCTTTTTCATTCAATTTGTTATCCAT 59  
 Sbjct 62 TATATAATTATTTTGAATCCCATATTCCTTTTATTCTTTTTCATTCAATTTGTTATCCAT 121

Query 60 -CAATTATATCATATTAATAATAATGATGGTACATTTTGTAAATGTTTTCTTATTT 118  
 Sbjct 122 CCCCTTATATCATATTAATAATAATGATGGTACATTTTGTAAATGTTTTCTTATTT 181

Query 119 ttcttttAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAGTTGACTTATTATTCATCACATATA 178  
 Sbjct 182 TTCCTTAAAAACCTTTAAACATGAAAAATAAAAGTTGACTTATTATTCATCACATATA 241

Query 179 TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCACAATAACAAAAGCGGTATATTTATTATTA 238  
 Sbjct 242 TTTGATTGAATGATAAGTTAATTTGTTCACAATAACAAAAGCGGTATATTTATTATTA 301

Query 239 TTATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAATACCACCACTGTA 298  
 Sbjct 302 TTATACATAAAATGATTAGAAAATACAAAATAGTGAATCATAATAATACCACCACTGTA 361

Query 299 TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAATGTTAGAGTtaaatatatttga 358  
 Sbjct 362 TTATTGTTGAACTAAGACATTCGCAACTTAATAAAAATGTTAGAGTAAATATATTGA 421

Query 359 tatatattattgaaagaaaatcaatttatatattattattattattatttaatttaCTC 418  
 Sbjct 422 TATATATTATTGAAAGAAAATCAATTTATATATTATTATTATTATTATTAAATTTACTC 481

Query 419 TTTCAATTAATATATGCaAAAAAaattaacatttgtataataAAAAAaataaaaa 478  
 Sbjct 482 TTTCAATTAATATATGCAAAAAAaattGACATTTGTTATAAATAAAAAAATAAATAAAA 541

Query 479 aataC 483  
 Sbjct 542 AATAC 546

**Related Information**

**Referências bibliográficas:**

- Prezotto, L.F. 2008. Análise do ITS1 do DNA ribossômico em espécies do complexo *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae). Dissertação Mestrado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatis, T., 1989. "Molecular cloning: a laboratory manual". 2<sup>nd</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. New York.
- Thompson, J.D.; Higgins, D.G.; Gibson, T.J. 1994. Clustal-W - improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.