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

São Paulo

2020

Resumo

A morfologia alar de onze espécies de moscas-de-frutas da família Tephritidae, gênero *Anastrepha* foi analisada através da 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 que nas generalistas, as asas são 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 short and wide, 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.

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 das 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 *et al*., 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 polífagia. 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, no qual 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 através do 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 através de deformações em grades cartesianas, de maneira similar ao método proposto por Thompson (1917).

Nesse estudo utilizaremos 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.

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 a 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*.

Referências Bibliográficas

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

ALUJA, M. et al. 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.

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.

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

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

FLETCHER, Life history strategies of tephritid fruit flies. 1989.

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.

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.

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.

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.

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

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.

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. Peter. 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.

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. *et al*. Evolutionary patterns in specialist and generalist species of Anastrepha. In: **Fruit Flies**. Springer, New York, NY, p. 15-20, 1993.

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.; 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.

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.; 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.

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

PREZOTTO, L. F. *et al.* 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 as moscas-das-fruts, 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.; VRETOS, C.; PERONDINI, A.L.P. Evaluation of egg morphology from ethanol preserved females of Anastrepha sp. 2 aff. fraterculus (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 3, p. 527-529, 2003.

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.

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.

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.

SIVINSKI, J.M.; DODSON, G. Sexual dimorphism inAnastrepha 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, Fred 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. 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.

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.

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.