Ester Silva Chang

Padrões morfológicos das asas em espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) associadas a diferentes estratégias de utilização de recursos alimentares

Morphological patterns of the wings of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) species associated with different foraging strategies

São Paulo

2020

Ester Silva Chang

Padrões morfológicos das asas em espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) associadas a diferentes estratégias de utilização de recursos alimentares

Morphological patterns of the wings of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) species associated with different foraging strategies

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

Orientador(a): Prof.ª Dr.ª Denise Selivon Scheepmaker

EXEMPLAR CORRIGIDO

São Paulo

2020

Chang, Ester Silva

Padrões morfológicos das asas em espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) associadas a diferentes estratégias de utilização de recursos alimentares.

Número de páginas: 70

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

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

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Lincoln Suesdek Rocha

Prof. Dr. Fernando Ribeiro Gomes

Prof. Dr. Celso Luis Marino

Prof.ª Dr.ª Denise Selivon Scheepmaker
Orientadora

A minha família

“Science, for me, gives a partial explanation
for life. In so far as it goes, it is based on fact,
experience and experiment”

Rosalind Franklin

Agradecimentos

A Prof[a] Dr[a]. Denise Selivon Scheepmaker, por ter me acolhido em seu laboratório desde a época da graduação, pela sua amizade e orientação.

Ao Prof Dr. André Luiz P. Perondini, pela amizade, ensinamentos, orientação e suas histórias fantásticas.

A técnica Georgina Elzi Santos e ao técnico Carlos Eduardo Lopes pela companhia, ensinamentos e pelo auxílio com a criação das moscas-das-frutas.

Aos motoristas Amaral e Valdir, por nos conduzirem em segurança nas viagens de coleta.

Ao Ighor e a Paula, pela ajuda, amizade e seus ensinamentos.

Ao Pietro, por todos esses anos de amizade, incentivo, ensinamentos e discussões relacionadas não só ao projeto, mas também sobre a vida.

Ao Fernando, pela amizade, ensinamentos e conversas sobre super-heróis.

A Rebecca, pela amizade e risadas.

Ao Marcio, pela amizade, conversas e risadas na microscopia com a Shirley.

Ao Cristiano, pela amizade e pelas inúmeras histórias.

A todos os colegas do laboratório por tornarem o ambiente de trabalho um local descontraído e agradável.

A Larissa, Camila e Carol, pela amizade, conversas e risadas.

A secretária Helenice Emiko Higa Hirata, pela amizade, conversas e por toda a sua ajuda.

A Rose e a Elaine, pela amizade e conversas.

Aos meus pais, João e Silvia, por tudo que eles fizeram e fazem por mim, pois sem eles eu nada seria.

Ao meu irmão Mateus, que apesar da distância sempre se faz presente.

Ao meu namorado Marcelo, por todo companheirismo nessa jornada, pela compreensão das minhas ausências, por sempre me incentivar e por ser essa pessoa tão maravilhosa.

Apoio financeiro, bolsa institucional de mestrado – Capes (1672551) e CNPq (133315/2017-7) e financiamento da FAPESP projeto 2016/00782-7.

Índice

I. Introdução **10**
II. Objetivos **16**
III. Materiais e Métodos **17**
III.1 Obtenção dos exemplares de *Anastrepha* **17**
III.2 Preparação das asas **18**
III.3 Morfometria geométrica **19**
IV. Resultados **23**
IV.1 Análise comparativa entre as espécies **23**
IV.2 Análise comparativa entre conjuntos de especialistas e generalistas **26**
IV.3 Análise comparativa na forma da asa entre fêmeas e machos **29**
IV.4 Análise comparativa na forma da asa entre conjuntos de especialistas e generalistas **37**
IV.5 Análise do complexo *fraterculus* **42**
V. Discussão **47**
VI. Conclusões **53**
Resumo **55**
Abstract **56**
VII. Referências Bibliográficas **57**
Apêndices **66**

I. Introdução

A família Tephritidae congrega cerca de 4.500 espécies pertencentes a 493 gêneros, sendo registradas 817 espécies e 71 gêneros na região Neotropical (BROWN *et al*., 2010). A principal característica dessa família é o fato de as fêmeas adultas depositarem seus ovos em tecidos vegetais vivos, onde ocorre o desenvolvimento larval, sendo a polpa e/ou as sementes dos frutos hospedeiros utilizados durante esse processo (BROWN *et al*., 2010). Quando atingem o 3° instar, as larvas saem dos frutos caídos no solo e segue-se o estágio de pupa, normalmente abaixo do solo, de onde emergem os adultos após a metamorfose (CHRISTENSON & FOOTE, 1960; BATEMAN, 1972). Além da perda direta causada pelas larvas, os orifícios formados após a oviposição permitem a entrada de patógenos (ZUCCHI, 1977). Consequentemente, os frutos ficam danificados, levando-os ao apodrecimento precoce (NORA & HICKEL, 2006). Portanto, as espécies que atacam frutos de valor comercial têm importância agrícola, uma vez que causam danos a diversas plantas de interesse econômico (BROWN *et al*., 2010). Prejuízos em torno de 120 milhões de dólares ao ano ocorrem no Brasil pela perda de frutos que sofreram ataques por essas moscas (RIBEIRO, 2015). Por isso, tais insetos são considerados pragas da fruticultura mundial.

As espécies de moscas-das-frutas, consideradas pragas da fruticultura, pertencem aos gêneros *Anastrepha, Bactrocera, Ceratitis, Dacus, Rhagoletis* e *Toxotrypana* (WHITE & ELSON-HARRIS, 1992). O gênero *Anastrepha* Schiner 1868, endêmico da Região Neotropical, possui em torno de 250 espécies, sendo 112 registradas no Brasil (ZUCCHI, 2008). São reconhecidos pelo gênero 22 grupos de espécies,

baseados em caracteres morfológicos (NORRBOM *et al*., 2012), embora, como ponderado por Aluja (1994), idealmente as classificações infragenéricas seriam mais consistentes, se baseadas na combinação de critérios morfológicos, citogenéticos, moleculares, ecológicos e etológicos. Do ponto de vista do interesse econômico no Brasil, sete espécies de *Anastrepha* são consideradas relevantes: *Anastrepha fraterculus* (Wied.), *A. grandis* (Macquart), *A. obliqua* (Macquart), *A. pseudoparallela* (Loew), *A. sororcula* Zucchi, *A. striata* Schiner e *A. zenildae* Zucchi (ZUCCHI, 2000). Dentre essas, destaca-se *A. fraterculus (sensu lato)*, também conhecida como mosca-das-frutas Sulamericana, distribuída desde o sul dos Estados Unidos da América até o norte da Argentina e do Chile (NORRBOM & FOOTE, 1989). Todavia, na realidade, essa espécie nominal congrega um complexo de espécies crípticas, pois trabalhos anteriores alegaram que *A. fraterculus* possui diferenças cromossômicas, morfológicas, genéticas e comportamentais, ao longo de sua vasta distribuição geográfica (STONE, 1942; BAKER, 1944; MENDES, 1958; BUSH, 1962; MORGANTE *et al*., 1980; SOLFERINI & MORGANTE, 1987; STECK, 1991; STECK & SHEPPARD, 1993). Entretanto, como esses estudos haviam sido efetuados isoladamente, não foi possível reconhecer ou caracterizar diferentes espécies. Então, Selivon (1996) sugeriu realizar análises de diferentes metodologias de forma integrada e só assim foi possível verificar a ocorrência de pelo menos três espécies no Brasil, a *A.* sp.1 affinis *fraterculus* (*A.* sp.1), a *A.* sp.2 affinis *fraterculus* (*A.* sp.2) e a *A.* sp.3 affinis *fraterculus* (*A.* sp.3). Também foi proposta a existência de *A.* sp.4 affinis *fraterculus* (*A.* sp.4) a partir de uma amostra de Guayaquil, Equador (SELIVON, 1996; SELIVON & PERONDINI, 1998; SELIVON *et al*., 1999, 2004, 2005). Posteriormente, essa abordagem foi adotada pelo Projeto da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) e

constatou-se que *A. fraterculus* abriga oito morfotipos (HERNANDEZ-ORTIZ *et al.*, 2015; HENDRICHS *et al*. 2015; PREZOTTO *et al.*, 2019).

A lista de plantas que as espécies registradas no Brasil de *Anastrepha* utilizam como substrato de desenvolvimento larval é extensa (ZUCCHI, 2008). Entretanto, para cerca de 56% das espécies, seus hospedeiros são desconhecidos, uma vez que o levantamento de ocorrência de espécies é feito usualmente a partir de amostras coletadas em frascos caça-moscas, o que não permite associá-las com segurança aos respectivos hospedeiros (ZUCCHI, 2007). A simples listagem de registros de plantas hospedeiras pode ocultar informações relevantes, tal como o fato de que alguns hospedeiros são preferidos a outros (WHITE & ELSON-HARRIS, 1992). É notável, também, que a especificidade na exploração de certos recursos alimentares, que possuem compostos secundários tóxicos, como espécies de *Manihot* e *Passiflora*, exija que o inseto explorador possua um arsenal enzimático capaz de lidar com a toxicidade desses compostos, como é, por exemplo, o caso de *A. pickeli*, *A. montei*, *A. dissimilis*, *A. pseudoparalella* e *A. amita* (MORGANTE *et al*., 1993). Por outro lado, existem espécies capazes de utilizar uma ampla gama de hospedeiros, ainda que possam exibir preferência por frutos de uma determinada família. Esse é o caso de *A. fraterculus* e *A. obliqua*, ambas com uma extensa lista de hospedeiros, mas atacando preferencialmente frutos da família Myrtaceae e Anacardiaceae, respectivamente. Essas duas espécies, segundo Zucchi (2007) são as mais polífagas do gênero. Categorias intermediárias também são reconhecidas entre os extremos da monofagia e polifagia. Espécies monófagas também recebem a denominação de especialistas e as espécies polífagas de generalistas (HSIAO, 1985; ZUCOLOTO, 2000) e essa será a definição utilizada no presente estudo.

De acordo com características ecológicas e fisiológicas, reconhecem-se dois grandes grupos entre os tefritídeos: espécies univoltinas, que apresentam diapausa de inverno e ocorrem em regiões de clima temperado e as multivoltinas, que produzem várias gerações anuais e ocorrem em regiões tropicais (BATEMAN, 1972). Fletcher (1989) postulou que as espécies generalistas (multivoltinas) estariam relacionadas a longos períodos de reprodução, alta taxa de dispersão e pequena competitividade entre as larvas, enquanto as especialistas (univoltinas) seriam o oposto. Esses dois grupos também estão relacionados a diferentes comportamentos sexuais. As espécies generalistas normalmente estão associadas ao sistema de sinalização sexual mais elaborado. Os machos agrupam-se em arenas ("lek") nas folhas das plantas hospedeiras ou não hospedeiras e iniciam um ritual sofisticado para atrair as fêmeas, as quais poderão escolher seus parceiros. Durante esse ritual, há emissões de sinais químicos (feromônio), acústicos e visuais, tais como, dança e movimentação das asas. A vibração das asas, também emitem sons espécies-específicos e auxiliam a dispersão dos feromônios. Já as espécies especialistas estariam relacionadas ao sistema de sinalização sexual mais simples. Os machos e as fêmeas se encontram nos frutos hospedeiros para acasalar, local onde o macho estabelece territórios disponíveis para oviposição e quando as fêmeas o adentram, ele salta sobre elas "forçando" a cópula (SIVINSKI & BURK, 1989; MALAVASI *et al*., 2000).

Em dada área geográfica, com diversas espécies de plantas hospedeiras, a fêmea de um inseto fitófago generalista tem a possibilidade de explorar diversos recursos alimentares, enquanto que uma especialista buscará apenas um tipo de recurso. Essas diferentes estratégias podem ter implicações em diferentes demandas de deslocamento dos insetos, na busca de recursos disponíveis, assim como

estariam também relacionadas a diferenças fisiológicas, comportamentais e genéticas envolvidas em processos adaptativos.

As diferentes respostas adaptativas estão envolvidas no pressuposto de que espécies especialistas evoluem a partir de espécies generalistas, as quais teriam maiores níveis de variabilidade, sendo que as inúmeras adaptações necessárias à especialização de um dado recurso alimentar tornariam pouco prováveis reversões ao hábito generalista, embora isso possa acontecer em algumas linhagens evolutivas (KIM, 1993; FUTUYMA & MORENO, 1988). A veracidade desse padrão para um determinado grupo de insetos fitófagos pode ser prospectada pelo conhecimento das relações evolutivas entre as espécies (MITTER & FUTUYMA, 1983; KIM, 1993). Outras proposições sugerem que a estratégia generalista, na exploração de recursos, poderia ser uma etapa predecessora de uma fase de diversificação de espécies especialistas (JANZ & NILIN, 2008), embora essa ideia esteja sendo reavaliada (HARDY, 2017).

As variações presentes nos organismos, incluindo as moscas-das-frutas, se manifestam em diversas características biológicas. Como as plantas hospedeiras são a única fonte de alimento, espera-se que estas exerçam grande influência nas características desses insetos, desde diferenças sutis na morfologia até variações fisiológicas e comportamentais (GOTTHARD & NYLIN, 1995). Nos estudos morfológicos em espécies de *Anastrepha*, o emprego da morfometria multivariada, vem sendo amplamente utilizado (ARAÚJO *et al*., 1998; HERNANDEZ-ORTIZ *et al*., 2004, 2012, 2015; SELIVON *et al*., 2005; NASCIMENTO, 2005; PREZOTTO *et al*., 2019). Na abordagem multivariada linear, ao contrário da univariada ou bivariada, um conjunto de diversas medidas de uma ou mais estruturas são analisadas. Cada medida variando individualmente em um grupo é considerada como um

conjunto simples de variáveis que descreve a forma de uma amostra de indivíduos, tornando possível contrastar padrões de variação que são definidos pelas relações totais entre as medidas (PIMENTEL, 1979). Já a morfometria geométrica concentra suas análises nas coordenadas de marcos anatômicos presentes na estrutura avaliada (BOOKSTEIN, 1997), obtidas quando os mesmos são localizados em um sistema de eixos cartesianos, capturando a geometria dos objetos biológicos analisados. Ao conjunto de coordenadas, uma série de formalismos são aplicados, tornando a variabilidade dos grupos comparáveis (MONTEIRO & REIS, 1999). Assim, além de descrever variações, esse método permite que diferenças na forma entre estruturas biológicas possam ser visualizadas por intermédio das deformações em grades cartesianas, de maneira similar ao método proposto por Thompson (1917).

Nesse estudo utiliza-se essa abordagem para prospectar a ocorrência de variações morfológicas nas asas de espécies generalistas e especialistas de moscas-das-frutas e reconhecer eventuais padrões morfológicos convergentes entre grupos de espécies com diferentes estratégias de exploração de recursos alimentares. A hipótese é que exista um padrão convergente na forma das asas entre espécies especialistas de grupos taxonômicos não relacionados, que difere do padrão encontrado nas generalistas, uma vez que as diferentes estratégias alimentares implicariam em demandas diferentes de voo.

II. Objetivos

Objetivo geral:

Investigar os padrões morfológicos das asas entre espécies de *Anastrepha*, com diferentes estratégias de utilização de recursos alimentares, por meio de análises comparativas entre um conjunto de amostras de populações de espécies generalistas (*A. obliqua*, *A. serpentina*, *A. sorocula*, *A. striata* e *A. zenildae)* e outro de espécies especialistas (*A. amita*, *A. bistrigata*, *A. grandis*, *A. leptozona*, *A. montei*, e *A. pseudoparallela*). Além disso, testar em qual conjunto de amostras seriam alocadas as espécies pertencentes ao complexo *A. fraterculus*, *A.* sp.1 affinis *fraterculus* (*A.* sp.1), *A.* sp.2 affinis *fraterculus* (*A.* sp.2), *A.* sp.3 affinis *fraterculus* (*A.* sp.3) e *A.* sp.4 affinis *fraterculus* (*A.* sp.4), cujas listas de hospedeiros são ainda incipientes.

Objetivos específicos:

1) Descrever os níveis de variância da forma das asas das diferentes espécies por meio de morfometria geométrica;
2) Verificar se existe um padrão morfológico alar convergente relacionado:
   (2.1) hábito alimentar,
   (2.2) sexo dos indivíduos,
   (2.3) entre esses 2 fatores combinados;
3) Avaliar em qual conjunto de espécies, de acordo com a estratégia de utilização de recurso alimentar, as espécies do complexo estariam inseridas.

III. Materiais e Métodos

III.1 Obtenção dos exemplares de *Anastrepha*

Com a finalidade de realizar comparações morfométricas foram utilizadas cinco espécies generalistas (*A. obliqua* (obl), *A. serpentina* (ser), *A. sorocula* (sor), *A. striata* (str) e *A. zenildae* (zen)) e seis especialistas (*A. amita* (ami), *A. bistrigata* (bis), *A. grandis* (gra), *A. leptozona* (lep), *A. montei* (mon) e *A. pseudoparallela* (pse)). Foram consideradas generalistas as espécies que utilizam frutos pertencentes a famílias diferentes enquanto que especialistas foram consideradas aquelas que utilizam frutos pertencentes a uma só família (ALUJA, 1994). Algumas amostras pertencem à coleção do Laboratório de Estudos Evolutivos de Moscas-das-Frutas (LEEMF-USP), enquanto outras foram coletadas (Tabela I).

Tabela I: Amostras utilizadas nas análises de morfometria geométrica.

Localidade	Espécies	Fêmeas	Machos	Total de indivíduos
Coleção LEEMF – USP	*A. amita*	20	20	40
Coleção LEEMF – USP	*A. bistrigata*	20	20	40
Coleção LEEMF – USP	*A. grandis*	20	20	40
Coleção LEEMF – USP	*A. leptozona*	20	20	40
São Carlos (22°0'55"S; 47°53'28")	*A. montei*	20	-	20
Coleção LEEMF – USP	*A. obliqua*	20	20	40
Coleção LEEMF – USP	*A.pseudoparallela*	20	20	40
Coleção LEEMF – USP	*A. serpentina*	20	20	40
Coleção LEEMF – USP	*A. sororcula*	20	20	40
Instituto Agronomico de Campinas (IAC) (23°06'46"S; 46°55'56"W)	*A.* sp.1	20	20	40
Coleção LEEMF – USP	*A.* sp.2	10	10	20
Coleção LEEMF – USP	*A.* sp.3	10	10	20
Coleção LEEMF – USP	*A.* sp.4	10	10	20
Coleção LEEMF – USP	*A. striata*	20	20	40
Coleção LEEMF – USP	*A. zenildae*	20	20	40

Nessas localidades foram coletadas amostras de frutos infestados com larvas de moscas-das-frutas, que foram dispostos em bandejas ou baleiros com vermiculita, dependendo do seu tamanho, e levadas ao laboratório. Após 2 semanas, período que corresponde ao desenvolvimento larval das espécies de *Anastrepha* analisadas, a vermiculita foi peneirada para coleta das pupas e o processo repetido nas semanas seguintes ou até que não surgissem mais pupas. Então, estas foram transferidas para gaiolas de criação, com alimento e água *ad libidum*.

Após um período de 7 a 15 dias, os adultos emergiram e foram identificados segundo a chave proposta por Zucchi (2000) e separados pelo sexo. Um certo número de adultos foi preparado para as análises morfológicas, enquanto o restante foi utilizado para o estabelecimento da colônia fundadora de uma população estoque a ser monitorada no biotério de moscas-das-frutas do LEEMF.

As espécies *A. montei* e *A. pickeli* ocorrem no fruto da mandioca e sua principal estrutura de identificação é o acúleo presente nas fêmeas (ZUCCHI, 2000). Entretanto, devido à similaridade morfológica não foi possível distinguir os machos. Consequentemente, apenas as fêmeas de *A. montei* foram incluídas nesse estudo.

III.2 Preparação das asas

Cada indivíduo foi introduzido em um microtubo de 1,5 mL e foi anestesiado a frio (-20°C por 15 minutos). A seguir foi retirado do microtubo e lavado com água destilada para limpar as impurezas presentes em sua superfície. Então, utilizando pinças, as asas direita e esquerda foram retiradas e submetidas a uma série gradual de desidratação alcoólica, em etanol a 50%, 70% e 100%, por 20 minutos

cada. Após esse período, as asas foram imersas em xilol 100% por 2 a 3 minutos, seguindo-se a preparação permanente (PREZOTTO *et al.*, 2019). O processo de montagem das lâminas consistiu em colocar as asas sobre uma gota de resina sintética Entellan® encobrindo-as com uma lamínula (20 mm X 20 mm). As preparações foram deixadas em posição horizontal até a secagem da resina.

III.3 Morfometria geométrica

Para as análises pela morfometria geométrica, as asas foram fotografadas com câmera digital Leica IC A acoplada ao estereomicroscópio Leica MZ 125, com o aumento de 20X (Figura 1). Com a finalidade de diminuir o erro na demarcação dos marcos anatômicos, cada imagem foi duplicada.

As análises de morfometria geométrica das asas foram realizadas com o *software* TpsUtil versão 1.38 (ROHLF, 2006), a partir do qual um arquivo foi gerado para a análise das imagens. Os 18 marcos anatômicos homólogos foram definidos de acordo com o padrão de venação das asas, descrito em Hernandez-Ortiz *et al*. (2015) (Figura 2 e Tabela II). Em cada imagem, os marcos foram mapeados com o *software* TpsDig versão 1.40 (ROHLF, 2004), transformando-os em coordenadas cartesianas (x e y) para a análise geométrica. Em sequência, pelo método de Procrustes, as conformações dos marcos anatômicos foram superpostas, eliminando variações causadas pela posição e rotação das asas, excluindo assim, os efeitos do tamanho (MONTEIRO & REIS, 1999).

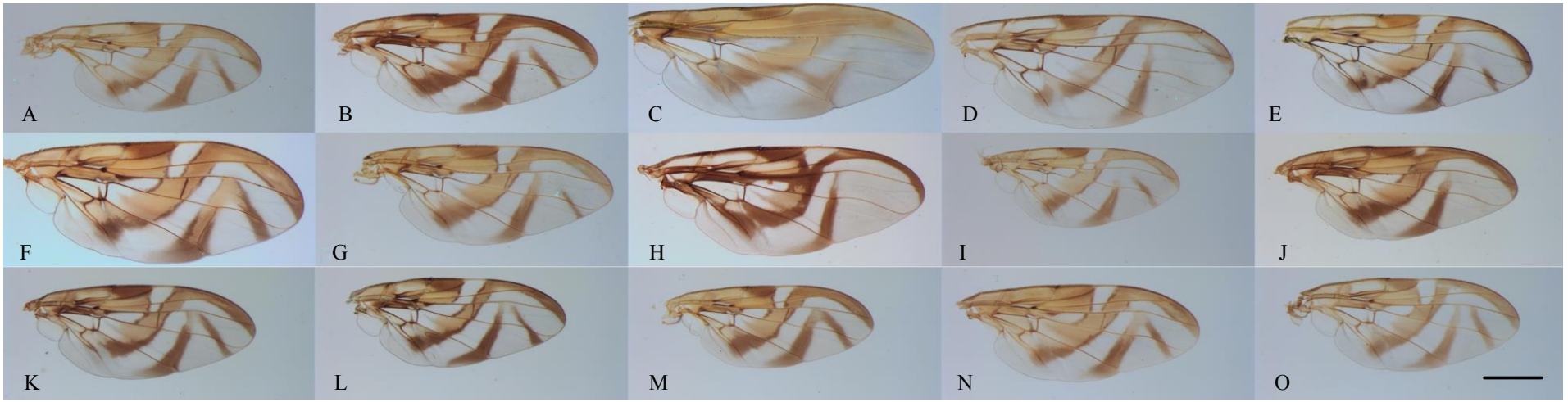


Figura 1: Asa direita de cada espécie utilizada. (A) *A. amita*, (B) *A. bistrigata*, (C) *A. grandis*, (D) *A. leptozona*, (E) *A. montei*, (F) *A. pseudoparallela*, (G) *A. obliqua*, (H) *A. serpentina*, (I) *A. sorocula*, (J) *A. striata*, (K) *A. zenildae*, (L) *A.* sp.1, (M) *A.* sp.2, (N) *A.* sp.3 e (O) *A.* sp.4. Barra igual a 1,5 mm.

Tabela II: Descrição dos marcos anatômicos definidos de acordo com a intersecção das nervuras das asas (HERNANDEZ-ORTIZ *et al.*,2015).

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 1 (R1) e a borda da asa
4	Intersecção do setor radial 2 + 3 (R2 + 3) com a borda da asa
5	Intersecção do setor radial 4 +5 (R4 +5) com a borda da asa
6	Intersecção da nervura mediana (M) com a borda da asa
7	Intersecção da nervura cubital A1 (CuA1) com a borda da asa
8	Intersecção da nervura anal (A) com a borda da asa
9	Intersecção das nervuras R1 e R2 + 3
10	Intersecção da nervura r-m e o setor radial 4 +5 (r-m e R4 +5)
11	Intersecção da nervura M e a base da célula bm
12	Intersecção das nervuras M e m-cu
13	Intersecção das nervuras mediana e r-m (M e r-m)
14	Intersecção das nervuras dm-cu e a mediana (dm-cu e M)
15	Intersecção das nervuras m-cu e CuA1
16	Intersecção da base da célula bm e ápice da célula CuA1
17	Intersecção das nervuras CuA1 e dm-cu
18	Intersecção da nervura A e ápice da célula cup

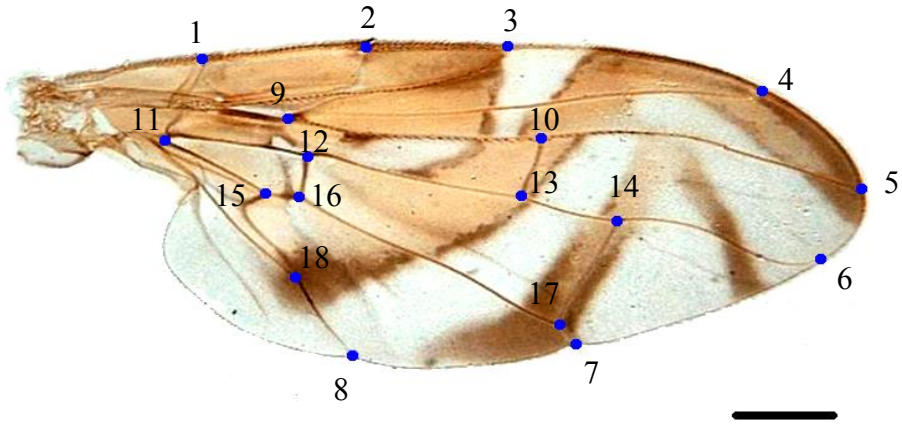


Figura 2: Marcos anatômicos homólogos utilizados para as análises de morfometria geométrica da forma da asa (HERNANDEZ-ORTIZ *et al.*,2015). Barra igual a 1mm.

Com a finalidade de detectar variação na forma das asas, foi utilizado a Análise de Componente Principal (ACP), através do *software*

Morpho J v. 1.06e (KLINGENBERG, 2011). Ademais, a variância para Componente Principal 1 (CP1) e Componente Principal 2 (CP2) foi estimada por meios de estatística descritiva para averiguar se havia um padrão entre os grupos analisados. Para investigar a existência em padrões relacionados, a estratégia alimentar e/ou ao sexo entre as espécies, foi feita análise pela Função Discriminante (FD). Adicionalmente, foi utilizado o recurso de visualização por *wireframe*, para que fosse possível identificar em que região das asas as variações ocorrem. As diferenças em Componentes Principais entre os grupos analisados foram estimadas pelas distâncias de *Mahalanobis*. Quando necessária a comparação entre médias foram aplicados testes paramétricos ou não-paramétricos, utilizando o *software* Statistica 10 (STATSOFT INC., 2011).

IV. Resultados

IV.1 Análise comparativa entre as espécies

Considerando o conjunto total das variáveis morfológicas das 11 espécies analisadas nota-se que o Componente Principal 1 (CP1) e o Componente Principal 2 (CP2) representam a maior fração de variância, somando juntos mais de 50% e por isso nas análises subsequentes foram esses os componentes utilizados (Figura 3).

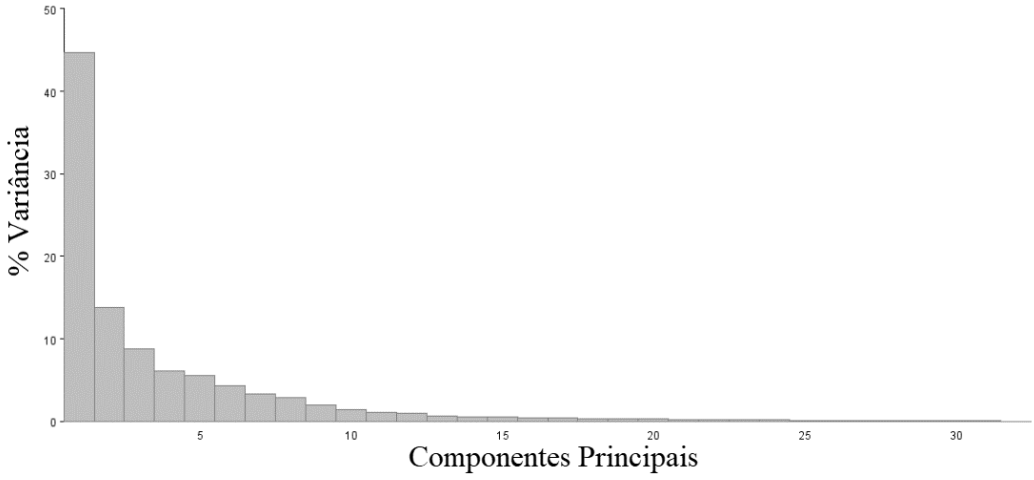


Figura 3: Distribuição dos Componentes Principais em relação a sua porcentagem de variação, para as onze espécies analisadas.

A seguir foram testadas as médias dos valores de CP1 e CP2 e a média da variância dos mesmos foram obtidas para cada uma das espécies a fim de apurar se havia algum padrão segundo os comportamentos alimentares. Então, foram feitos testes de comparação das variâncias entre espécies generalistas e especialistas para CP1 e CP2 (Figura 4). O teste de Levene indicou que a variância das amostras não são homogêneas para CP1 ($F_{(10, 409)}$= 2,977622; p= 0,011803) e para CP2 ($F_{(10, 409)}$= 2,977622; p= 0,001236). Então, o teste não-paramétrico de

Mann-Whitney foi estimado indicando que para o CP1 não há diferença entre a variância dos dois conjuntos (p= 0,714379), enquanto que para o CP2 a diferença foi significante (p= 0,008114), estabelecendo um padrão entre a variância das asas e o seu hábito alimentar, no qual as generalistas seriam mais variáveis que as especialistas.

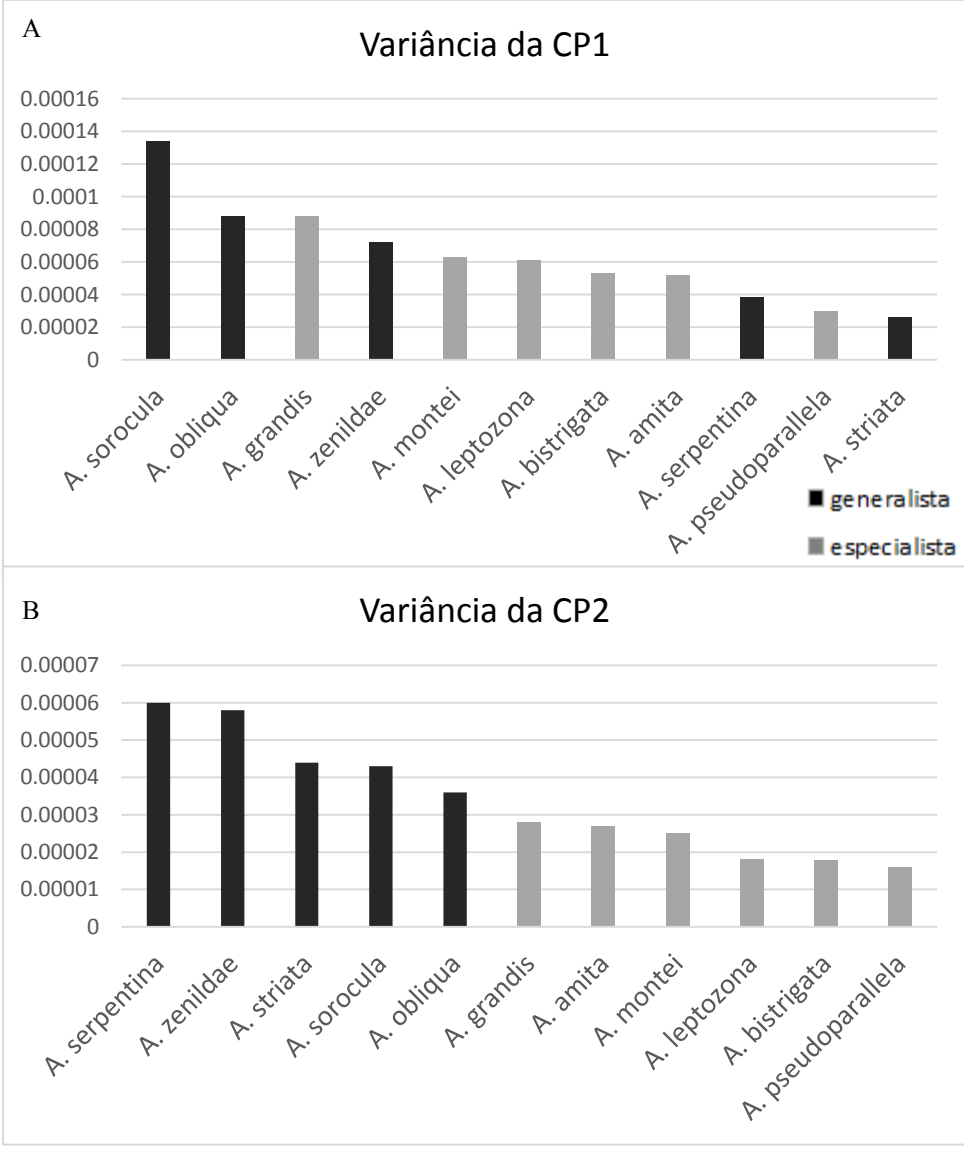


Figura 4: Variância do (A) CP1 e (B) CP2 das espécies .

Então, foi realizada a Análise de Componente Principal (ACP) das espécies utilizadas nesse trabalho (Figura 5). A Análise de Componente Principal (ACP) demonstrou que as espécies *A. sororcula*, *A. obliqua* e *A. grandis* apresentaram maior variação no CP1, enquanto que *A. serpentina* e *A. zenildae* possuem maior variação no CP2. As espécies generalistas e especialistas exibiram maior dispersão no eixo da CP1 que no da PC2.

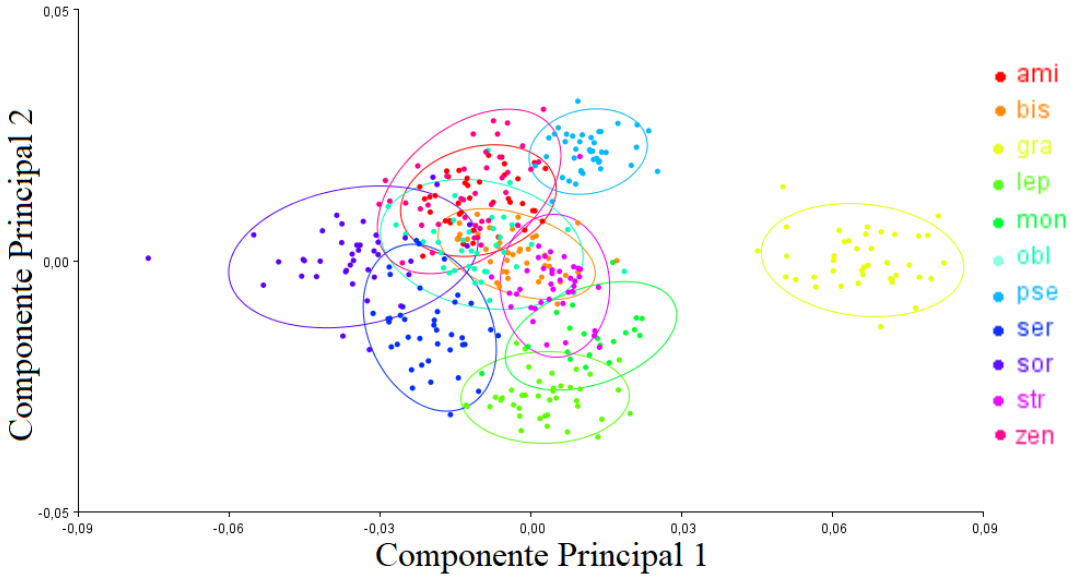


Figura 5: Gráfico de contraste entre o CP1 e o CP2 para as 11 espécies. O intervalo de confiança das elipses é de 95% da distribuição dos valores, para cada espécie.

Adicionalmente, a distância de *Mahalanobis* entre as espécies foi calculada, sendo altamente significativa para todos os valores ($p < 0,0001$). Ela indicou que *A. grandis* em relação a *A. serpentina* possui a maior distância (d= 16,54), enquanto *A. obliqua* e *A. zenildae* são as mais próximas (d= 4,23) (Tabela III).

Tabela III: Distância de *Mahalanobis* entre as espécies, calculada a partir dos componentes de forma das asas, sendo p < 0,0001 para todos os valores.

Spp.	ami	bis	gra	lep	mon	obl	pse	ser	sor	str	zen
ami	-										
bis	10	-									
gra	14.7	14.67	-								
lep	9.75	12.13	14.36	-							
mon	12.3	12.02	11.85	11.4	-						
obl	5.87	7.62	13.11	7.88	10.8	-					
pse	9.66	14.22	13.88	15.3	14.6	10.9	-				
ser	10.6	10.8	16.54	11.8	12.2	9.7	16.2	-			
sor	6.77	12.64	14.82	11.6	14.2	7.67	13.57	11.96	-		
str	8.61	7.95	13.79	9.7	7.43	6.97	10.69	12.55	9.61	-	
zen	5.86	8.64	12.24	9.64	10.9	4.23	9.72	11.26	7.63	7.8	-

IV.2 Análise comparativa entre conjuntos de especialistas e generalistas

A Análise de Componente Principal foi realizada para os diferentes conjuntos, os quais alocam as espécies utilizadas nesse estudo de acordo com o seu hábito alimentar, ou seja, entre especialistas e generalistas (Figura 6). Consequentemente, essa análise demonstrou que os conjuntos apresentaram maior variação no CP1 que no CP2. Entretanto, as especialistas são mais variáveis que as generalistas em ambos os eixos. Além disso, a distância de *Mahalanobis* (d= 3,5835) é altamente significativa entre os conjuntos, p< 0,0001.

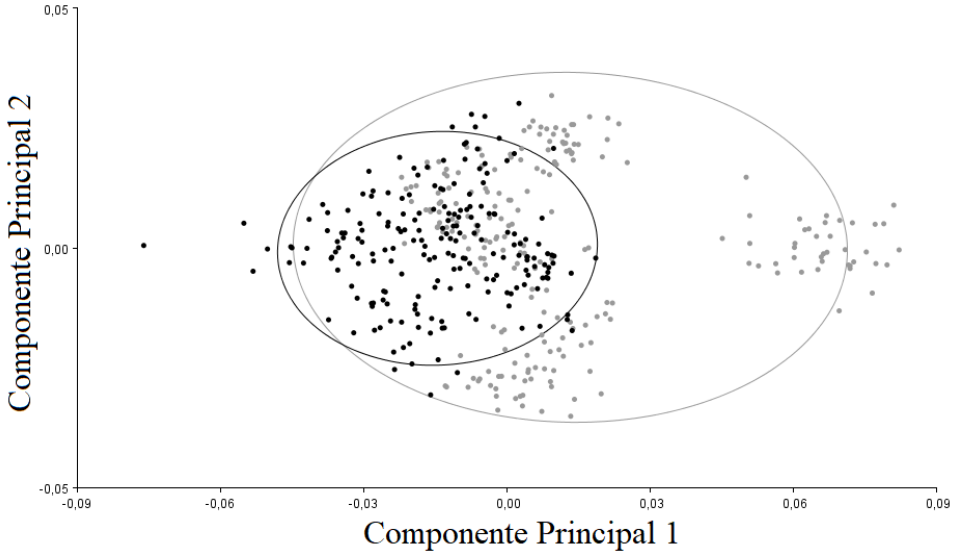


Figura 6: Gráfico de contraste entre o CP1 e o CP2 para indivíduos generalistas (cinza escuro) e especialistas (cinza claro). O intervalo de confiança das elipses é de 95% da distribuição dos valores, para cada conjunto.

A seguir, os dados sobre os dois conjuntos das espécies generalistas e especialistas foram analisados pela Função Discriminante (Figura 7). Os dados mostraram a existência de dois conjuntos distintos segundo a exploração de recurso alimentar, sugerindo que a forma da asa é diferente para cada hábito, $p < 0,0001$.

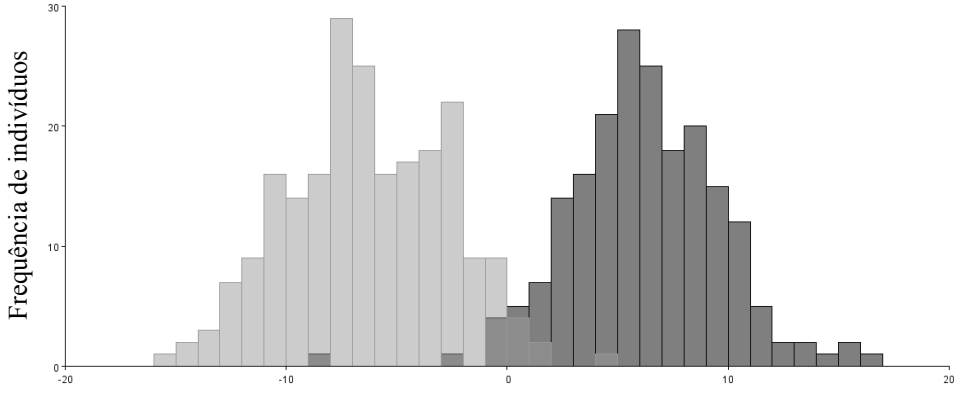


Figura 7: Distribuição de frequência de indivíduos especialistas (cinza claro) e generalistas (cinza escuro) de acordo com a Função Discriminante.

A distribuição dos valores do CP1 e do CP2 das especialistas e das generalistas estão no Apêndice A. A seguir foram testadas as médias dos valores de CP1 e CP2 e os resultados estão mostrados na Figura 8 A, B.

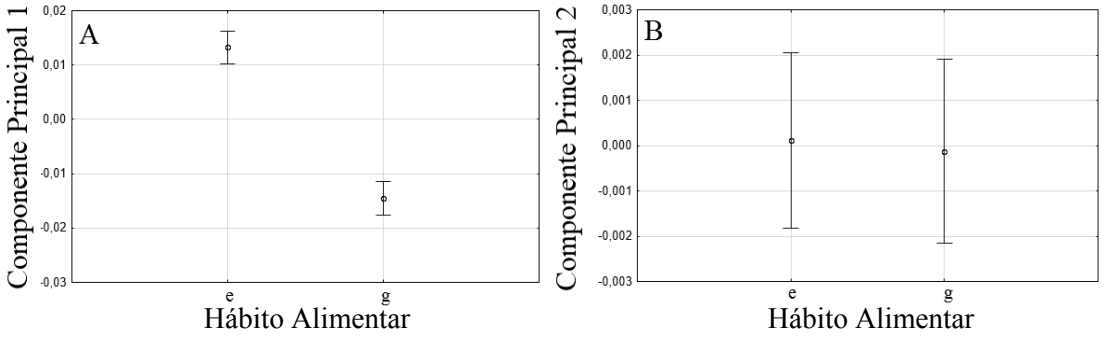


Figura 8: Valores médios e desvios do (A) CP1 e do (B) CP2 dos conjuntos em relação às especialistas (e) e generalistas (g).

A análise revelou pelo teste de Levene que a variância de CP1 e CP2 não eram homogêneas ($F_{(1,\ 418)}$= 30,03903; p= 0,0000). Assim, foi aplicado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (p< 0,0001). A análise do CP1 mostrou que os dois conjuntos apresentam diferenças estatísticas significantes ($H_{(1,\ N=\ 420)}$ = 138,52222, p =0,0000). Já a análise do CP2 mostrou não haver diferença significativa entre os dois conjuntos ($H_{(1,\ N=420)}$ = 1,365777, p =0,2425).

Então, a partir da análise discriminante desses dados, a forma da asa foi observada pela comparação do recurso de visualização do *wireframe* para cada conjunto (Figura 9), mostrando que existem diferenças nas asas entre espécies generalistas e especialistas.

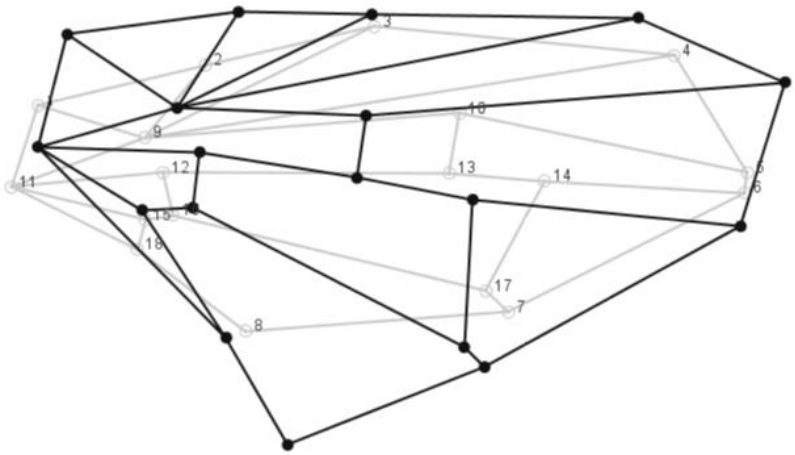


Figura 9: Diagrama (*wireframe*) mostrando a forma da asa entre espécies generalistas (cinza escuro) e especialistas (cinza claro).

IV.3 Análise comparativa na forma da asa entre fêmeas e machos

Como dito em Materiais e Métodos, apenas *A. montei* não foi utilizada para essa análise. Então, considerando o conjunto total das variáveis morfológicas das fêmeas e dos machos para cada espécie analisada observa-se que o CP1 e o CP2 representam a maior fração de variância, somando juntos mais de 50% (Figura 10), portanto nas análises subsequentes apenas eles foram utilizados.

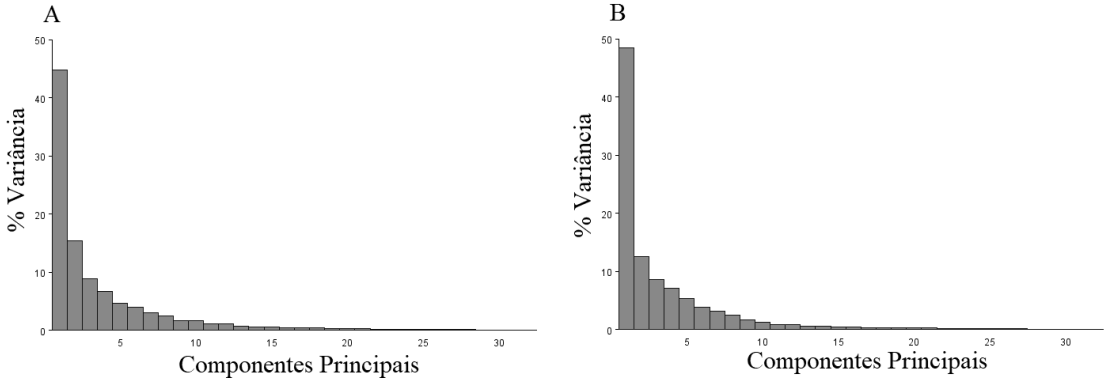


Figura 10: Distribuição dos Componentes Principais em relação a sua porcentagem de variação, sendo (A) fêmeas e (B) machos, para as dez espécies utilizadas.

Em seguida, a Análise de Componente Principal (ACP) foi realizada para machos e fêmeas de cada espécie estudada (Figura 11). Essa análise sugeriu que fêmeas e machos variaram mais no eixo do CP1.

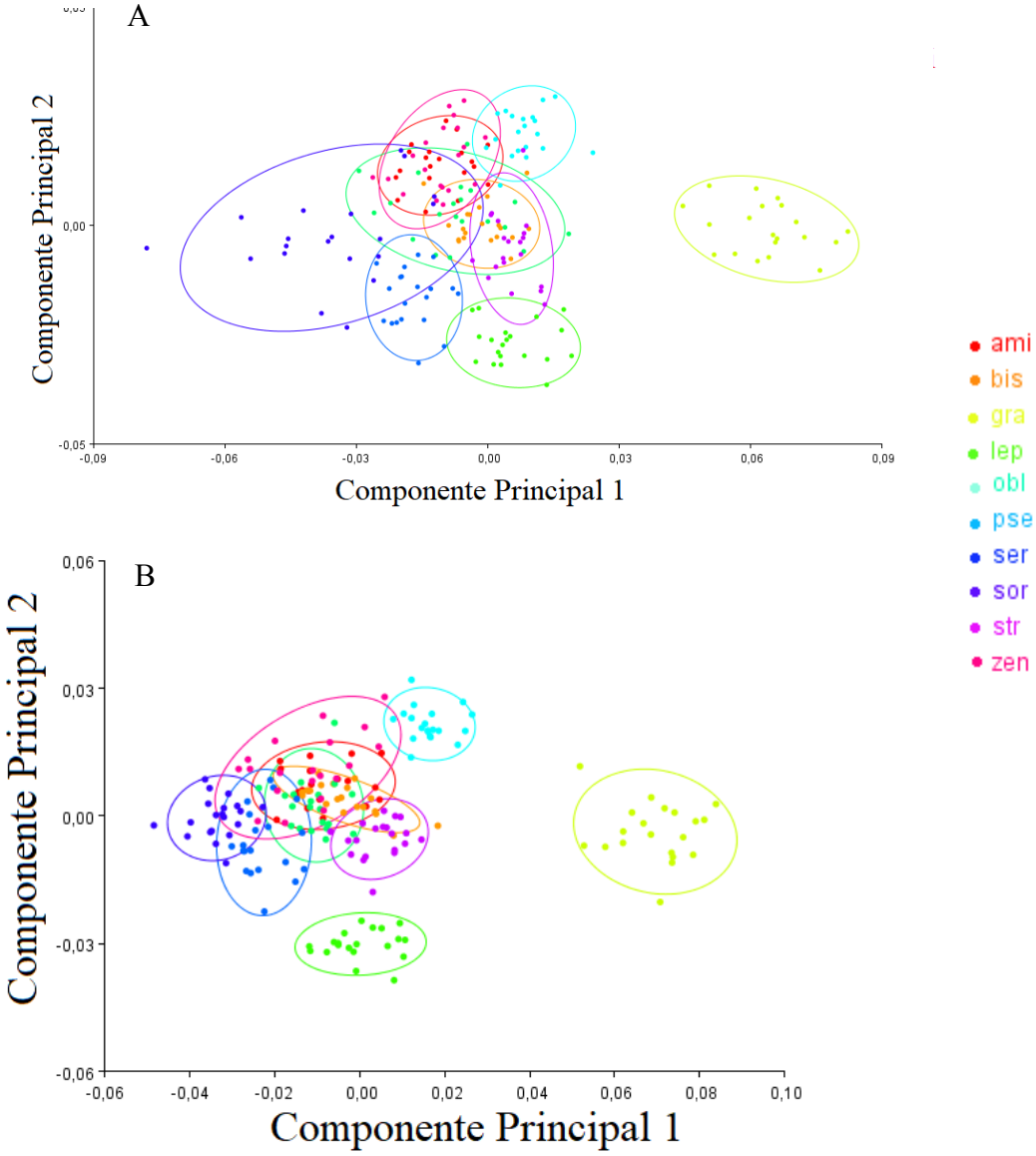


Figura 11: Gráfico de contraste entre CP1 e CP2 de acordo com o sexo. (A) Fêmeas e (B) machos. O intervalo de confiança das elipses é de 95% da distribuição dos valores, para cada espécie.

Além disso, a distância de *Mahalanobis* foi estimada entre as espécies para cada sexo (Tabela IV), tendo mostrado diferenças

altamente significativas entre elas (p< 0,0001). A Tabela IV mostra que as fêmeas de *A. serpentina* e *A. sororcula* são as mais distantes (d= 48,9), enquanto as fêmeas de *A. obliqua* e *A. zenildae* são as mais próximas (d= 10,3). Já para os machos, as espécies mais distantes são *A. leptozona e A. sororcula* (d= 88,3) e as mais próximas são *A. amita* e *A. obliqua* (d= 11,7).

Tabela IV: Distância de *Mahalanobis* entre as asas das fêmeas calculadas a partir dos componentes de forma das asas, sendo p < 0,0001 para todos os valores.

	Spp.	ami	bis	gra	lep	obl	pse	ser	sor	str	zen
Fêmeas	ami	-									
	bis	36.3	-								
	gra	23.4	45.0	-							
	lep	23.2	33.7	48.6	-						
	obl	13.0	34.2	38.4	16.5	-					
	pse	31.9	37.0	31.7	43.0	22.7	-				
	ser	34.7	32.1	43.4	29.1	21.2	32.2	-			
	sor	12.6	27.9	28.0	30.1	15.5	44.6	48.9	-		
	str	18.7	22.2	21.0	25.2	18.9	22.3	39.0	39.2	-	
	zen	21.5	23.6	32.6	20.9	10.3	27.1	26.8	32.3	17.64	-
Machos	ami	-									
	bis	22.7	-								
	gra	38.9	48.4	-							
	lep	25.9	36.1	36.4	-						
	obl	11.7	25.5	26.0	31.4	-					
	pse	28.0	48.5	48.0	68.1	29.5	-				
	ser	27.6	30.4	33.5	21.5	27.2	36.1	-			
	sor	17.0	53.5	36.9	88.3	20.6	40.4	50.6	-		
	str	25.9	22.1	32.8	25.4	18.3	22.2	27.5	39.8	-	
	zen	14.4	28.91	29.6	33.1	21.8	26.2	27.5	20.3	26.35	-

Além disso, os dados sobre o conjunto de fêmeas e machos para cada espécie foram analisados pela Função Discriminante, revelando a existência de dois grupos, p< 0,0001 para todas as espécies (Figura 12).

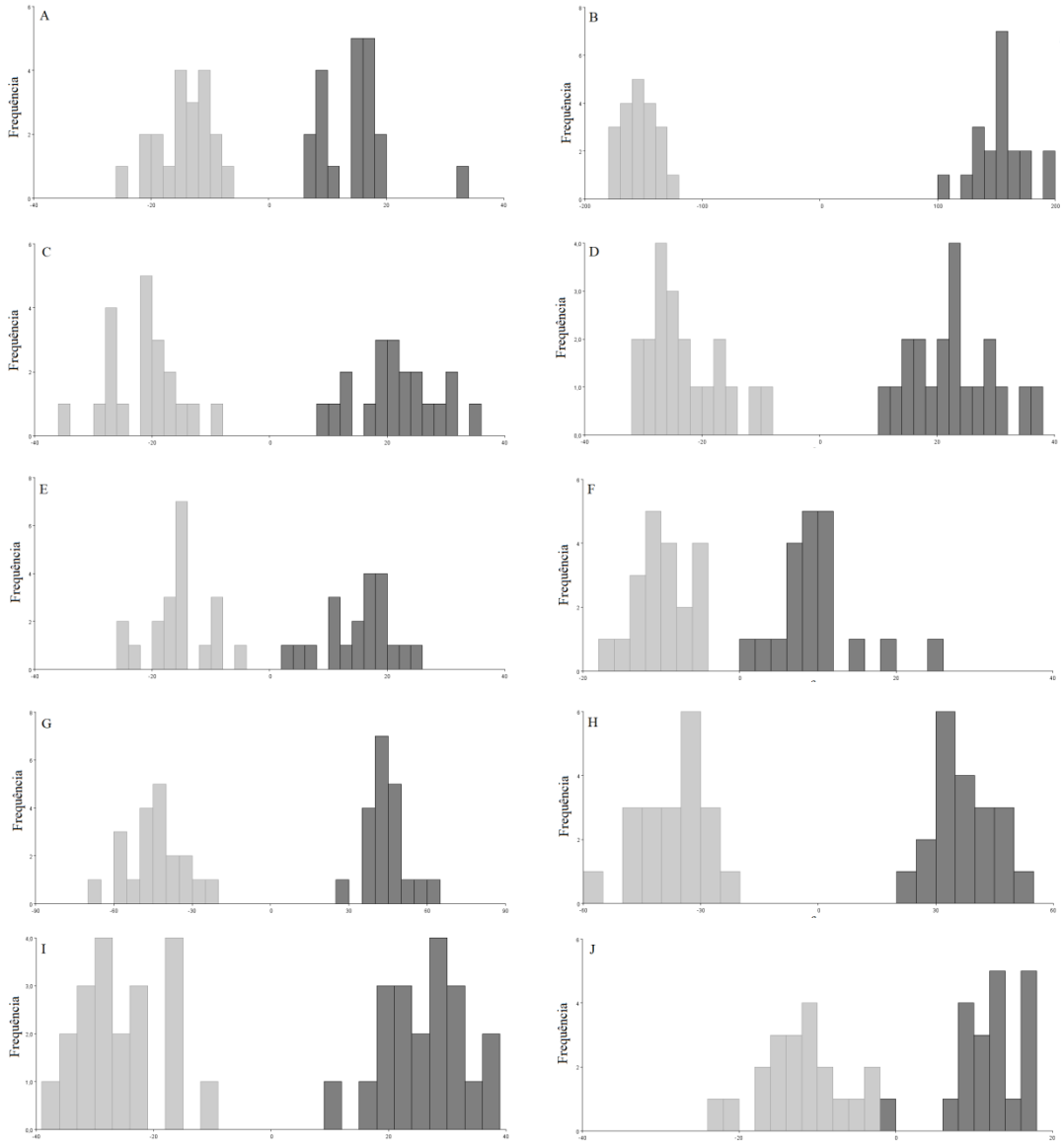


Figura 12: Distribuição de frequência entre fêmeas (cinza claro) e machos (cinza escuro) de acordo com a forma da asa para cada espécie individualmente. (A) *A. amita*, (B) *A. bistrigata*, (C) *A. grandis*, (D) *A. leptozona*, (E) *A. obliqua*, (F) *A. pseudoparallela*, (G) *A. serpentina*, (H) *A. sororcula*, (I) *A. striata* e (J) *A. zenildae*.

A partir disso, a forma alar entre machos e fêmeas para cada espécie foi estimada pela comparação do recurso de visualização do *wireframe*, mostrando haver diferenças entre os sexos (Figura 13).

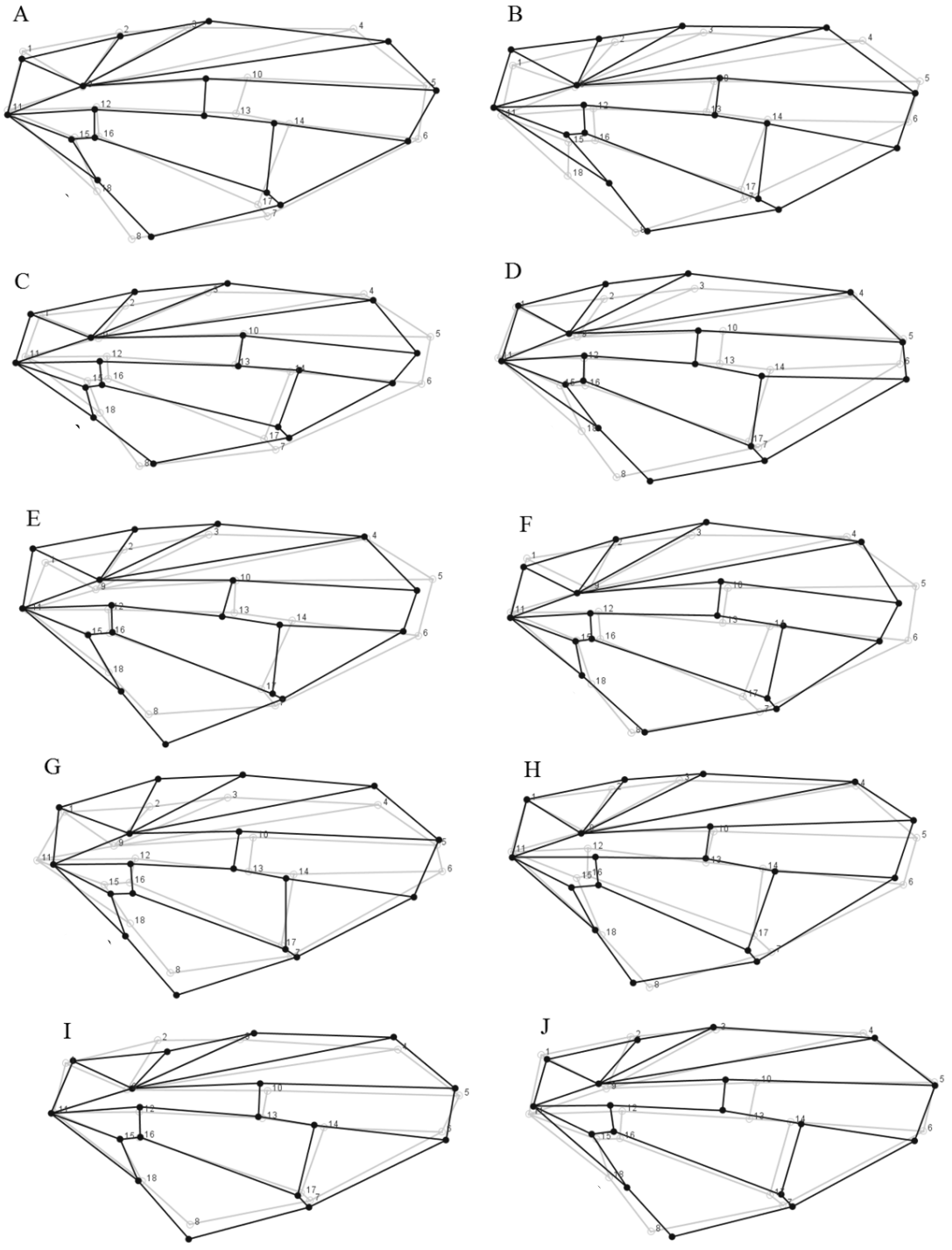


Figura 13: Diagrama (*wireframe*) mostrando a forma da asa entre machos (linha preta) e fêmeas (linha cinzal), sendo (A) *A. amita*, (B) *A. bistrigata*, (C) *A. grandis*, (D) *A. leptozona*, (E) *A. obliqua*, (F) *A. pseudoparallela*, (G) *A. serpentina*, (H) *A. sororcula*, (I) *A. striata* e (J) *A. zenildae*.

Agora as espécies foram agrupadas em dois conjuntos para cada sexo segundo seu hábito alimentar generalista e especialista. Em seguida, a Análise de Componente Principal (ACP) foi realizada e indicou que as fêmeas e os machos especialistas variam mais que os generalistas, havendo maior distribuição de indivíduos no eixo do CP1 (Figura 14). A distância de *Mahalanobis* foi altamente significativa ($p < 0,0001$), para fêmeas ($d = 3,8495$) e machos ($d = 4,1631$).

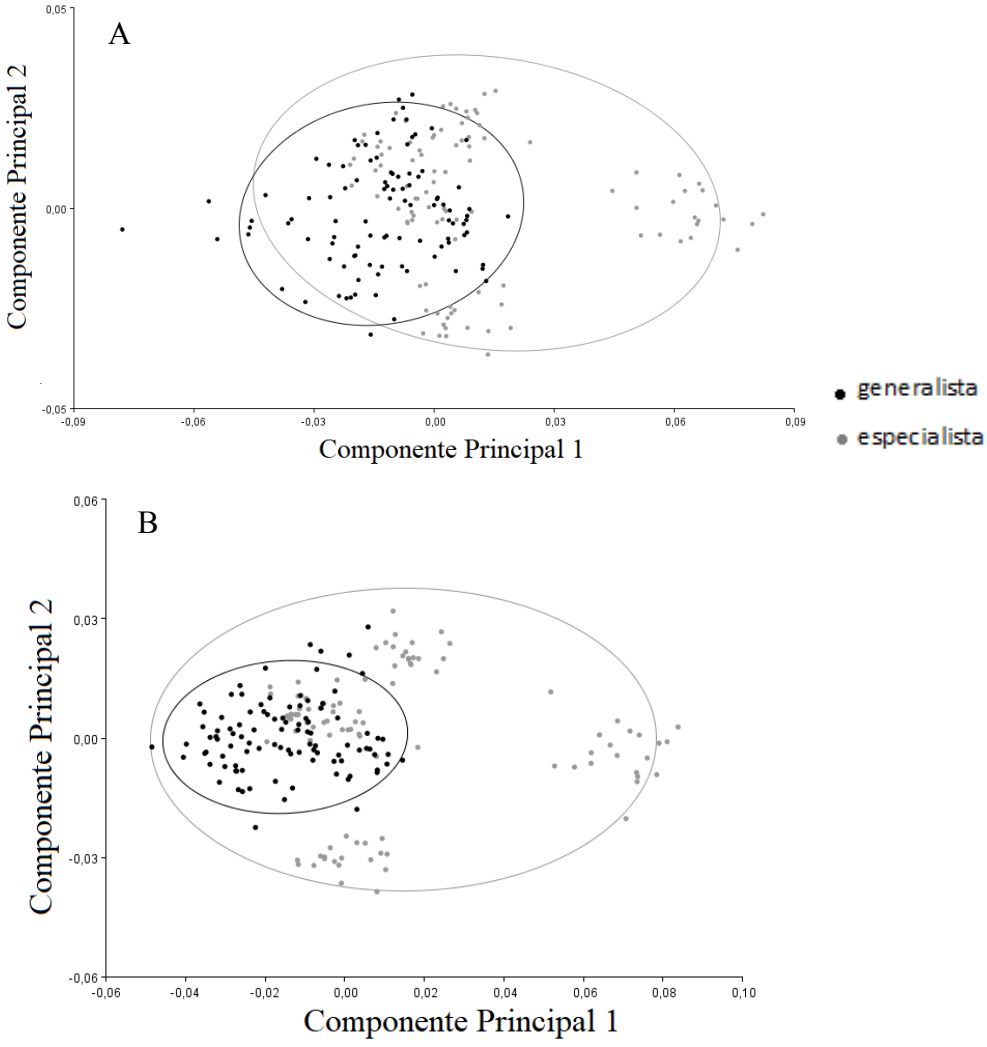


Figura 14: Gráfico de contraste entre CP1 e CP2 para (A) fêmeas e (B) machos, separado pelo hábito. O intervalo de confiança das elipses é de 95% da distribuição dos valores, para cada sexo.

A seguir, os dados sobre fêmeas e machos de diferentes hábitos foram analisados pela Função Discriminante (FD) (Figura 15). Os dados mostram claramente a existência de dois conjuntos para ambos os sexos ($p < 0,0001$), sugerindo que a forma da asa difere para cada hábito.

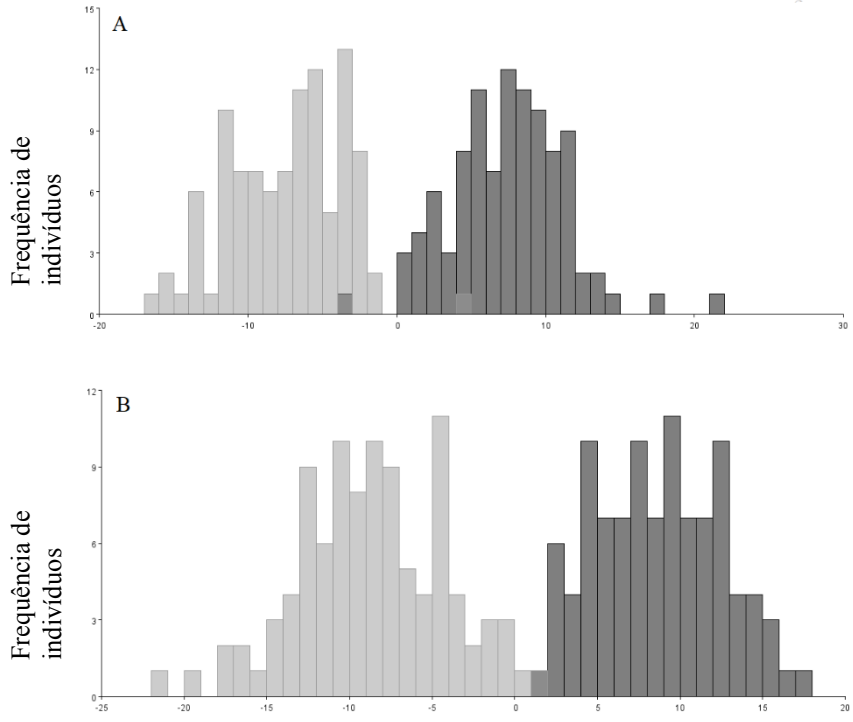


Figura 15: Distribuição de frequência de (A) fêmeas e (B) machos de acordo com os dados da Função Discriminante para especialistas (cinza claro) e generalistas (cinza escuro).

A distribuição dos valores do CP1 para fêmeas e machos, generalistas e especialistas estam no Apêndice B e do CP2 no Apêndice C. A seguir foram testadas as médias dos valores de CP1 e CP2 e os resultados estão mostrados na Figura 16. Em fêmeas e machos o CP1 difere entre os conjuntos especialistas e generalistas, enquanto que para o CP2 as diferenças não são significativas como mostrado pelo teste de Mann-Whitney, sendo significativo para o CP1 ($p < 0,0001$, para ambos)

e não significativo para fêmeas e machos no CP2 (p=0,0580 e p= 0,1572, respectivamente).

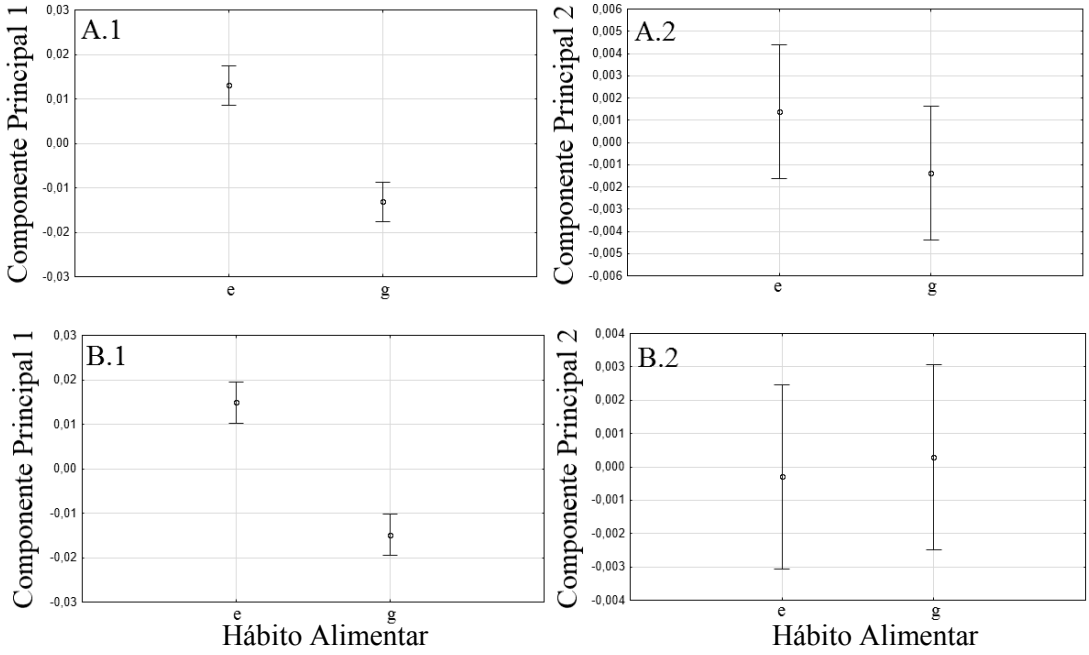


Figura 16: Valores médios e desvios do CP1 e do CP2 em relação à (A) fêmeas e (B) machos separados em generalista (g) e especialista (e).

A partir da análise discriminante desses dados, a forma da asa foi observada pela comparação do recurso de visualização do *wireframe* para cada conjunto (Figura 17), mostrando diferenças nas asas entre fêmeas e machos, generalistas e especialistas.

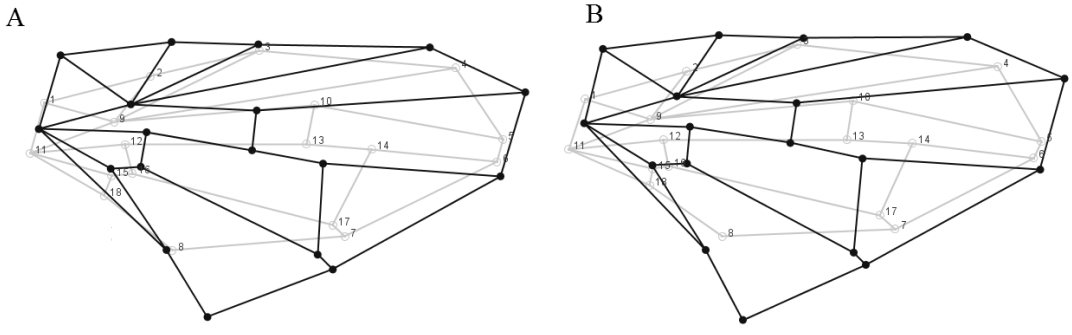


Figura 17: Diagrama (*wireframe*) mostrando a forma da asa de (A) fêmeas e (B) machos entre os conjuntos generalistas (cinza escuro) e especialistas (cinza claro).

IV.4 Análise comparativa na forma da asa entre conjuntos de especialistas e generalistas

Considerando o conjunto total das variáveis morfológicas de especialistas e generalistas observou-se que o CP1 e o CP2 possuem a maior frequência de variância, somando juntos mais de 50 %, sendo por isso utilizados apenas eles nas análises subsequentes (Figura 18).

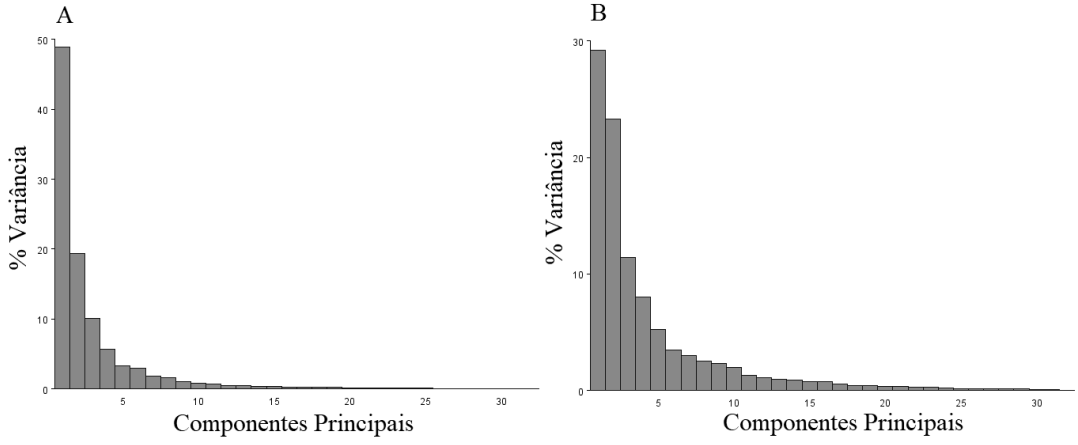


Figura 18: Distribuição dos Componentes Principais em relação à sua porcentagem de variação para (A) especialistas e (B) generalistas.

A Análise de Componente Principal (ACP) para machos e fêmeas de espécies especialistas e generalistas está apresentada na Figura 19. Essa análise mostrou que a maior variação encontra-se no CP1. A distância de *Mahalanobis* para fêmeas e machos de espécies especialistas é de 1,3931 ($p < 0,0001$) e para generalistas é de 1,4383 ($p < 0,0001$).

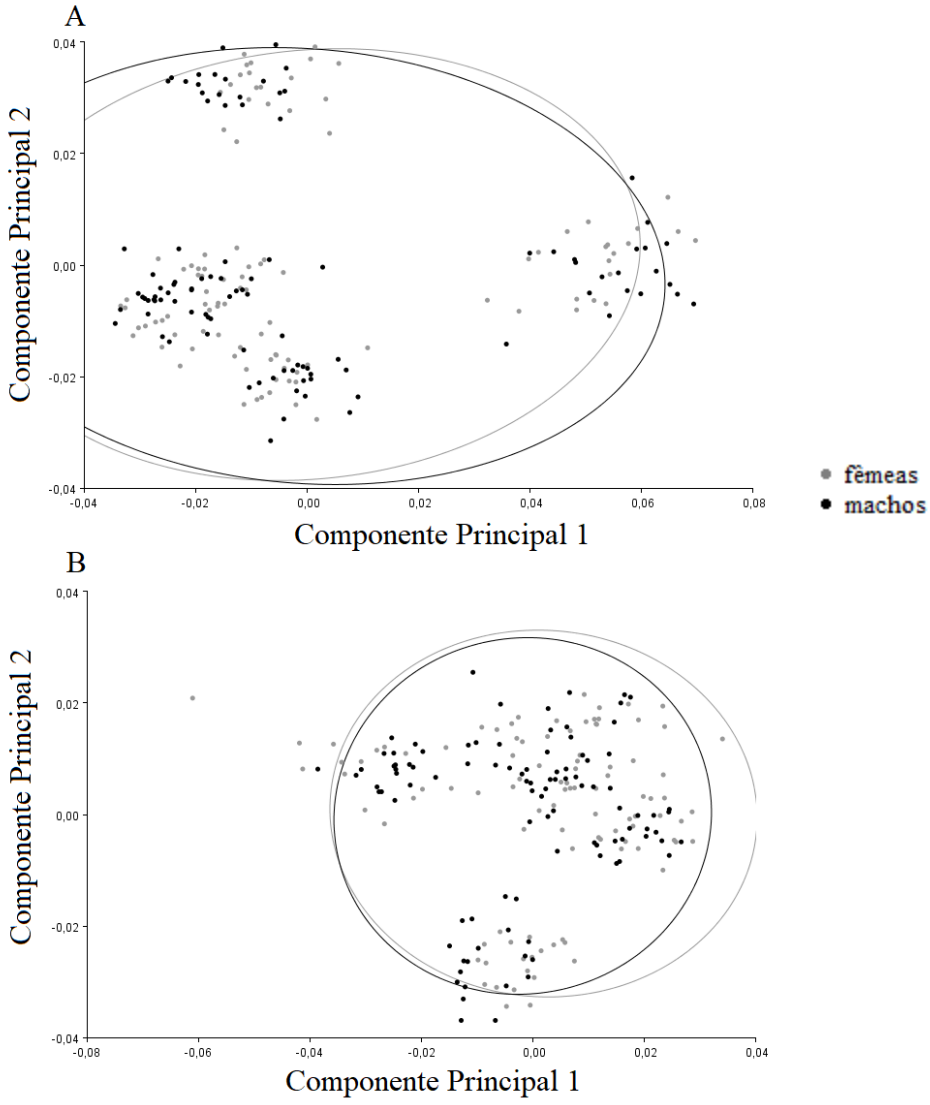


Figura 19: Gráfico de contraste entre o CP1 e o CP2 para ambos os sexos, machos e fêmeas, em cada conjunto, sendo (A) especialista e (B) generalista. O intervalo de confiança das elipses é de 95% da distribuição dos valores, para cada sexo.

Dentro dos hábitos alimentares generalistas e especialistas existem diferenças quanto à forma alar de machos e fêmeas. Além disso, os dados sobre machos e fêmeas de espécies generalistas e especialistas foram analisados pela Função Discriminante (Figura 20). Os dados mostraram a existência de dois conjuntos distintos para a exploração de recurso

alimentar, p< 0,0001, sugerindo que a forma alar é diferente entre os sexos.

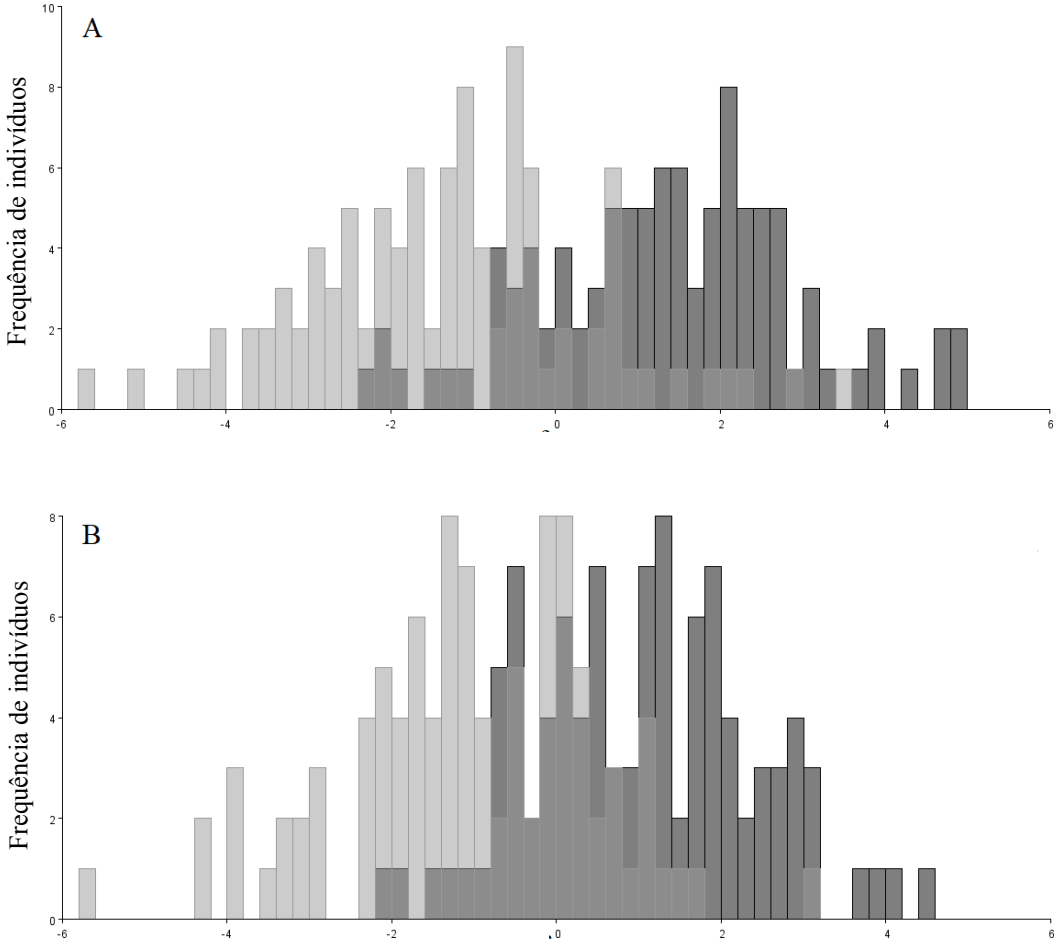


Figura 20: Frequência de fêmeas (cinza claro) e machos (cinza escuro) para os conjuntos, sendo (A) especialistas e (B) generalistas, de acordo com a Função Discriminante.

A distribuição dos valores do CP1 das especialistas e das generalistas está no Apêndice D e do CP2 no Apêndice E. As médias e desvio padrão dos dados encontram-se na Figura 21 para CP1 e CP2.

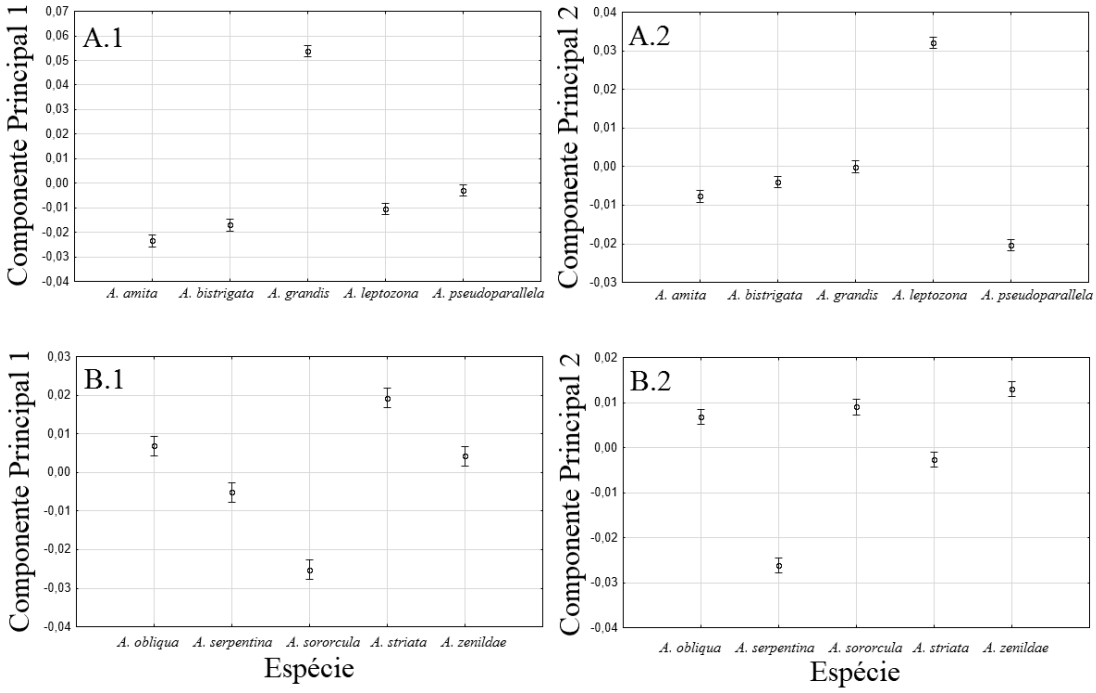


Figura 21: Valores médios e desvios do CP1 (A1, B1) e do CP2 (A2, B2) em relação às espécies (A) especialistas e (B) generalistas.

Para o CP1 o teste de Levene mostrou que as amostras eram homogêneas para especialistas ($F_{(4,\ 195)}$= 2,311274; p= 0,059163) e generalistas ($F_{(4,\ 195)}$= 2,024551; p= 0,092498). Já no caso da CP2 o teste de Levene demonstrou que as especialistas são homogêneas ($F_{(4,\ 195)}$= 3,898337; p= 0,004543) enquanto as generalistas são heterogêneas ($F_{(14,\ 195)}$= 1,872565; p= 0,116775). Como os dados apresentam variâncias não homogêneas a análise foi feita pelo teste de Kruskal-Wallis. Para CP1 e CP2 os resultados estão mostrados na Tabela V. O CP1 mostrou diferenças significativas entre as espécies tanto para especialistas ($H_{(4,\ N=\ 200)}$ = 154,1450; p< 0,0001) como para generalistas ($H_{(4,\ N=\ 200)}$ = 162,8513; p< 0,0001). O teste de comparações múltiplas para especialistas mostrou diferenças não significativas de *A. bistrigata* com *A. amita* e *A. leptozona* e entre *A. leptozona* e *A.pseudoparallela*. Para generalistas, a única diferença não significativa foi entre *A. obliqua* e *A.*

zenildae. Para o CP2 os resultados mostram diferenças significativas entre as espécies tanto para especialistas ($H_{(4,\ N=\ 200)}$ = 152,9014; p< 0,0001) como para generalistas ($H_{(4,\ N=\ 200)}$ = 150, 3534; p< 0,0001). O teste de comparações múltiplas para especialistas mostrou diferenças não significativas de *A. bistrigata* com *A. amita* e *A. grandis*. Para generalistas, diferenças não significativas foram entre *A. serpentina* com *A. obliqua* e *A. sororcula.*

Tabela V: Valores do teste de comparações múltiplas para CP1 e CP2, para especialistas e generalistas. Valores significantes em cinza.

		Spp.	ami	bis	gra	lep	pse
Especialistas	CP1	ami	-				
		bis	0.409827	-			
		gra	0.000000	0.000000	-		
		lep	0.000062	0.133435	0.000000	-	
		pse	0.000000	0.000002	0.000800	0.066866	-
	CP2	ami	-				
		bis	0.694059	-			
		gra	0.007086	1.000000	-		
		lep	0.000000	0.000000	0.000054	-	
		pse	0.000126	0.000000	0.000000	0.000000	-
		Spp.	obl	ser	sor	str	zen
Generalistas	CP1	obl	-				
		ser	0.000578	-			
		sor	0.000000	0.003104	-		
		str	0.000703	0.000000	0.000000	-	
		zen	1.000000	0.012558	0.000000	0.000018	-
	CP2	obl	-				
		ser	0.694059	-			
		sor	0.007086	1.000000	-		
		str	0.000000	0.000000	0.000054	-	
		zen	0.000126	0.000000	0.000000	0.000000	-

Então, a partir da análise discriminante a forma da asa foi revelada pela comparação do recurso de visualização do *wireframe* para cada hábito (Figura 22), mostrando que existem diferenças nas asas entre machos e fêmeas.

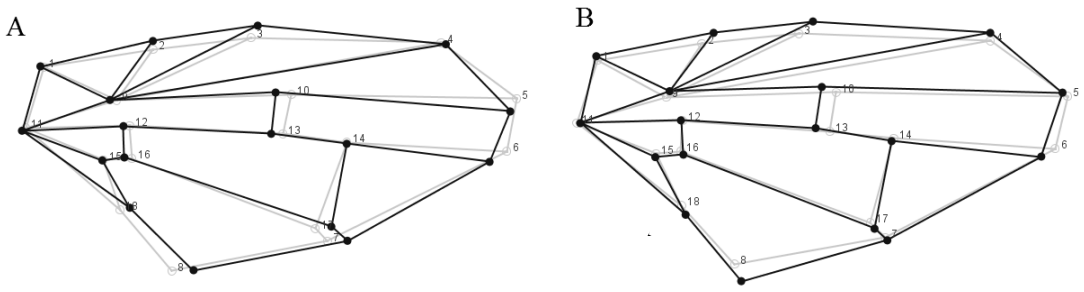


Figura 22: Diagrama (*wireframe*) mostrando a forma da asa entre (A) especialistas e (B) generalistas para macho (cinza escura) e fêmeas (cinza clara).

IV.5 Análise do complexo *fraterculus*

As espécies do complexo *fraterculus*, *A.* sp.1 affinis *fraterculus* (*A.* sp.1), a *A.* sp.2 affinis *fraterculus* (*A.* sp.2), a *A.* sp.3 affinis *fraterculus* (*A.* sp.3) e a *A.* sp.4 affinis *fraterculus* (*A.* sp.4), aqui analisadas, foram comparadas com as 11 espécies, especialistas e generalistas.

Considerando as variáveis morfológicas em conjunto, nota-se que o CP1 e o CP2 somam juntos mais de 50 % da fração dos valores da variância e por isso nas análises subsequentes foram utilisados esses componentes (Figura 23).

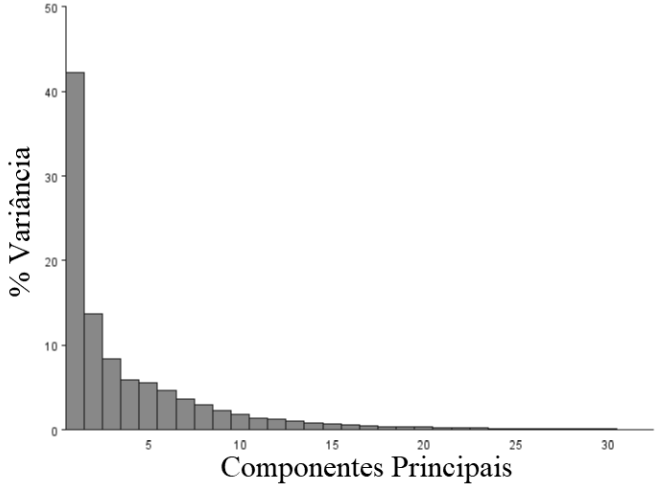


Figura 23: Distribuição dos Componentes Principais em relação à sua porcentagem de variação para as espécies do complexo *fraterculus* e as 11 espécies.

A Análise de Componente Principal (ACP) do conjunto de espécies incluindo agora as espécies do complexo *fraterculus* pode ser vista na Figura 24.

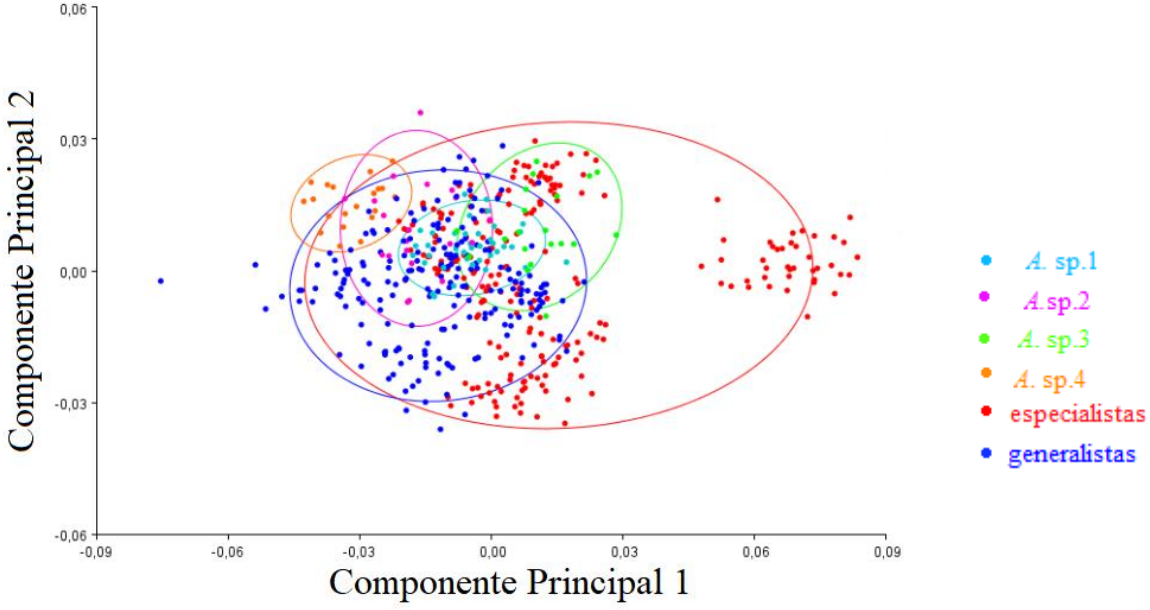


Figura 24: Gráfico de contraste entre o CP1 e o CP2 para *A.* sp.1 , *A.* sp.2 , *A.* sp.3 , *A.* sp.4 e as 11 espécies, de acordo com o hábito alimentar, especialistas e generalistas. O intervalo de confiança das elipses é de 95% da distribuição dos valores, para cada grupo.

Nota-se que as espécies foram alocadas próximas do conjunto de espécies generalistas. A seguir, para uma comparação mais detalhada entre *A.* sp.1, *A.* sp.2, *A.* sp.3 e *A.* sp.4, elas foram consideradas isoladamente. Então, considerando apenas as espécies do complexo *fraterculus* nota-se que o CP1 e o CP2 representam a maior fração de variância, somando juntas mais de 50% e por isso nas análises subsequentes foram esses os componentes utilizados (Figura 25).

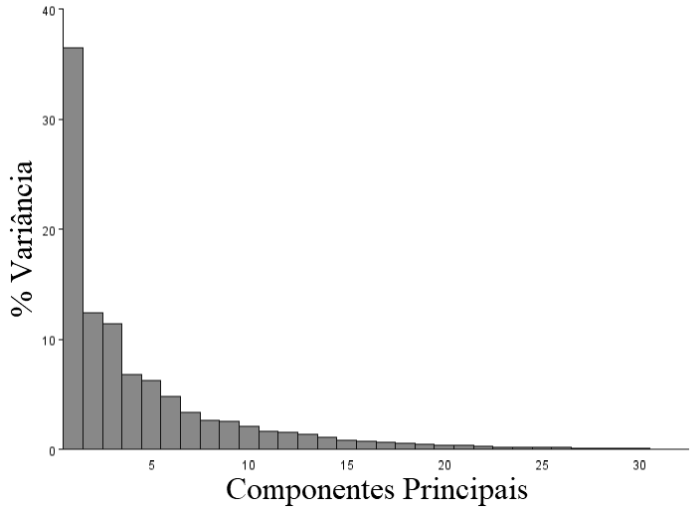


Figura 25: Distribuição dos Componentes Principais em relação à sua porcentagem de variação.

A seguir, foi feita a Análise de Componente Principal que evidenciou maior variação no CP1 (Figura 26).

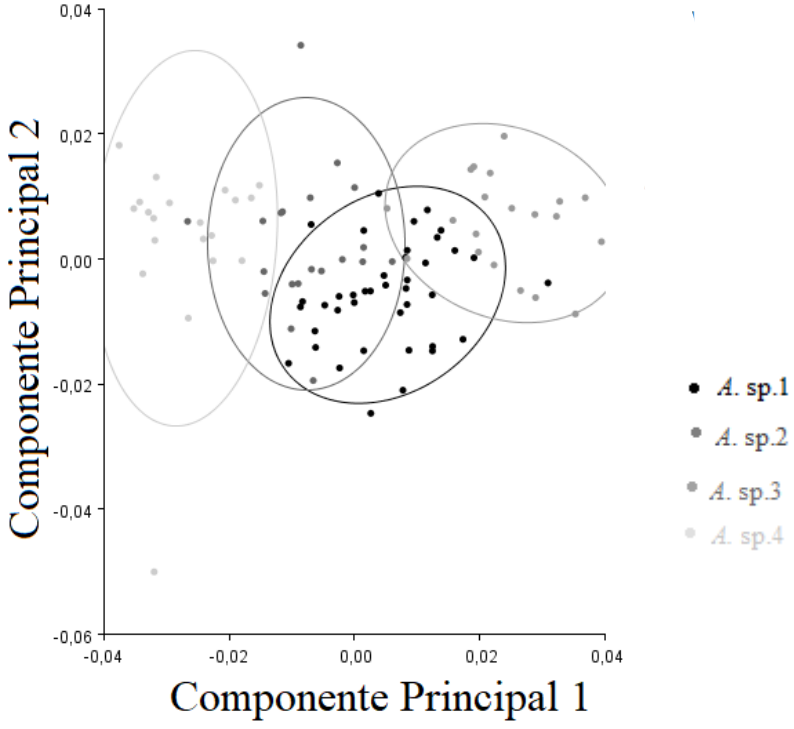


Figura 26: Gráfico de contraste entre CP1 e CP2 para *A.* sp.1, *A.* sp.2, *A.* sp.3 e *A.* sp.4. O intervalo de confiança das elipses é de 95% da distribuição dos valores, para cada espécie.

As distâncias de *Mahalanobis* entre as espécies do complexo *fraterculus* foram calculadas mostrando que existem diferenças entre elas, sendo a maior entre a *A.* sp4 em relação a *A.* sp3 (d= 23,26) e a menor entre a *A.* sp1 e a *A.* sp3 (d= 7,22), todas as diferenças foram significativas (p< 0,0001) (Tabela VI).

Tabela VI: Distância de *Mahalanobis* entre as espécies *A.* sp1, *A.* sp2, *A.* sp3 e *A.* sp4.

Spp.	*A.* sp.1	*A.* sp.2	*A.* sp.3	*A.* sp.4
A. sp.1	-			
A. sp.2	8.148	-		
A. sp.3	7.22	17.03	-	
A. sp.4	10.84	8.97	23.26	-

A seguir, foi verificado se haviam diferenças entre as espécies quanto aos valores de CP1 e de CP2 isoladamente. As médias e desvio padrão dos dados encontram-se na Figura 27.A para o CP1 e na Figura 27.B. A análise desses dados pelo teste Levene para o CP1 ($F_{(3,\ 96)}$= 0,617367; p= 0,605416) e para o CP2 ($F_{(3,\ 96)}$= 0,493753; p= 0,687459) revelou que as variâncias eram homogêneas. Desse modo foi feita a Análise de Variância (ANOVA) tanto para CP1 ($F_{(3,\ 96)}$= 141,57; p= 0,0000) como para CP2 ($F_{(3,\ 96)}$= 7,7583, p= 0,00011), mostrando que para o CP1 todas as amostras diferem significativamente entre si. O teste de Tukey revelou que todas as amostras para o CP1 possuem diferenças significativas entre todas as espécies (Tukey= 0,000140). Enquanto que para o CP2 *A.*sp.1 difere das demais e não existe diferenças significativas entre as demais espécies (Tabela VII).

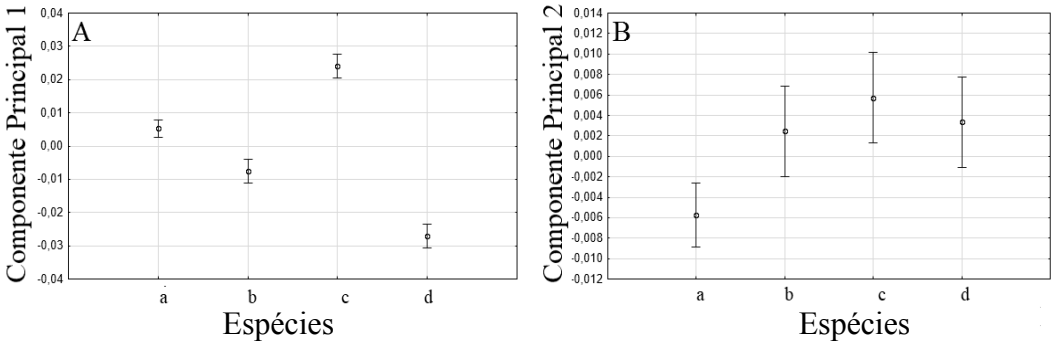


Figura 27: Distribuição dos valores do (A) CP1 e do (B) CP2 em relação às espécies *A.* sp.1 (a), *A.* sp.2 (b), *A.* sp.3 (c) e *A.* sp.4 (d).

Tabela VII: Teste Tukey para o CP2 entre as espécies *A.* sp1, *A.* sp2, *A.* sp3 e *A.* sp4.

Spp.	*A.* sp.1	*A.* sp.2	*A.* sp.3	*A.* sp.4
A. sp.1	-			
A. sp.2	0.017966	-		
A. sp.3	0.000465	0.727430	-	
A. sp.4	0.006936	0.992414	0.872632	-

V. Discussão

Estudos morfológicos podem muitas vezes revelar processos adaptativos ocorridos em escala macroevolutiva. Algumas estruturas são notoriamente favoráveis a esse tipo de análise, não apenas pela função que exercem na sobrevivência do organismo, como também pela facilidade de análise que propiciam em estudos de natureza diversa, como taxonômicos, filogenéticos, funcionais etc. Esse é o caso das asas dos insetos, cuja morfologia está diretamente envolvida no desempenho de voo. A ação da seleção natural, atuando sobre o comportamento de voo, possivelmente resultará em mudanças adaptativas na morfologia das asas. A associação entre variações morfológicas e comportamentos associados tem sido investigada, empregando-se estudos de morfologia ecológica e funcional, sobretudo em vertebrados, tornando possível a associação da forma da asa e desempenho no voo. Já nos insetos, muita ênfase tem sido dada ao aspecto funcional do voo, mas os estudos que procuram avaliar as pressões seletivas atuantes no voo e sua relação com a morfologia alar são escassos (ROY *et al*., 2019)

As análises morfológicas das asas das moscas-das-frutas, realizadas nesse trabalho, procuraram relacionar as formas reveladas pelo método de morfometria geométrica à possíveis pressões seletivas. Além disso, os resultados revelaram aspectos contraditórios a alguns fatos descritos na literatura e reforçaram outros. A presença de dimorfismo sexual nas espécies aqui estudadas contradizem a ideia de que as asas de machos e fêmeas não diferem quanto à esse aspecto, como o proposto em estudos anteriores (SIVINSKI & DODSON, 1992) e reforçam a descrição de dimorfismo sexual alar descrito por Selivon *et al*. (2005) e Nascimento *et al.* (2000) em espécies de *Anastrepha*. Talvez a

discrepância encontrada nos diferentes estudos possa ser, ao menos em parte, devida às diferentes metodologias adotadas nos diferentes estudos, no caso a morfometria univariada, em contraste com a morfometria multivariada. Essa possibilidade foi discutida por Strauss e Bookstein (1982) que destacaram a possibilidade dessas discrepâncias ocorrerem quando os diferentes métodos são utilizados, pelo fato de medidas tradicionais (univariadas) serem insuficientes para descrever as diferenças entre duas formas.

Um provável fator determinante do dimorfismo alar, a seleção sexual, pode ter tido uma influência significativa em sua origem e manutenção, uma vez que as asas podem ter papel crucial no comportamento reprodutivo, integrando o conjunto de sinalizações sexuais (BURK, 1988, MANKIN *et al*., 1996; ALUJA *et al*., 1999). Embora não se possa descartar a influência de diferenças nas demandas de voo entre os sexos, uma vez que, além da busca pelo parceiro sexual, as fêmeas devem também buscar um sítio de oviposição que garanta a sobrevivência da progênie. Dimorfismo sexual também foi encontrado para as espécies do complexo *fraterculus* aqui analisadas.

A maior similaridade morfológica, estimada pela distância de *Mahalanobis*, das três espécies do complexo que ocorrem em território brasileiro (*A*.sp.1, *A*.sp.2 e *A*.sp.3) em relação à *A*. sp.4, registrada no Equador e no Peru (HERNANDEZ-ORTIZ *et al.,*2015) é compatível com as diferenças genéticas registradas entre elas, estimadas pelo marcador ITS1. A *A*. sp.4 teria sua história evolutiva mais relacionada às espécies andinas do complexo *fraterculus*, do que às populações brasileiras (PREZOTTO *et al*., 2019). A inclusão das espécies do complexo *fraterculus* no conjunto de espécies generalistas é compatível com o conhecimento ainda incipiente de suas listas de hospedeiros. As espécies, *A*. sp.1, *A*. sp.2 e *A*. sp.3 que ocorrem no Brasil foram

encontradas em frutos pertencentes à famílias diferentes, tais como *Psidium guajava* (Myrtaceae) e *Terminalia cattapa* (Combretaceae) (SELIVON *et al.* 2004, 2005; PREZOTTO *et al.*, 2019). Já paraa *A.* sp.4 o número de hospedeiros descritos é altamente incipiente, estando descrita sua presença apenas em goiabas, em Guayaquil Equador (SELIVON *et al*. 2004; HERNANDEZ-ORTIZ *et al*., 2015). Entretanto, como essa espécie foi reconhecida pela comunidade internacional apenas recentemente (HENDRICHS *et al*., 2015), é possível que a lista de frutos hospedeiros aumente em número nos próximos anos, configurando-se como uma espécie generalista, de acordo com o sugerido pela presente análise.

O reconhecimento de um padrão alar para o conjunto de espécies generalistas, bem como para as especialistas, onde foram incluídas espécies pertencentes a grupos taxonômicos infragenéricos distintos estabelecidos com base em caracteres diagnósticos morfológicos (NORRBOM & KIM, 1988) e sustentados por análises genéticas (MENGUAL *et al.*, 2017) foi notável. Assim, no conjunto das espécies generalistas foram incluídas as espécies *A. obliqua*, *A. serpentina*, *A. sororcula*, *A. striata* e *A. zenildae*, pertencentes aos grupos taxonômicos *fraterculus*, *serpentina* e *striata*, e no conjunto das especialistas, as espécies *A. amita*, *A. bistrigata*, *A. grandis*, *A. leptozona*, *A. montei*, *A. pseudoparallela* pertencentes aos grupos *fraterculus*, *striata*, *grandis*, *serpentina e pseudoparallela*. A inclusão dentro de cada conjunto de espécies pertencentes a grupos taxonômicos distintos enfraquece a possibilidade de que a similaridade morfológica das asas entre as espécies de cada conjunto é devido à proximidade filogenética. Assim, do grupo *fraterculus* tem-se as espécies *A. obliqua*, *A. sororcula*, *A. zenildae* inseridas no grupo das generalistas, mas também se tem *A. amita* inserida no conjunto das especialistas; do grupo *striata* tem-se *A. striata* no grupo

das generalistas, mas *A. bistrigata* nas especialistas; do grupo *serpentina* tem-se *A. leptozona* inserida no conjunto especialista, mas *A. serpentina* incluída no conjunto generalista. Assim, a similaridade morfológica na forma das asas para o conjunto generalista e especialista, possivelmente é decorrente de processos adaptativos convergentes (convergência evolutiva) e não decorrentes de um legado filogenético.

A morfologia das asas está diretamente relacionada ao desempenho de voo. Assim, indivíduos que realizam voos predominantemente por planagem são favorecidos por asas estreitas e longas e estão presentes em espécies que se deslocam por longas distâncias, pois essa estratégia reduz em muito o custo energético do deslocamento. Por outro lado, asas curtas e largas são características de voos mais ativos, predominantemente executado pelo bater das asas, com maior custo energético e estão presentes em espécies que deslocam por curtas distâncias. Nesse caso, as asas seriam mais curtas e largas, favorecendo manobrabilidade e maior eficiência em deslocamento de ar (ROY *et al*., 2019).

Essas duas situações foram as encontradas para as espécies especialistas e generalistas aqui estudadas. As espécies *A. amita*, *A. bistrigata*, *A. grandis*, *A leptozona*, *A. montei* e *A. pseudoparallela* (especialistas) apresentaram asas mais compridas e estreitas que as das espécies *A. obliqua*, *A. serpentina*, *A. sororcula*, *A. striata* e *A. zenildae* (generalistas). Considerando que esses dois grupos, generalistas e especialistas, com suas diferentes estratégias de exploração de recursos alimentares, possam ter diferentes demandas de voos, a hipótese que exista um padrão morfológico convergente nessa estrutura torna-se plausível. Espécies generalistas tendem a se deslocar por menores distâncias, enquanto as espécies especialistas tendem a percorrer maiores distâncias com mais frequência, em busca de um recurso específico (BATEMAN, 1972; CHRISTENSON & FOOTE, 1960). Como as

plantas, no caso o fruto hospedeiro, são as únicas fontes de alimento para os insetos fitófagos espera-se que essa dependência exerça ativamente forte pressão seletiva na modelagem de suas características. Assim sendo, imagine um cenário no qual, em uma área geográfica definida estejam distribuídas diversas plantas hospedeiras de espécies distintas. Imagine agora que uma espécie de mosca-das-frutas consiga explorar vários tipos de frutos presentes nessa área, portanto uma espécie generalista e por outro lado, imagine outra espécie de mosca-das-frutas capaz de explorar apenas um tipo de recurso alimentar (especialista). Assim, a mesma área será explorada de maneira diferente pelas duas espécies: a primeira a explorará segundo um padrão de granulação fina, pois poderá utilizar diversos tipos de recurso, enquanto a outra o explorará segundo um padrão de granulação grossa, pois buscará apenas um tipo de recurso (sensu MACARTHUR *et al.* 1972). Dentro desse cenário, torna-se plausível a ideia de que a demanda de voo entre as duas espécies seja diferente. Possivelmente maiores distâncias terão de ser percorridas com maior frequência pelas especialistas, o que favoreceria o voo do tipo planagem com menor custo energético, que aerodinamicamente seria favorecido por asas mais longas e estreitas (ROY *et al.*, 2019).

Outro aspecto que merece destaque é a presença de maior variância nas asas do conjunto generalista. Isso é surpreendente desde que no comportamento de cópula nas espécies desse conjunto as asas executam movimentos envolvidos no comportamento de corte, com a emissão de sons e atração das fêmeas (SIVINSKI & BURK, 1989), sendo a forma da asa curta e larga mais eficiente na dispersão de feromônios atrativos para as fêmeas, pois essa forma favorece deslocamentos de ar. Portanto, seria esperado, que a forma da asa fosse altamente canalizada. Por outro lado, o conjunto especialista, com menor variância na forma da asa, sugere um maior grau de canalização, muito embora seu sistema reprodutivo não

envolva sinalizações elaboradas como no caso das generalistas, à exceção conhecida de *A. grandis* que embora tenha morfologia alar compatível com o conjunto especialista apresenta corte elaborada (SILVA & MALAVASI, 1983). Torna-se plausível então, a hipótese de que a forma da asa responda de modo preponderante às diferentes demandas de voo em busca de recurso alimentar do que em relação ao seu desempenho durante o comportamento de corte e cópula.

Entretanto, é importante ressaltar que qualquer característica presente em um organismo não é resultado de uma única força seletiva. Ela é o resultado do balanço de diversas forças que atuarão durante sua existência (FORSMAN, 2014). Assim, as diferenças na forma das asas entre o conjunto de espécies generalistas e especialistas devem resultar de um balanço entre diversas pressões evolutivas, dentre as quais podem ser destacadas as estratégias de utilização de recurso alimentar e sistema de acasalamento.

VI. Conclusões

1. As onze espécies estudadas apresentam diferenças na morfologia alar, permitindo o reconhecimento de grupos distintos pela análise de morfometria geométrica;
2. Todas as espécies analisadas apresentam dimorfismo sexual quanto ao padrão morfológico das asas;
3. Quando agrupadas, segundo o hábito alimentar, é possível reconhecer dois conjuntos morfológicos: um no qual estão incluídas as espécies generalistas e outro no qual estão incluídas as espécies especialistas;
4. Estes conjuntos mantêm-se coesos independentemente do sexo;
5. Possivelmente as espécies do complexo *fraterculus A*.sp.1, *A*.sp.2, *A*.sp.3 e *A*.sp.4 cuja descrição da lista de hospedeiros ainda é incipiente, são generalistas pois foram alocadas neste grupo quanto à morfologia alar;
6. Existe congruência entre as relações reconhecidas para as espécies do complexo *fraterculus* estimadas pela morfologia alar, com aquelas estimadas geneticamente descritas na literatura;
7. O conjunto de espécies generalistas apresenta asas largas e curtas, enquanto o especialista apresenta asas estreitas e compridas;
8. As diferentes formas da asa estão possivelmente relacionadas às diferentes demandas de voos;
9. A maior variância quanto à forma da asa do conjunto generalista, em relação ao conjunto especialista, sugere que a canalização seja maior nesse último;
10. As estratégias de utilização de recursos alimentares e de sistemas reprodutivos devem estar incluídas no conjunto de pressões

seletivas determinantes da forma das asas em espécies de *Anastrepha*.

Resumo

A morfologia alar de onze espécies de moscas-de-frutas da família Tephritidae, gênero *Anastrepha* foi analisada pela técnica de morfometria multivariada geométrica. Dimorfismo sexual foi encontrado para todas as espécies, e quando agrupadas segundo o hábito alimentar, especialistas ou generalistas, diferentes formas foram encontradas. As especialistas apresentaram asas mais longas e finas, enquanto as generalistas apresentaram asas curtas e largas, independentemente do sexo. A similaridade dentro de cada conjunto é possivelmente decorrente de estratégias adaptativas convergentes. Quatro espécies do complexo *fraterculus*, cuja lista de hospedeiros ainda é incipiente, foram alocadas no conjunto das espécies generalistas. As diferentes formas da asa estão possivelmente relacionadas às diferentes demandas de voo decorrentes das distintas estratégias de exploração de recurso alimentar. A maior variância quanto à forma das asas presente no conjunto generalista, em relação ao especialista, sugere que essa característica esteja mais canalizada neste último. Conclui-se que as diferentes estratégias de utilização de recursos alimentares e de diferentes sistemas reprodutivos devem estar envolvidas no conjunto de pressões seletivas determinantes da forma das asas das espécies de *Anastrepha*.

Abstract

The wing shape of eleven species of tephritid fruit flies, genus *Anastrepha*, was analyzed applying the geometric multivariate morphometry technique. Sexual dimorphism was found for all species and when grouped according to foraging behavior, specialists or generalists, different wing shapes were found. The specialists presented longer and thinner wings, while in the generalists, the wings are shorter and wider, regardless of sex, possibly due to convergent adaptive strategies. The similarity within each set is possibly due to convergent adaptive strategies. Four species of the *fraterculus* complex whose host list is still incipient were allocated to the set of generalist species. The different wing shapes are possibly related to the different flight demands related to distinct foraging strategies. The greater variance as to the shape of the wing present in the generalist set, in relation to the specialist, suggests that this characteristic is more canalized in the latter. The different strategies of foraging behavior and different reproductive systems must be involved in the set of selective pressures determining the wings shape of *Anastrepha* species.

VII. Referências Bibliográficas

ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annu. Rev. Entomol**, vol. 39, n. 1, p. 155-178, 1994.

ALUJA, M.; PIÑERO, J.; JÁCOME, I.; DÍAZ-FLEISCHER, F.; SIVINSKI, J. Behavior of flies in the genus Anastrepha (Trypetinae: Toxotrypanini). In: **Fruit Flies (Tephritidae)**. CRC Press, 1999. p. 393-424.

ARAÚJO, E.L.; NASCIMENTO, F.M.; ZUCCHI, R.A. The use of discriminant analysis in the taxonomic studies of fruit flies of the genus Anastrepha Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae). **Scientia Agricola (Brazil)**, vol. 55, p 105-110, 1998.

BAKER, A.C. A review of studies on the Mexican fruit fly and related Mexican species. **United States Department of Agriculture. Miscellaneous Publication**, 531, p. 1-155, 1944.

BATEMAN, M.A. The ecology of fruit flies. **Annual review of entomology**, vol. 17, n. 1, p. 493-518, 1972.

BOOKSTEIN, F.L. **Morphometric tools for landmark data: geometry and biology**. Cambridge University Press, 1997.

BROWN, B.V.; BORKENT, A.; CUMMING, J.M.; WOOD, D.M.; WOODLEY, N.E.; ZUMBADO, M.A. **Manual of Central American Diptera: Volume 2**. NRC Research Press, cap. 68, p.909-954, 2010.

BURK, T.. Acoustic signals, arms races and the costs of honest signaling. **Florida Entomologist**, p. 400-409, 1988.

BUSH, G. L. The cytotaxonomy of the larvae of some Mexican fruit flies in the genus *Anastrepha* (Tephritidae: Diptera). **Psyche**, 6, p. 87-101, 1962.

CHRISTENSON, L.D.; FOOTE, R.H. Biology of fruit flies. **Annual review of entomology**, vol. 5, n. 1, p. 171-192, 1960.

FLETCHER, B.S. **Life history strategies of tephritid fruit flies**. 1989.

FORSMAN, A. Effects of genotypic and phenotypic variation on establishment are important for conservation, invasion, and infection biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 1, p. 302-307, 2014.

FUTUYMA, D.J.; MORENO, G. The evolution of ecological specialization. **Annual Review of Ecology and Systematics**, vol. 19, n. 1, p. 207-233, 1988.

GOTTHARD, K.; NYLIN, S. Adaptive plasticity and plasticity as an adaptation - a selective review of plasticity in animal morphology and life-history. **Oikos**. vol. 74, p. 3-17, 1995.

HARDY, N.B. Do plant-eating insect lineages pass through phases of host-use generalism during speciation and host-switching? Phylogenetic evidence. **Evolution**, 2017.

HENDRICHS, J.; VERA, M.T.; DE MEYER, M.; CLARKE, A.R. Resolving cryptic species complexes of major tephritid pests. **ZooKeys**, n.540, p.5, 2015.

HERNANDEZ-ORTIZ, V.; BARTOLUCCI, A.F.; MORALES-VALLES, P.; FRÍAS, D.; SELIVON, D. 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**. vol.105, n.2, p. 305-318, 2012.

HERNANDEZ-ORTIZ, V.; CANAL, N.A.; TIGRERO SALAS, J.O.; RUÍZ-HURTADO, F.M.; DZUL-CAUICH, J.F. 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. (Eds) **Resolution of Cryptic Species Complexes of Tephritid Pests to Enhance SIT Application and Facilitate International Trade**. ZooKeys, n. 540, p. 95-124, 2015.

HERNANDEZ-ORTIZ, V.; GOMEZ-ANAYA, J.A.; SANCHEZ, A.G.; MCPHERON, A.; ALUJA, M. 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**, vol. 94, n. 6, p. 487-499, 2004.

HSIAO, T.H. Feeding behaviour. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Eds) **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Pergamon Press, p. 471-505, 1985.

JANZ, N.; NYLIN, S. The oscillation hypothesis of host-plant range and speciation. **Specialization, speciation, and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects**, p. 203-215, 2008.

KIM, K.C. Insect pests and evolution. In: KIM, K.C.; MCPHERON, B.A. (Eds) **Evolution of insect pests: patterns of variation**, p. 3-26, 1993.

KLINGENBERG, C.P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. **Molecular ecology resources**, v. 11, n. 2, p. 353-357, 2011.

MACARTHUR, R.H.; DIAMOND, J.M.; KARR, J.R. Density compensation in island faunas. **Ecology**, v. 53, n. 2, p. 330-342, 1972.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A.; SUGAYAMA, R.L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Eds) **Moscas-das-frutas de**

importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora, cap. 10, p. 93-98, 2000.

MANKIN, K.R.; FYNN, R.P. Nutrient uptake response of New Guinea impatiens to light, temperature, and nutrient solution concentration. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 121, n. 5, p. 826-830, 1996.

MENDES, L.O.T. Observações citológicas em "moscas-das-frutas". **Bragantia**, 17, p. 29-39, 1958.

MENGUAL, X.; KERR, P.; NORRBOM, A.L.; BARR, N.B.; LEWIS, M.L.; STAPELFELDT, A.M., ...; URAMOTO, K. Phylogenetic relationships of the tribe Toxotrypanini (Diptera: Tephritidae) based on molecular characters. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 113, p. 84-112, 2017.

MITTER, C.; FUTUYMA, D.J. An evolutionary-genetic view of host-plant utilization by insects. **Variable plants and herbivores in natural and managed systems**, p. 427-459, 1983.

MONTEIRO, L.R.; REIS, S.F. **Princípios de morfometria geométrica**. Holos, 1999.

MORGANTE, J.S.; MALAVASI, A.; BUSH, G.L. Biochemical systematics and evolutionary relationships of neotropical *Anastrepha*. **Annals of Entomological Society of America**, 73, p. 622-30, 1980.

MORGANTE, J.S.; SELIVON, D.; SOLFERINI, V.N.; MATIOLI, S.R. Evolutionary patterns in specialist and generalist species of Anastrepha. In: **Fruit Flies**. Springer, New York, NY, p. 15-20, 1993.

NASCIMENTO, A.S.; MATRANGOLO, W.J.R.; BARBOSA, C.J.; MARQUES, O.M.; HABIBE, T.C. Association of fruit flies

(Diptera: Tephritidae) with the sticky disease of papaya (Carica papaya L.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 821-827, 2000.

NASCIMENTO, F.M. do; SELIVON, D. **Morfometria geométrica aplicada ao estudo de variações alares em espécies de Anastrepha (Diptera: Tephritidae)**. 2005. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

NORA, I.; HICKEL, E. Pragas da macieira: dípteros e lepidópteros. In: EPAGRI (Ed.). **A cultura da macieira**. Florianópolis: GMC/Epagri, 2006. cap. 15, p. 463-486.

NORRBOM, A.L.; FOOTE, RICHARD H. The taxonomy and zoogeography of the genus Anastrepha (Diptera: Tephritidae). **Fruits flies: their biology, natural enemies and control. New York: Elsevier**, p. 15-26, 1989.

NORRBOM, A.L.; KIM, K.C. A list of the reported host plants of the species of Anastrepha (Diptera: Tephritidae). **APHIS 81 (USA)**, 1988.

NORRBOM, A.L.; KORYTKOWSKI, C.A.; ZUCCHI, R.A.; URAMOTO, K.; VENABLE, G.L.; MCCORMICK, J.; DALLWITZ, M.J. Anastrepha and Toxotrypana: descriptions, illustrations, and interactive keys. **Version: 28th September**, 2012.

PIMENTEL, R.A. Morphometrics, the multivariate analysis of biological data. **Kendall/Hunt Publishing Company**, 1979.

PREZOTTO, L.F.; PERONDINI, A.L.; HERNANDEZ-ORTIZ, V.; FRÍAS, D.; SELIVON, D. What Can Integrated Analysis of Morphological and Genetic Data Still Reveal about the Anastrepha

fraterculus (Diptera: Tephritidae) Cryptic Species Complex? **Insects**, v. 10, n. 11, p. 408, 2019.

RIBEIRO, S. Governo lança programa de combate às moscas-das-frutas, 2015. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2015-09/ governo-lanca-programa-de-combate-moscas-das-frutas>. Acesso em 20 nov. 2019.

ROHLF, F.J. Program TpsDig, version 1,40. **Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, NY**, 2004.

ROHLF, F.J. Program TpsUtil, Version 1.38. **Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook, NY**, 2006.

ROY, C.L.; DEBAT, V.; LLAURENS, V. Adaptive evolution of butterfly wing shape: from morphology to behaviour. **Biological Reviews**, v. 94, n. 4, p. 1261-1281, 2019.

SELIVON, D. **Estudo sobre a diferenciação populacional em Anastrepha fraterculus *(Wiedemann) (Diptera, Tephritidae)*.** Tese de Doutorado, Departamento de Biologia, Instituto de Biociência, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1996.

SELIVON, D.; PERONDINI, A.L.P. Eggshell morphology in two cryptic species of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Annals of Entomological Society of America,** 91, p. 473-478, 1998.

SELIVON, D.; PERONDINI, A.L.P.; MORGANTE, J.S. A genetic–morphological characterization of two cryptic species of the Anastrepha fraterculus complex (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, vol. 98, n. 3, p. 367-381, 2005.

SELIVON, D.; PERONDINI, A.LP; MORGANTE, J.S. Haldane's rule and other aspects of reproductive isolation observed in the Anastrepha fraterculus complex (Diptera: Tephritidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 4, p. 507-510, 1999.

SELIVON, D.; VRETOS C.; FONTES L.; PERONDINI A.L.P. New variant forms in the Anastrepha fraterculus complex (Diptera: Tephritidae). **Proceedings of the 6th International Symposium on fruit flies of economicimportance, Stellenbosch, South Africa, 6-10 May 2002.** Isteg Scientific Publications, p. 253-258, 2004.

SILVA, J.G.; MALAVASI, A. Mating and oviposition behavior of Anastrepha grandis under laboratory conditions. In: **Fruit Flies**. Springer, New York, NY, 1993. p. 181-184. 181-184,1983.

SIVINSKI, J.; BURK, T. Reproductive and mating behaviour. 343-351. **Fruit flies: thier biology, natural enemies and control. Amsterdam: Elsevier**, 1989.

SIVINSKI, J.M.; DODSON, Gary. Sexual dimorphism in *Anastrepha* suspensa (Loew) and other tephritid fruit flies (Diptera: Tephritidae): Possible roles of developmental rate, fecundity, and dispersal. **Journal of Insect Behavior**, v. 5, n. 4, p. 491-506, 1992.

SOLFERINI, V.N.; MORGANTE, J.S. Karyotype study of eight species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). **Caryologia,** v. 40, n. 3, p. 229-241, 1987.

STATSOFT, Inc. STATISTICA, ver. 10. **Tulsa, OK**, 2011.

STECK, G.J. Biochemical systematics and population genetic structure of *Anastrepha fraterculus* and related species (Diptera: Tephritidae). **Annals of Entomological Society of America**, 84, p. 10-28, 1991.

STECK, G.J.; SHEPPARD, W.S. Mitochondrial DNA variation in Anastrepha fraterculus. In: **Fruit Flies**. Springer, New York, NY, p. 9-14, 1993.

STONE, A. The fruit flies of the genus *Anastrepha.* U. S. **Department of Agriculture, Miscellaneous Publication**, 439, p. 1-112, 1942.

STRAUSS, R.E.; BOOKSTEIN, F.L. The truss: body form reconstructions in morphometrics. **Systematic Biology**, v. 31, n. 2, p. 113-135, 1982.

THOMPSON, D.W. **On growth and form**, v. 2, 1917.

WHITE, I.M.; ELSON-HARRIS, M.M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**. CAB International, 1992.

ZUCCHI, R.A. Diversidad, distribución y hospederos del género Anastrepha en Brasil. **Moscas de la fruta en Latinoamérica (Diptera: Tephritidae): diversidad, biología y manejo. México, DF: S y G Editores**, p. 77-100, 2007.

ZUCCHI, R.A. Fruit flies in Brazil: *Anastrepha* species and their host plants and parasitoids, 2008. Disponível em: <www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/>. Acesso em: 18 out. 2019.

ZUCCHI, R.A. Taxonomia das espécies brasileiras de Anastrepha Schiner, 1968 do complexo Fraterculus (Diptera: Tephritidae). Dissertação de Mestrado, ESALQ, Piracicaba. 1977.

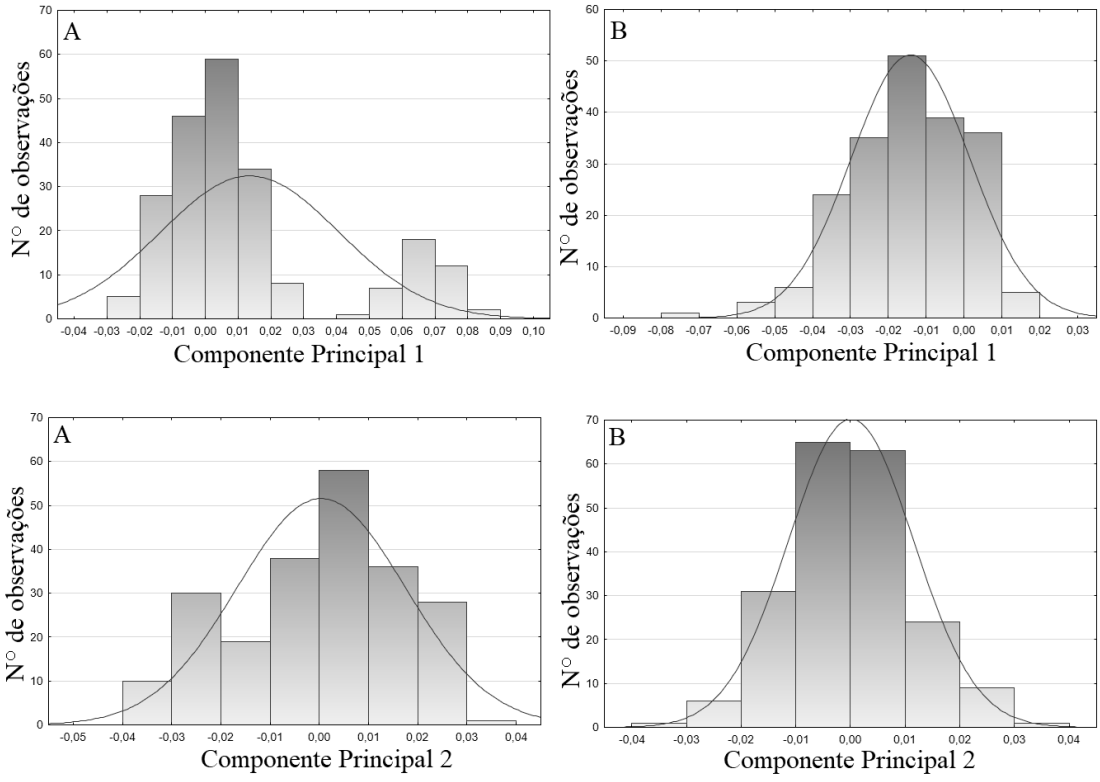
ZUCCHI, R.A. Taxonomia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Eds) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos Editora, cap.1, p. 13-24, 2000.

ZUCOLOTO, F. S.; MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. Alimentação e nutrição de moscas-das-frutas. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Eds) **Moscas-das-frutas de importância econômica no**

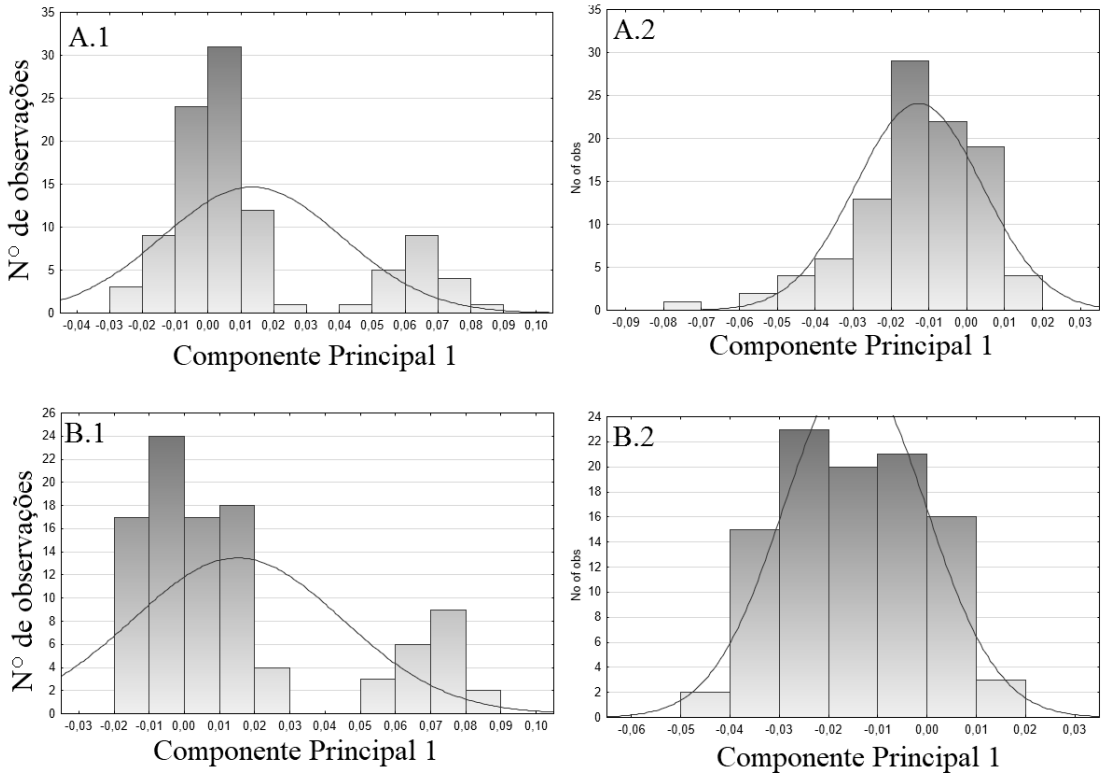
Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora cap.7, p. 67-80, 2000.

Apêndices

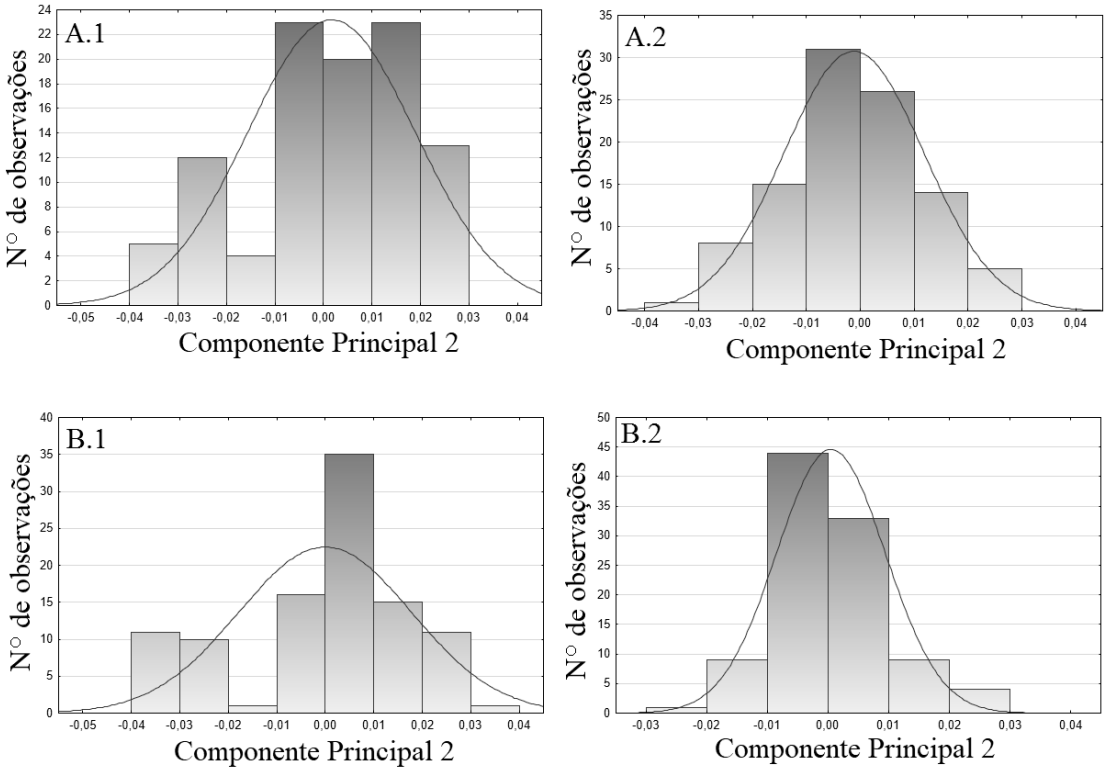
APÊNDICE A – Distribuição dos valores do Componente Principal 1 e do Componente Principal 2 para as onze espécies, sendo (A) especialista e (B) generalista.



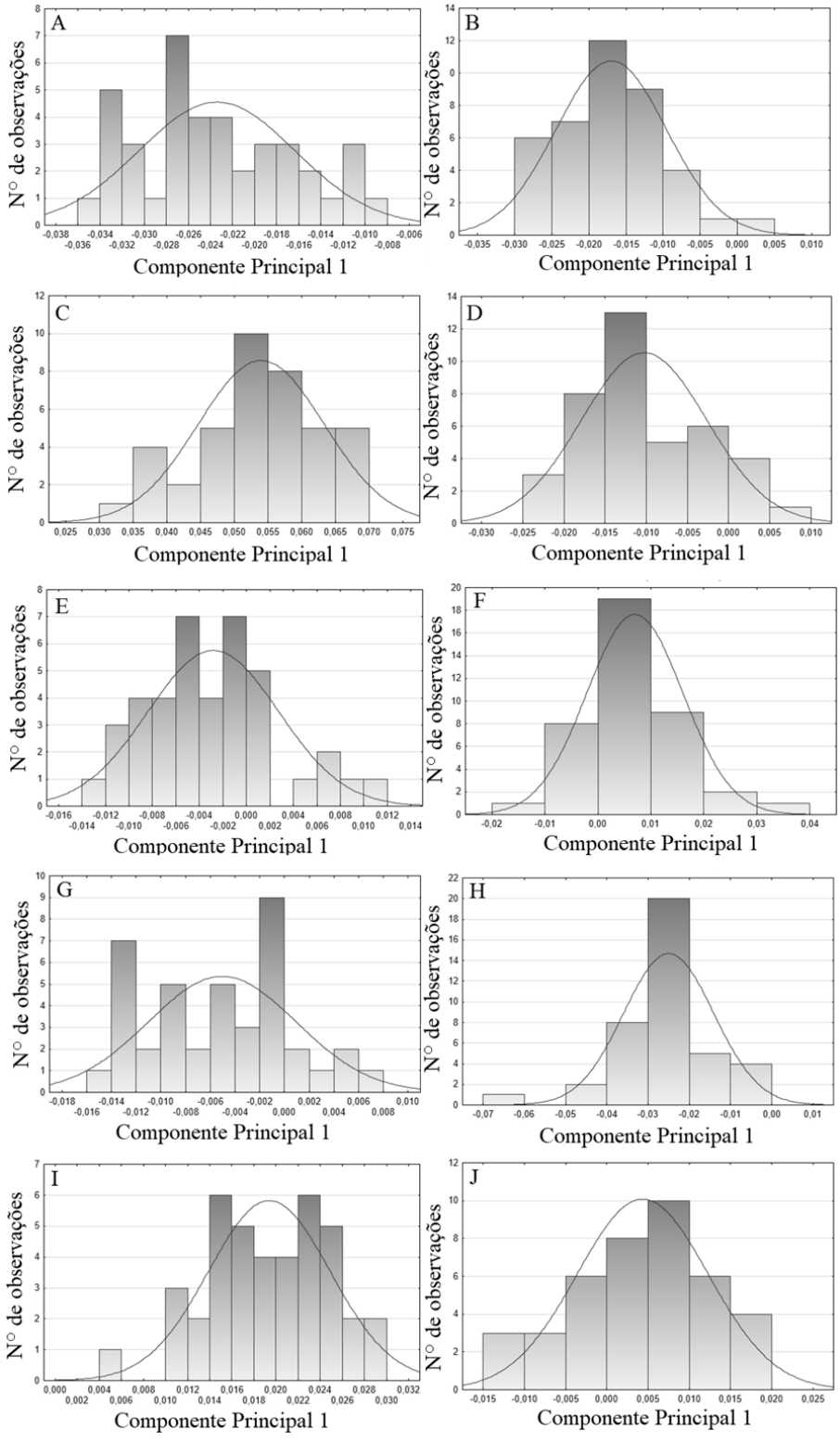
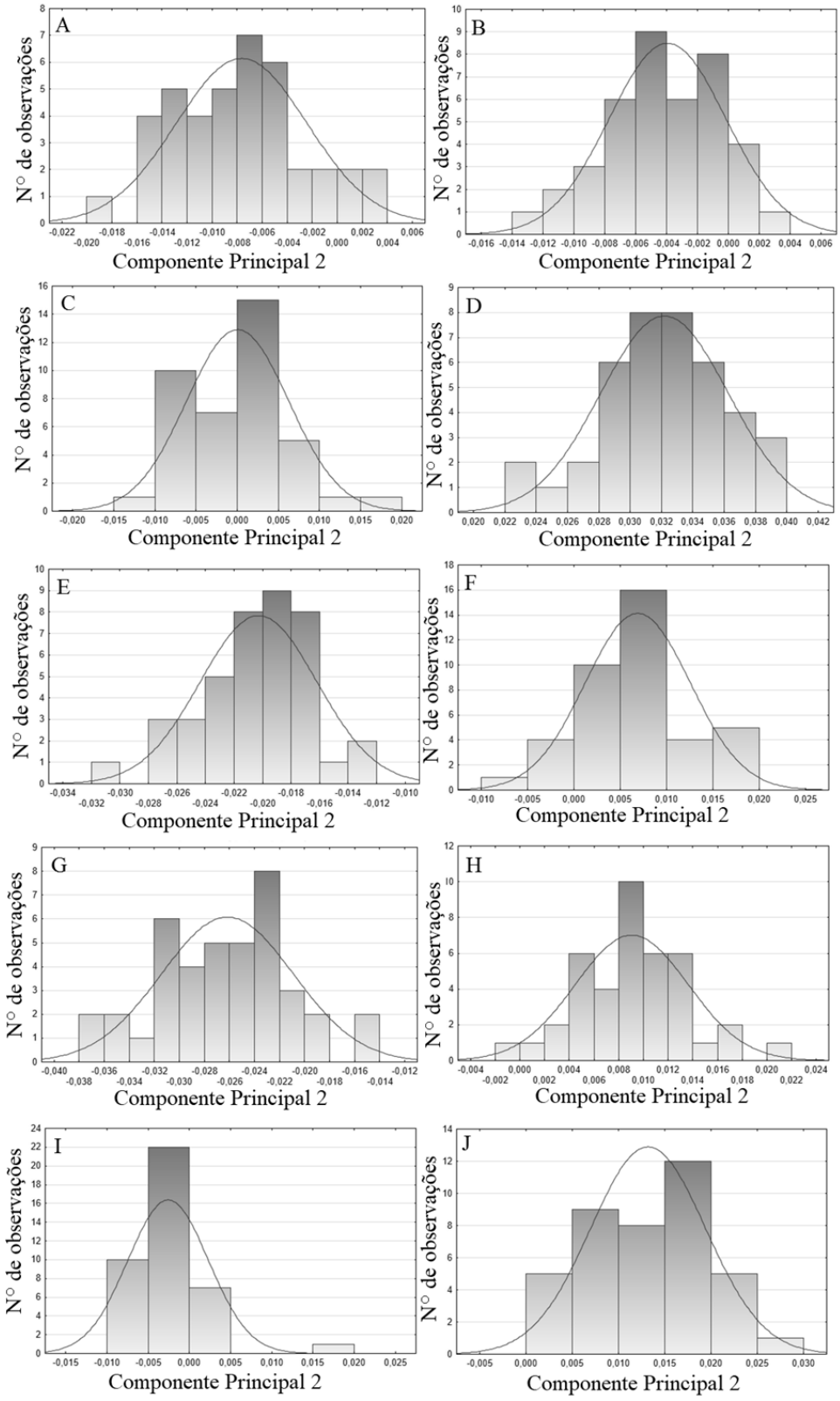
APÊNDICE B – Distribuição dos valores do Componente Principal 1 para (A.1) fêmeas especialistas, (A.2) fêmeas generalistas, (B.1) machos especialistas e (B.2) machos generalistas.



APÊNDICE C – Distribuição dos valores do Componente Principal 2 para (A.1) fêmeas especialistas, (A.2) fêmeas generalistas, (B.1) machos especialistas e (B.2), para as dez espécies.



APÊNDICE D - Distribuição dos valores do Componente Principal 1 para especialistas (A) *A. amita*, (B) *A. bistrigata*, (C) *A. grandis*, (D) *A. leptozona* e (E) *A. pseudoparallela* e generalistas (F) *A. obliqua*, (G) *A. serpentina*, (H) *A. sorocula*, (I) *A. striata* e (J) *A. zenildae*.



APÊNDICE E - Distribuição dos valores do Componente Principal 2 para especialistas (A) *A. amita*, (B) *A. bistrigata*, (C) *A. grandis*, (D) *A. leptozona* e (E) *A. pseudoparallela* e generalistas (F) *A. obliqua*, (G) *A. serpentina*, (H) *A. sorocula*, (I) *A. striata* e (J) *A. zenilda*