

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM

BIODIVERSIDADE

Vinícius Alcântara Carvalho Lima Santos

VARIAÇÃO NA MORFOLOGIA ALAR DE *DROSOPHILA NASUTA* (DIPTERA, DROSOPHILIDAE) EM BIOMAS INVADIDOS NA AMÉRICA DO SUL

VINÍCIUS ALCÂNTARA CARVALHO LIMA SANTOS

VARIAÇÃO NA MORFOLOGIA ALAR DE *DROSOPHILA NASUTA* (DIPTERA, DROSOPHILIDAE) EM BIOMAS INVADIDOS NA AMÉRICA DO SUL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, como requisito para a obtenção de título de Mestre em Biodiversidade.

Orientador: Prof. Dr. Martín Alejandro Montes

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Cristina Lauer Garcia

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal Rural de Pernambuco Sistema Integrado de Bibliotecas Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S237v Santos, Vinícius Alcântara Carvalho Lima
 VARIAÇÃO NA MORFOLOGIA ALAR DE DROSOPHILA NASUTA (DIPTERA, DROSOPHILIDAE) EM
 BIOMAS INVADIDOS NA AMÉRICA DO SUL / Vinícius Alcântara Carvalho Lima Santos. - 2024.
 52 f.

Orientador: Martin Alejandro Montes. Coorientador: Ana Cristina Lauer Garcia. Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Recife, 2024.

1. Invasões Biológicas. 2. Microevolução. 3. Morfometria. I. Montes, Martin Alejandro, orient. II. Garcia, Ana Cristina Lauer, coorient. III. Título

CDD 333.95

VINÍCIUS ALCÂNTARA CARVALHO LIMA SANTOS

VARIAÇÃO NA MORFOLOGIA ALAR DE *DROSOPHILA NASUTA* (DIPTERA, DROSOPHILIDAE) EM BIOMAS INVADIDOS NA AMÉRICA DO SUL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, como requisito para a obtenção de título de Mestre em Biodiversidade.

Data: 21/02/2024

Local: Sala virtual

Banca Examinadora:

Titulares:

Prof. Dr Martín Alejandro Montes Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof. Dr. João Andrade Dutra Filho Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Profa. Dra. Carolina Nunes Liberal Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Suplente:

Prof. Dr. José Eduardo Garcia Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Viver - não é? - é muito perigoso. Porque ainda não se sabe. Porque aprender-a-viver é que é o viver, mesmo.

João Guimarães Rosa

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade (PPGBio), pela infraestrutura, acolhida e conhecimentos disponibilizados.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, a instituição que me formou bacharel, e que me acolheu novamente durante o mestrado.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa e apoio financeiro ao projeto.

Ao meu Professor orientador, Martín Montes, que esteve presente durante todas as fases da elaboração dessa dissertação, fazendo sugestões pertinentes, além de ter realizado algumas das coletas utilizadas nesse trabalho.

À Professora Ana Garcia, minha coorientadora, que também esteve presente durante todas as fases da elaboração do trabalho e realizou coletas.

À Professora Juliana Araújo, que realizou coletas na Amazônia.

A Gustavo Henrique, que realizou coletas no Refúgio Charles Darwin.

Ao Professor Geraldo Moura, que foi solícito e tentou ajudar nas fotografias das asas

Aos professores que compuseram a banca de qualificação: José Eduardo Garcia, João Andrade Dutra, Carolina Nunes Liberal; e especialmente, Mauro de Melo Júnior, que foi con - vocado de última hora para participar como titular.

Aos professores do PPGBio, pela exposição e discussão de conteúdos que foram amplamente utilizados durante a confecção dessa dissertação.

À Secretária Cynara Leleu, que me ajudou a resolver muitos trâmites burocráticos e sanou inúmeras dúvidas no decorrer do mestrado.

Aos amigos e colegas do Grupo de Pesquisas em Ecologia, Genética e Evolução; por ajuda na rotina laboratorial e apoio emocional. citando nominalmente: Tereza, Júlia, Fátima, Tainah, Victor, Paulo, Jhonathan, Millena, Alícia, Pedro, Polyane, Lydia e Camila.

Aos amigos, que conheci de forma presencial ou virtual. pelo apoio emocional e conversas que ajudaram no meu desenvolvimento emocional e intelectual.

Aos meus pais e à minha avó, que me apoiaram em vários âmbitos e aceitaram minhas escolhas de vida.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	09
1.1 INVASÕES BIOLÓGICAS	09
1.2 DROSOFILÍDEOS	11
1.3 DROSOFILÍDEOS INVASORES NO BRASIL: DROSOPHILA NASUTA	12
1.4 BIOMAS BRASILEIROS COM OCORRÊNCIA DE DROSOPHILA NASUTA	13
1.5 ASAS DE DROSOFILÍDEOS E ESTUDOS MORFOMÉTRICOS	14
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
3. PÁGINA INICIAL DO ARTIGO	25
3.1 ABSTRACT	27
3.2 INTRODUCTION.	28
3.3 MATERIALS AND METHODS	30
3.4 RESULTS	32
3.5 DISCUSSION	
3.6 REFERENCES	36
3.7 FIGURE AND TABLE LEGENDS.	41
3.8 SUPPLEMENTARY MATERIAL	43
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	52

RESUMO

As espécies invasoras são uma das maiores causas de perda de biodiversidade no planeta. Acredita-se que as invasões continuarão a crescer no mundo. Um exemplo recente de invasão na América do Sul é a chegada da mosca Drosophila nasuta Lamb 1914. Em cerca de uma década de invasão, a espécie já ocupa 4,6 milhões de km² no Brasil, cerca de 55% do país. Drosophila nasuta apresenta um padrão ecológico diferente de outros drosofilídeos exóticos, preferindo locais conservados, sendo a possível responsável por reduções na abundância de drosofilídeos nativos após a sua invasão. Análises genéticas demonstraram diferenciação populacional de D. nasuta nas áreas coletadas. A morfologia alar dos drosofilídeos pode ser modificada por meio de diversos fatores, bióticos e abióticos. As asas apresentam vantagens nos estudos de morfologia, por serem estruturas resistentes e 2D, e já foram usadas extensivamente em estudos com drosofilídeos. O objetivo do trabalho foi observar se D. nasuta já apresenta diferenciação na morfologia alar nas áreas. Foram analisadas 240 asas direitas de machos de D. nasuta, coletados em oito localidades. Cada asa foi fotografada e digitalizada, posteriormente sendo realizadas 11 medidas a partir de pontos de referência. Foram realizadas Análises de Variância (ANOVA) e um teste de Tukey a posteriori para se observar se as áreas diferiram de forma estatisticamente significativa. As áreas que não diferiram significativa mente foram posteriormente agrupadas e foi realizada uma análise discriminante linear. Além disso, foi realizado um teste de Correlação de Pearson com fatores abióticos: temperatura mínima, máxima, e pluviosidade. As análises formaram dois grupos, um com asas maiores (Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica Sul) e outro com asas menores (Amazônia e Mata Atlântica Norte). Uma explicação para esse resultado é que as asas maiores permitam uma maior capacidade de sobrevivência em ambientes frios. Os resultados demonstraram que D. nasuta apresenta diferenças na morfologia alar nos diferentes locais coletados, indicando que a espécie se encontra bem adaptada aos biomas brasileiros.

Palavras-chave: Invasões Biológicas, Microevolução, Morfometria.

ABSTRACT

Invasive species are one of the biggest drivers of biodiversity loss on the planet. It is believed that invasions will continue to increase around the world. A recent example of invasion in South America is the arrival of the fly Drosophila nasuta Lamb 1914. After about a decade of invasion, the species already occupies 4.6 million km² in Brazil, around 55% of the country. D. nasuta presents an ecological pattern different from other exotic drosophilids, preferring conserved locations, being possibly responsible for reductions in the abundance of native drosophilids after its invasion. Genetic analyses show population differentiation of D. nasuta in the collected areas. The morphology of drosophilids can be modified through several factors, biotic and abiotic. Wings have advantages in morphology studies, as they are resistant and 2D structures, and have already been used extensively in studies with drosophilids. The objective of the work was to observe whether D. nasuta already presents differentiation in wing morphology in the areas. 240 right wings of males of D. nasuta, found in eight locations. Each wing was photographed and digitized, and 11 measurements were subsequently taken from reference points. Analysis of Variance (ANOVA) and an a posteriori Tukey test were performed to observe whether the areas differed in a statistically significant way. Areas that did not differ significantly were subsequently grouped and a linear discriminant analysis was performed. Furthermore, a Pearson Correlation test was performed with abiotic factors: minimum and maximum temperature, and rainfall. The analyzes formed two groups, one with the largest (Caatinga, Cerrado and South Atlantic Forest) and the other with the smallest (Amazonia and North Atlantic Forest). It is believed that a bigger wing allows better survivability in cold environments. The results demonstrated that D. nasuta presents differences in wing morphology in the different locations found, showing that the species is well adapted to Brazilian biomes.

Keywords: Biological invasion, Microevolution, Morphometry.

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 INVASÕES BIOLÓGICAS

Espécies exóticas são aquelas que saíram de sua área de distribuição original e passaram a ocupar novos territórios (ONU, 2002), sendo grande parte das introduções provocadas de forma deliberada ou não-intencional por seres humanos (VITOUSEK *et al.* 1997). Nas áreas introduzidas essas espécies passam a ser submetidas a diversas condições bióticas ou abióticas que podem limitar ou favorecer sua dispersão e adaptação (BLACKBURN, 2011). Do ponto de vista da diversidade genética, as espécies exóticas podem sofrer o chamado "efeito fundador" quando colonizam novos ambientes, uma vez que apenas uma pequena quantidade da variabilidade genética encontrada em sua área de distribuição original poderá estar presente no local invadido (WEAVER *et al.* 2021).

Caso as espécies exóticas comecem a causar prejuízos financeiros, afetem negativamente a saúde humana, ou provoquem danos ecológicos na nova área colonizada, essas espécies passam a ser designada como invasoras (ONU, 2002). Muitos são os exemplos de invasões biológicas que causaram algum, ou vários, desses problemas (FERRONATO *et al.* 2018). Em relação à saúde humana, pode-se citar o mosquito *Aedes aegypti*, antes encontrado exclusivamente na África (POWELL *et al.* 2018) e hoje distribuído em regiões tropicais de todo o planeta, sendo um dos principais vetores da dengue, uma doença infecciosa viral responsável pela morte de dezenas de milhares de pessoas ao redor do mundo (ZENG *et al.* 2021).

O fenômeno das espécies invasoras é o segundo maior causador da perda de biodiversidade no mundo, ficando atrás apenas da destruição de habitats (BELLARD *et al.* 2016). Por não terem coevoluído com as espécies da região colonizada, as espécies invasoras são responsáveis por desequilíbrios ecológicos nas áreas invadidas, o que acaba por pressionar as espécies nativas, e, em casos extremos, levá-las à extinção (SAX *et al.* 2007). Tais processos são ocasionados, por exemplo, pela exclusão competitiva, na qual a espécie invasora se sobrepõe competitivamente em relação a uma nativa que possua um nicho ecológico similar, de modo que a espécie nativa reduz sua abundância, ou sua área de distribuição (CHORNESKY e RANDALL, 2003). Como exemplo, pode-se citar um estudo com moscas-varejeiras necrófagas da Família Calliphoridae, no qual foi observado que larvas de uma espécie nativa começaram a sofrer consequências negativas conforme se aumentava a presença da larva de uma espécie invasora competidora (CARMO *et al.* 2018). Outros exemplos de processos deletérios ocasionados por espécies invasoras são o aumento da pressão de predação sobre as nativas, a disseminação de doenças pelas espécies introduzidas, ou a hibridização destas com as espécies nativas (CHORNESKY e RAN-DALL, 2003, TODESCO, 2016). Uma espécie de roedor que exemplifica os processos citados é *Rattus rattus*, originário da Ásia, atualmente presente em vários continentes e ilhas do planeta, sendo responsável por perdas de biodiversidade através de predação, transmissão de doenças, hibridização e exclusão competitiva. (WYATT, 2008; HARPER e BUNBURY, 2015;HEMAMALI e BOYAGODA, 2020).

As espécies invasoras também são responsáveis pelo fenômeno da homogeneização biótica, em que as comunidades de organismos de diferentes locais se tornam cada vez mais similares em sua composição de espécies, com o aumento da presença de espécies cosmopolitas e diminuição das nativas (OLDEN, 2008). A riqueza de espécies pode diminuir ou aumentar nesse processo, mas a biodiversidade sempre é prejudicada (OLDEN *et al.* 2004; NIEL-SEN *et al.* 2019). A homogeneização apresenta outras consequências como diminuição da variabilidade genética e extinção de certas relações ecológicas (PETSCH, 2016).

O impacto financeiro das invasões biológicas é enorme, e países como Brasil e Austrália gastam dezenas de bilhões de dólares anualmente em decorrência de prejuízos causados por espécies invasoras (ADELINO *et al.* 2021; BRADSHAW *et al.* 2021). Tais custos financeiros podem derivar de espécies invasoras que se comportam como pragas agrícolas, como o percevejo asiático (*Halyomorpha halys*) que tem a capacidade de se alimentar de pelo menos 170 espécies de plantas nas áreas de invasão, inclusive algumas com importância agrícola, como a macieira (SPARKS, 2020). Custos também são gerados através de espécies que modificam o ambiente de forma indireta pela sua densidade populacional. ou por padrões comportamentais, gerando gastos em medidas de controle populacional ou pela degradação ambiental. como os coelhos na Austrália (ALVES *et al.* 2022). Assim como outras causas, por exemplo, o tratamento de doenças ocasionadas por organismos invasores (RODRIGUEZ *et al.* 2015).

O processo de globalização, que favorece a circulação de mercadorias, materiais biológicos e pessoas ao redor do mundo, tem contribuído para o aumento no número de espécies invasoras (VENETTE e HUTCHISON, 2021). Estimativas apontam para um incremento de 36% nos casos de invasões ao redor do mundo até 2050 (SEEBENS *et al.* 2020).

Nos insetos, um caminho importante para a chegada de organismos potencialmente invasores em novos locais é o comércio internacional de frutas e vegetais (LICHTENBERG e OLSON, 2019). O comércio desses itens também ajuda a aumentar a disseminação de tais organismos dentro de um país, embora alguns desses insetos possuam a capacidade de difundirem-se em grandes distâncias sem a interferência humana (BENITO *et al.* 2016). Os insetos constituem o grupo animal mais diverso do planeta, com mais da metade das espécies descritas dentro desse reino (SOLLAI e SOLARI, 2022). Dentro da classe Insecta, há também as chamadas ordens megadiversas, que possuem mais de 80 mil espécies (RAFA- EL *et al.* 2009; PELLI e PIMENTA, 2019). Cinco ordens são reconhecidas como megadiver- sas: Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Hemiptera e Hymenoptera (PELLI e PIMENTA, 2019).

A ordem Diptera apresenta uma estimativa de 195,000 espécies descritas, que representam cerca de 10-15% da biodiversidade animal. e estão divididas em 190 famílias viventes (BADII, 2019). Várias espécies pertencentes à essa ordem são invasores conhecidos, como o já citado *Aedes aegypti*, mas também pragas agrícolas importantes, como *Ceratits capitata*, uma mosca da família Tephritidae que ataca frutas cultivadas (DE MAYER *et al.* 2002)

1.2 DROSOFILÍDEOS

Os insetos da Família Drosophilidae pertencem à Ordem Diptera, subordem Brachycera, sendo conhecidos popularmente como ''moscas-da-fruta''(HELFRICH- FÖRSTER *et al.* 2018). Apresenta mais de 4600 espécies descritas, distribuídas ao redor do mundo, sendo cerca de 300 encontradas no Brasil (BÄCHLI, 2023).

Os drosofilídeos medem entre 2-4 mm, apresentam cores pouco chamativas variando entre amarelo, marrom ou preto (PERVEEN, 2018). Utilizam como fonte principal de alimentação leveduras provenientes de várias fontes, como frutas em decomposição, cogumelos, flores, etc (SANTA-BRÍGIDA *et al.* 2019). Esses substratos também servem como locais de oviposição e alimentação dos indivíduos na fase larval (SANTA-BRÍGIDA *et al.* 2019). Algumas espécies apresentam dimorfismo sexual. sendo as fêmeas ligeiramente maiores que os machos, existindo a possibilidade desses portarem, adicionalmente, pentes tarsais e/ou padrões de coloração diferenciados nas asas (PERVEEN, 2018).

Esses animais possuem um ciclo de vida inteiramente terrestre, geralmente com duração de dias ou semanas, dependendo da espécie e de fatores como temperatura (AMOUD *et al.* 1991; PERVEEN, 2018). Uma fêmea adulta coloca cerca de 400 ovos, que demoram entre 12 e 15 horas para eclodir (PERVEEN, 2018). Passam cerca de quatro dias no estágio larval. e de dois a três dias em fase de pupa (PERVEEN, 2018).

Os drosofilídeos são considerados organismos modelo em diversas áreas da biologia, devido, entre outros aspectos, ao ciclo de vida curto, a facilidade de captura na natureza

e a simples manutenção dos organismos em laboratório (STEPHENSON e METCALFE, 2013). O padrão de venações das asas desses insetos também tem favorecido estudos ecológicos, genéticos e evolutivos (CORRÊA, 2015; NASCIMENTO *et al.* 2021). As asas dos drosofilídeos possuem um formato elíptico, com cinco venações longitudinais e duas transversais, um padrão que se mantém em toda a Família, embora haja variações de formato (CORRÊA, 2015; VIEIRA, 2019; ANTSON *et al.* 2022)

1.3 DROSOFILÍDEOS INVASORES NO BRASIL: DROSOPHILA NASUTA

No Brasil são conhecidas 14 espécies de drosofilídeos exóticos (YUZUKI e TIDON, 2020; CAVALCANTI *et al.* 2021). Algumas dessas espécies se tornam invasoras, ocasionando danos para a fruticultura do país (SANTOS, 2014; ANDREAZZA *et al.* 2016) e possíveis desequilíbrios ecológicos (GARCIA *et al.* 2008). Apenas na última década, três drosofilídeos invasores foram descobertos no país: *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931), *Zaprionus tuberculatus* Malloch, 1932; e *D. nasuta* Lamb, 1914 (DEPRÁ *et al.* 2014; VILELA e GOÑI, 2015; CAVALCANTI *et al.* 2021).

A espécie asiática *D. suzukii,* conhecida como "drosófila-da-asa-machada", foi registrada pela primeira vez no Brasil no bioma Mata Atlântica em 2013 (DEPRÁ *et al.* 2014), atualmente ocorre também no Cerrado (VIANA *et al.* 2023). É considerada uma praga para a fruticultura brasileira, causando prejuízos para as plantações de morango, goiaba e pitanga (SANTOS, 2014; ANDREAZZA *et al.* 2016).

Zaprionus tuberculatus é uma espécie nativa da África (EPPO, 2020) sendo exótica na região neotropical. em relação ao território brasileiro, foi relatada inicialmente no Cerrado (CAVALCANTI *et al.* 2021) e, logo após na Mata Atlântica da região Sudeste do país (MATEUS e MACHADO, 2022; MONTES e VILELA, 2022; FARIA & BITNER-MATHÉ, 2023). É considerada uma praga secundária de frutos (EPPO, 2020), depositando seus ovos preferencialmente em frutos danificados por pragas primárias, como *D. suzukii*, e elevando os prejuízos econômicos para a fruticultura (AMIRESMAEILI *et al.* 2019).

Drosophila nasuta é uma espécie originária da Ásia, presente também na África (KI-TAGAWA et al. 1982; GARCIA et al. 2022) notificada no Brasil em amostragens realizadas em 2013 no Cerrado, em Brasília (LEÃO et al. 2017). Considerando as invasões de drosofilídeos ocorridas nos últimos dez anos no Brasil, *D. nasuta* é a espécie que apresenta maior potencialidade de expansão geográfica, tendo invadido diferentes biomas do país, como a porção norte e sul da Mata Atlântica (VILELA e GOÑI, 2015; BATISTA et al. 2016; SILVA et al. 2020), o Cerrado (DEUS e ROQUE, 2016; LEÃO et al. 2017), a Caatinga (MONTES *et al.* 2021), a Amazônia (MEDEIROS *et al.* 2022), o Pantanal (MARTINS *et al.* 2023) e até mesmo a ilha de Fernando de Noronha (RAFAEL *et al.* 2020), ocupando mais de 4,6 milhões de km² no Brasil (MEDEIROS *et al.* 2022; MARTINS *et al.* 2023).

Embora não cause prejuízos para a fruticultura, tem sido observada a preferência de *D. nasuta* por ambientes conservados nas áreas invadidas (SILVA *et al.* 2020). Em áreas no norte da Mata Atlântica também foi observada uma redução da abundância relativa de drosofilídeos nativos após a chegada dessa invasora, especialmente na estação de maior pluviosidade, quando *D. nasuta* é mais abundante; um padrão pouco comum nas outras espécies de drosofilídeos exóticos da área (OLIVEIRA, 2021).

A espécie tem preferência por áreas com temperaturas entre 12°C a 30°C, e de pluviosidade maiores que 100 mm (GARCIA *et al.* 2022). A área de distribuição da espécie tende a aumentar com as mudanças climáticas (GARCIA *et al.* 2022). Estudos genéticos com *D. nasuta* demonstraram que ela já apresenta diferenças de estruturação populacional entre os biomas invadidos no Brasil (SANTOS *et al.* 2021).

1.3 BIOMAS BRASILEIROS COM OCORRÊNCIA DE DROSOPHILA NASUTA

As regiões biogeográficas são grandes delimitações territoriais compostas de vários ecossistemas terrestres, que possuem similaridade na sua composição biológica, e passado evolutivo comum (UDVARDY, 1975; KREFT e JETZ, 2010). São reconhecidas oito regiões biogeográficas no planeta (UDVARDY, 1975), sendo a América do Sul incluída na região Neotropical. que também engloba a maioria dos países da América Central e o México (KREFT e JETZ, 2010). Esta região é composta por vários biomas (NAVARRO *et al.* 2023), que são ecossistemas de larga escala, com biota característica, assim como os processos evolutivos e fatores abióticos que a moldaram ou criaram (MUCINA, 2018; NAVARRO *et al.* 2023).

O IBGE (2019) classifica os ambientes terrestres brasileiros em seis biomas, sendo eles: Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pampa e Pantanal. Nos quatro primeiros e, recentemente, no Pantanal, há registro de *D. nasuta* (MEDEIROS *et al.* 2022; MARTINS *et al.* 2023).

A Amazônia é a maior floresta equatorial do planeta, abrangendo nove países da América do Sul, e sendo um dos biomas com maior biodiversidade do mundo (MEIRELLES-FILHO, 2004). Apresenta desde áreas ao nível do mar, até montanhas de quase 2900 m, temperaturas médias variando entre 15°C e 26°C a depender da região, e alta pluviosidade, com a maioria das áreas atingindo entre 1800-3000 mm anuais (AB'SABER, 2002; CARVALHO *et al.* 2020). Esse bioma abrange 59% do território brasileiro (IBGE, 2019). A Mata Atlântica é uma floresta tropical úmida que ocupa aproximadamente 13% do território brasileiro, estendendo-se por 15 estados (IBGE, 2019). Apresenta alta precipitação anual (entre 1000 e 4000 mm), temperaturas médias anuais que variam de locais com aproximadamente 10°C até locais acima de 29°C, e altitudes começando no nível do mar, até locais mais altos que 1600 m (CÂMARA, 2003; TABARELLI, 2012; FERREIRA, 2020). Trata-se de um dos biomas com maior riqueza do mundo, apresentando muitas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção (TABARELLI *et al.* 2005), o que a coloca como um dos 35 *hotspots* mundiais (MITTERMEIER *et al.* 2004).

No Brasil, o Cerrado é o segundo maior bioma em extensão, ocupando 24% do território nacional. concentrando-se principalmente no planalto central brasileiro (IBGE 2019). É a savana mais biodiversa do planeta (WALTER *et al.* 2008). A temperatura média varia entre 18 e 27°C, a pluviosidade oscila entre 1300 e 1600 mm anuais e a altitude entre 300 e 1600 m (ALMEIDA *et al.* 2008). Esse bioma é reconhecido internacionalmente como um dos *hotspots* para conservação (MITTERMAYER *et al.* 1999).

A Caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro, ocupando aproximadamente 10% do território nacional (IBGE, 2019). Esse bioma ocorre principalmente na região Nordeste do Brasil e apresenta precipitação média anual entre 450 e 650 mm, temperatura média que varia entre 18 e 29°C e a altitude média entre 400 e 700 m (FREIRE, 2018).

1.4 ASAS DE DROSOFILÍDEOS E ESTUDOS MORFOMÉTRICOS

Os insetos são os primeiros animais alados do planeta e suas asas são órgãos essenciais para sua sobrevivência, pois, além do voo, auxiliam na escolha de parceiros, na recepção sensorial e na termorregulação (LAMBERT, 1982; PASS *et al.* 2018). Como consequência de tantos atributos, as asas desses organismos são fortemente moldadas por forças evolutivas, incluindo seu formato e tamanho (HERNÁNDEZ *et al.* 2010, ÖNDER e AKSOY, 2022). As asas dos insetos têm sido utilizadas em estudos morfométricos para diversos fins, como avaliar aspectos adaptativos, reconhecer populações e linhagens evolutivas, ou identificar espécies com importância médica (HENRIQUES *et al.* 2019; SOUZA *et al.* 2020).

As asas dos drosofilídeos vêm sendo utilizadas como objeto de estudo em trabalhos de morfometria por uma série de vantagens práticas, como sua resistência, seu padrão bidimensional. o fato de serem translúcidas e por apresentar uma morfologia simples, com padrão de venação conservado intra e interespecificamente nesta família (HOULE *et al.* 2003; COR-RÊA, 2015; NASCIMENTO *et al.* 2021).

Nos drosofilídeos variações populacionais na morfologia alar foram identificadas e interpretadas como resultantes da ação de diversos fatores ambientais, como altitude, latitude, temperatura ou umidade e diferenças sazonais (LOH e BITNER-MATHÉ, 2005; PRZYBYLSKA *et al.* 2014; FARTYAL *et al.* 2018; ÖNDER e AKSOY, 2022). A dieta também pode causar modificações no formato das asas, especialmente se a população está há muitas gerações exposta à mesma dieta (TRAJAKOVIĆ *et al.* 2013). Esses efeitos também têm sido relatados para espécies invasoras. Em apenas duas décadas de invasão na América do Sul a espécie nativa da Europa *D. subobscura* apresentou uma clina de variação no tamanho alar, apresentando asas maiores que em sua área de distribuição original (GILCH-RIST *et al.* 2004).

Geralmente, as espécies de drosofilídeos apresentam asas maiores em locais secos, com alta altitude, ou frios, e asas menores em locais quentes e úmidos (KENNINGTON *et al.* 2003, KLEPSATEL *et al.* 2013, ÖNDER e AKSOY, 2022). Nesses insetos, asas maiores têm sido associadas a uma maior capacidade de voo, populações com asas maiores conseguem levantar voo mais facilmente em ambientes frios (FRAZIER *et al.* 2008; PRZYBYLSKA *et al.* 2014). Corpos e asas maiores também estão relacionados com a termorregulação, pois enquanto um maior tamanho do corpo proporciona mais armazenamento de lipídios, asas maiores fazem com que o gasto energético de levantar voo e mantê-lo seja reduzido (FRAZIER *et al.* 2008; SHEARER *et al.* 2016). Corpos maiores também são menos suscetíveis à dissecação, sendo vantajoso em ambientes com menor umidade (PRZYBYLSKA *et al.* 2014).

Estudos realizados com machos de *D. melanogaster* demonstraram que indivíduos com asas alongadas conseguem se reproduzir com maior sucesso, pois são mais atrativos para as fêmeas em comparação aos machos com asas arredondadas (TRAJAKOVIĆ *et al.* 2013).

Variações na morfologia alar dos drosofilídeos são reconhecidas como bons indicadores demonstrativos de seu potencial adaptativo em diferentes territórios (GILCHRIST *et al.* 2004; LOH e BITNER-MATHÉ, 2005; PAJAČ *et al.* 2018).

Uma espécie, como a *D. nasuta*, que ocupa ambientes tão heterogêneos como os biomas de Mata Atlântica, Caatinga, Cerrado, Amazônia e Pantanal (VILELA e GOÑI. 2015; DEUS e ROQUE, 2016; MONTES *et al.* 2021; MEDEIROS *et al.* 2022; MARTINS *et al.* 2023), está submetida a uma série de fatores ambientais e hereditários que podem afetar sua morfologia alar e facilitar seu sucesso adaptativo nessas áreas.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AB'SABER, A. N. Bases para o estudo dos ecossistemas da Amazônia brasileira . Estudos Avançados, [S. l.], v. 16, n. 45, p.7-30, 2002. Disponível em: https://www.revistas.usp.br/eav/article/view/9866. Acesso em: 2 ago. 2023.

BENITO, N. P.; LOPES-DA-SILVA, M.; DOS SANTOS, R. S. S. Potential spread and economic impact of invasive *Drosophila suzukii* in Brazil. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 571–578, 2016.

CÂMARA, I. G. Brief history of conservation in the Atlantic Forest. In: GALINDO-LEal. C., CÂMARA, I.G. (Eds.). The Atlantic Forest of South America: Biodiversity Status, Thre- ats, and Outlook. Washington: **CABS and Island Press**, 2003. P. 31-42

ADELINO, J. R. P. *et al.* The economic costs of biological invasions in Brazil: a first assessment. **NeoBiota**, v. 67, p. 349–374, 2021.

FERREIRA I. J. M. Impacto das mudanças climáticas sobre a biomassa acima do solo em fragmentos de Mata Atlântica ; 2020; Dissertação (Mestrado em Sensoriamento Remoto) – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE

ALMEIDA, S. P. de RIBEIRO, J. F. SANO, S. M. Cerrado: ecologia e flora. 2008.

TABARELLI, M. *et al.* A conversão da floresta atlântica em paisagens antropicas: Lições para a conservação da diversidade biologica das florestas tropicais. **Interciencia**, v.37, n.2, p. 88–92, 2012.

ALVES, J. M. *et al.* A single introduction of wild rabbits triggered the biological invasion of Australia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 119, n. 35, p. 1–12, 2022.

AMIRESMAEILI N. *et al.* Can exotic drosophilids share the same niche of the invasive *Drosophila suzukii*? Journal of Entomological and Acarological Research, 51: 8-15. 2019

AMOUD M. A; DIAB F. M., ABOU-FANNAH S. S. M. *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) in Saudi Arábia and effect of temperature on life cycle. J. King Saud Univ 3(2):111-121. 1991.

ANDREAZZA F. *et al. Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) arrives at Minas Gerais State, a Main Strawberry Production Region in Brazil. **Florida Entomologist**, 99: 796-798. 2016 ANTSON, H.; TÕNISSOO, T.; SHIMMI, O. The developing wing crossvein of *Drosophila melanogaster*: a fascinating model for signaling and morphogenesis. **Fly**, v. 16, n. 1, p. 118–127,2022.

BÄCHLI G. TaxoDros: The Database on Taxonomy of Drosophilidae. Disponível em: https://www.taxodros.uzh.ch/> Acesso 26/07/2023

BADII. B. Phylogeny and Functional Morphology of Diptera (Flies). in SARWAR, Muhammad.Life Cycle and Development of Diptera. 2020

BATISTA M.R.D. *et al.* Occurrence of invasive species *Drosophila nasuta* in Atlantic rainforest, Brazil. **Drosophila Information Service**, 99:44. 2016

BELLARD, C.; CASSEY, P.; BLACKBURN, T. M. Alien species as a driver of recent extinctions. **Biology Letters**, v. 12, n. 4, 2016.

BITNER-MATHÉ, B. C.; KLACZKO, L. B. Size and shape heritability in natural populations of *Drosophila mediopunctata*: Temporal and microgeographical variation. **Genetica**, v. 105, n. 1, p.35–42, 1999.

BLACKBURN, T. M. *et al.* A proposed unified framework for biological invasions. **Trends** in Ecology and Evolution, v. 26, n. 7, p. 333–339, 2011.

BRADSHAW, C. J. A. *et al.* Detailed assessment of the reported economic costs of invasive species in Australia. **NeoBiota**, v. 67, p. 511–550, 2021.

CARMO, R. F. R. *et al.* How do invasive species affect native species? Experimental evidence from a carrion blowfly (Diptera: Calliphoridae) system. **Ecological Entomology**, v. 43, n. 4, p. 483–493, 2018.

CARVALHO, S. *et al.* A changing Amazon rainforest: Historical trends and future projections under post-Paris climate scenarios. **Global and Planetary Change**, v. 195, p. 103328, 2020.

CASTRO-INSUA, A.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, C.; BASELGA, A. Dissimilarity measures affected by richness differences yield biased delimitations of biogeographic realms. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 9–11, 2018.

CAVALCANTI F.A.G.S. *et al.* Geographic expansion of an invasive fly: first record of *Zaprionus tuberculatus* (Diptera: Drosophilidae) in the Americas. **Annals of the Entomological Society of America**, 115: 267–274p. 2021

CAVALCANTI, F. A. G. S. *et al.* Geographic Expansion of an Invasive Fly: First Record of *Zaprionus tuberculatus* (Diptera: Drosophilidae) in the Americas. **Annals of the Entomologi-**

cal Society of America, v. 115, n. 3, p. 267–274, 2022.

CHORNESKY, E. A.; RANDALL, J. M. The threat of invasive alien species to biological diversity: Setting a future course. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 90, n. 1, p. 67–76, 2003.

CORRÊA. D. M. Evolução Experimental da Forma da Asa de *Drosophila melanogaster*; 2015; Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro.

GARCIA. A. C. L. *et al.* Current and future potential global distribution of the invading species Drosophila nasuta (Diptera: Drosophilidae) . **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 135, n. 1, p. 208–221, 2022.

CSŐSZ, S. *et al.* Insect morphometry is reproducible under average investigation standards. **Ecology and Evolution**, v. 11, n. 1, p. 547–559, 2021.

DE MEYER, M. *et al.* On the geographic origin of the Medfly Ceratitis capitata (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Proceedings of the 6th International Symposium on fruit flies of economic importance**, n. May 2002, p. 45–53, 2004.

SOUZA, A. L. S. *et al.* Wing geometric morphometrics for identification of mosquito species (Diptera: Culicidae) of neglected epidemiological importance. **Acta Tropica**, v. 211, n. June,

p. 105593, 2020.

DEPRÁ, M. *et al.* The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in the South American continent. **Journal of Pest Science**, v. 87, n. 3, p. 379–383, 2014.

DEUS, P. H. M. & ROQUE, F. High abundance of exotic drosophilids in a gallery forest of the Brazilian savanna. Drosophila Information Service, 99: 44–47. 2016.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (EPPO).

Mini datasheet on Zaprionus tuberculatus (Diptera: Drosophilidae). 2020 Disponível em: https://gd.eppo.int/download/doc/1437_minids_ZAPRTU.pdf. Acesso em 30/07/2023

FARIA F.S.; BITNER-MATHÉ B.C. Occurrence of *Zaprionus tuberculatus* on Southeastern Brazil coastal plain, in Rio de Janeiro. **Drosophila Information Service**, 106:1-2. 2023

PESSOA, M. S. *et al.* Reproductive phenology of miconia mirabilis (Melastomataceae) within three distinct physiognomies of Atlantic Forest, Bahia, Brazil. **Biota Neotropica**, v.12, n. 2, p. 49–56, 2012.

FERRONATO, P. *et al.* A Phylogeographic Approach to the *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) Invasion in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 1, p. 425–433, 2018.

FRAIMOUT, A. *et al.* Deciphering the routes of invasion of *Drosophila suzukii* by Means of ABC Random Forest. **Molecular Biology and Evolution**, v. 34, n. 4, p. 980–996, 2017.

FRAZIER, M. R. *et al.* Cold rearing improves cold-flight performance in *Drosophila* via changes in wing morphology. **Journal of Experimental Biology**, v. 211, n. 13, p. 2116–2122, 2008.

FREIRE, N. C. F. Atlas das caatingas: o único bioma exclusivamente brasileiro. Fundação Joaquim Nabuco, Editora Massangana. 2018

GARCIA A.C.L.; *et al.* Two decades of colonization of the urban environment of Porto Alegre, southern Brazil, by *Drosophila paulistorum* (Diptera, Drosophilidae). **Iheringia Ser Zool** 98: 329-338p. 2008

GILCHRIST, G. W. *et al.* A time series of evolution in action: A latitudinal cline in wing size in South American *Drosophila subobscura*. **Evolution**, v. 58, n. 4, p. 768–780, 2004.

HARPER, G. A.; BUNBURY, N. Invasive rats on tropical islands: Their population biology and impacts on native species. **Global Ecology and Conservation**, v. 3, p. 607–627, 2015.

HELFRICH-FÖRSTER, C.; BERTOLINI, E.; MENEGAZZI, P. Flies as models for circadian clock adaptation to environmental challenges. **European Journal of Neuroscience**, v. 51, n. 1, p. 166–181, 2020.

HEMAMALI, P. P. C.; BOYAGODA, S. H. Historic black rat invasions into Sri Lanka lead to hybridization forming two sub-lineages in the *Rattus rattus* species complex. Ceylon Journal of Science, v. 49, n. 4, p. 433, 2020

HENRIQUES, D. *et al.* Drones and Single Nucleotide Polymorphisms Provide Similar Genetic Structure in the Iberian. **Insects**, v. 11, n. 89, 2019.

HERNÁNDEZ, L., N. *et al.* Wing shape variations in an invasive moth are related to sexualdimorphism and altitude. **Bulletin of Entomological Research**, v. 100, n. 5, p. 529–541, 2010.

HOULE, D. et al. Automated measurement of Drosophila wings. [S. l.: s. n.], 2003.

IBGE. Biomas e sistema costeiro-marinho do Brasil: compatível com a escala 1:250 000. Rio de Janeiro, 2019. 164 p. (Série relatórios metodológicos, v. 45). Disponível em: https:// biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101676.pdf. Acesso em: 27 jul. 2023. KENNINGTON, W. J. *et al.* Rapid laboratory evolution of adult wing area in *Drosophila melanogaster* in response to humidity. **Evolution**, v. 57, n. 4, p. 932–936, 2003.

KITAGAWA O. *et al.* Genetic studies of the *Drosophila nasuta* subgroup, with notes on distribution and morphology. **Japanese Journal of Genetics**, 57:113–141. 1982

KLEPSATEL, P. *et al.* Similarities and differences in altitudinal versus latitudinal variation for morphological traits in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**, v. 68, n. 5, p. 1385–1398, 2014.

KREFT, H.; JETZ, W. A framework for delineating biogeographical regions based on species distributions. Journal of Biogeography, v. 37, n. 11, p. 2029–2053, 2010.

LAMBERT, D. M. Mate recognition in members of the *Drosophila nasuta* complex. Animal Behaviour, v. 30, n. 2, p. 438–443, 1982.

LICHTENBERG, E.; OLSON, L. J. Tariffs and the risk of invasive pest introductions in commodity imports: Theory and empirical evidence. **Journal of Environmental Economics and Management**, v. 101, 2019.

LOH, R.; BITNER-MATHÉ, B. C. Variability of wing size and shape in three populations of a recent Brazilian invader, *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae), from different habitats. **Genetica**, v. 125, n. 2–3, p. 271–281, 2005.

MARTINS, T. C. D. S. *et al. Drosophila nasuta* (Diptera, Drosophilidae) in Brazil: a decade of invasion and occupation of more than half of the country. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 95, p. 1–10, 2023.

MATEUS R.P.; MACHADO L.P.B. Survey of Drosophilidae fauna in an interior Atlantic Forest fragment in Southeastern Brazil reveals the occurrence of the invasive *Zaprionus tuberculatus*. Drosophila Information Service, 105:53-56p. 2022

MEDEIROS, H. F. *et al.* First Records of the Invading Species *Drosophila nasuta* (Diptera: Drosophilidae) in the Amazon. **Neotropical Entomology**, p. 493–497, 2022.

MEIRELLES-FILHO J. O Livro de ouro da Amazônia: Mitos e verdades sobre a região mais cobiçada do planeta. Ediouro, Rio de Janeiro. 2004

MITTERMEIER R.A. *et al.* Hotspots Revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. **CEMEX Conservation International.** 392 p. 2004

MITTERMEYER, R. A.; MYERS, N.; MITTERMEYER, C. G. Hotspots earth's biologically richest and most endareged terrestrial ecoregions. New York: **CEMEX Conservation International.** 1999.

MONTES L.F.; VILELA C.R. *Zaprionus tuberculatus* was collected in the metropolitan region of São Paulo, state of São Paulo, Brazil. **Drosophila Information Service**.105:56-59p. 2022

MONTES, M. A. *et al.* Invasion and Spreading of *Drosophila nasuta* (Diptera, Drosophilidae) in the Caatinga Biome, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 50, n. 4, p. 571–578, 2021.

MUCINA, L. Biome: evolution of a crucial ecological and biogeographical concept. New **Phytologist**, v. 222, n. 1, p. 97–114, 2019.

NASCIMENTO, L. C.; ROQUE, F.; TIDON, R. Wing symmetry in wild drosophilids (Insecta, Diptera) is not affected by season in the Brazilian Cerrado. **Herigeriana**, v. 15, p. 17–26, 2021.

NAVARRO, G.; LUEBERT, F.; MOLINA, J. A. South American terrestrial biomes as geocomplexes: a geobotanical landscape approach. **Vegetation Classification and Survey**, v. 4, n. May, p. 75–114, 2023.

NIELSEN, F. T. *et al.* More is less: net gain in species richness, but biotic homogenization over 140 years. **Ecology Letters**, v. 22, n. 10, p. 1650–1657, 2019.

OLDEN, J. D. Biotic Homogenization. ELS. 2008.

OLDEN, J. D. *et al.* Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 19, n. 1, p. 18–24, 2004.

OLIVEIRA. G. H. Avaliação da homogeneização biótica e preferência ambiental de drosofilídeos invasores no norte da Floresta Atlântica; 2021; Dissertação (Mestrado em Ecologia) -Universidade Federal Rural de Pernambuco – SEDE

ÖNDER, B. Ş.; AKSOY, C. F. Seasonal variation in wing size and shape of *Drosophila melanogaster* reveals rapid adaptation to environmental changes. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1–10, 2022.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). Sexta conferência das partes, decisão VI/23. 2002.

PAJAČ Ž. I. *et al.* Effect of fruit host on wing morphology in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): A first view using geometric morphometrics. **Entomological Research**, v. 48, n.4, p. 262–268, 2018.

PASS, G. Beyond aerodynamics: The critical roles of the circulatory and tracheal systems in maintaining insect wing functionality. Arthropod Structure and Development, vol. 47, no. 4, p. 391–407. 2018. Disponível em: <u>https://doi.org/10.1016/j.asd</u>. 2018.

PERVEEN, F. K. Introduction to Drosophila. 2018

PETSCH, D. K. Causes and consequences of biotic homogenization in freshwater ecosystems. **International Review of Hydrobiology**, v. 101, n. 3–4, p. 113–122, 2016.

PIMENTA, P. C.; PELLI, A. The life of dragonflies: order Odonata. Ciência e Natura, p. 43, 2019.

POWELL, J. R.; GLORIA-SORIA, A.; KOTSAKIOZI, P. Recent history of Aedes aegypti: Vector genomics and epidemiology records. **BioScience**, v. 68, n. 11, p. 854–860, 2018.

PRZYBYLSKA, M. S.; ROQUE, F.; TIDON, R. Drosophilid species (Diptera) in the Brazilian savanna are larger in the dry season. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 107, n. 5, p. 994–999, 2014.

RAFAEL J.A., *et al.* Insect (Hexapoda) diversity in the oceanic archipelago of Fernando de Noronha, Brazil: updated taxonomic checklist and new records. **Revista Brasileira de Ento-mologia**, 64: 1-26. 2020

RAFAEL, J. A.; AGUIAR, A. P.; AMORIM, D. DE S. Knowledge of insect diversity in Brazil: challenges and advances. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 5, p. 565–570, 2009.

RODRIGUEZ, R. C. *et al.* Costs of dengue to the health system and individuals in Colombia from 2010 to 2012. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 92, n. 4, p. 709–714, 2015.

SANTA-BRÍGIDA, R. *et al.* Mycophagous drosophilidae (diptera) guild and their hosts in the Brazilian amazon. **Papeis Avulsos de Zoologia**, v. 59, p. 0–4, 2019.

SANTOS, M. F. S. *et al.* Identificação genética e monitoramento da espécie invasora *Dro-sophilanasuta* (Diptera, Drosophilidae) no norte da Floresta Atlântica. XXIII Encontro de Genética do Nordeste (XXIII ENGENE). Anais. 2021.

SANTOS. R.S.S. *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) atacando frutos de morangueiro no Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, 10:4005–4011p. 2014

SAX, D. F. *et al.* Ecological and evolutionary insights from species invasions. Trends in Ecology and Evolution, v. 22, n. 9, p. 465–471, 2007.

SEEBENS, H. *et al.* Projecting the continental accumulation of alien species through to 2050. **Global Change Biology**, v. 27, n. 5, p. 970–982, 2020.

SHEARER, *et al.* Seasonal cues induce phenotypic plasticity of *Drosophila suzukii* to enhance winter survival. *BMC Ecology*, v. 16, n. 1, p. 1–18, 2016.

SILVA, D. G. *et al.* Geographic expansion and dominance of the invading species *Drosophila nasuta* (Diptera, Drosophilidae) in Brazil. **Journal of Insect Conservation**, v. 24, n. 3, p. 525–534, 2020.

SOLLAI, G.; SOLARI, P. An Overview of "Insect Biodiversity". Diversity, v. 14, n. 2, 2022.

SPARKS, M. E. *et al.* Brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stål), genome: Putative underpinnings of polyphagy, insecticide resistance potential and biology of a top worldwide pest. **BMC Genomics**, v. 21, n. 1, p. 1–26, 2020.

STEPHENSON, R.; METCALFE, N. H. *Drosophila melanogaster*: A fly through its history and current use. Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh, v. 43, n. 1, p. 70–75, 2013.

TABARELLI M, *et al.* Challenges and opportunities for Biodiversity Conservation in the Brazilian Atlantic Forest. **Conservation Biology**, 19:695-700. 2005

TODESCO, M. *et al.* Hybridization and extinction. **Evolutionary Applications**, v. 9, n. 7, p. 892–908, 2016.

TRAJKOVIĆ, J; PAVKOVIĆ-LUČIĆ, S; SAVIĆ, T. Mating success and wing morphometry in drosophila melanogaster after long-term rearing on different diets. Behaviour, v. 150, n. 12,

p. 1431–1448, 2013.

UDVARDY, M. D. F. A classification of the biogeographical provinces of the world. IUCN Occasional Paper, nº 18. Morges, Switzerland: **IUCN**. 1975.

VENETTE, R. C.; HUTCHISON, W. D. Invasive Insect Species: Global Challenges, Strategies & Opportunities. Frontiers in Insect Science, v. 1, n. April, p. 8–11, 2021.

VIANA J.P.C.; *et al.* Establishment and Expansion Scenario of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Central Brazil. **Neotropical Entomology**, 1:1-12p. 2023

VIEIRA, Lara Helena Pires. Variação na morfologia alar de Drosofilídeos (Insecta, Diptera) e sua relação com a diversidade de espécies da assembleia. 2019. 61, lv f., il. Dissertação (Mes - trado em Ecologia)—Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

VILELA, C. R.; GOÑI, B. Is *Drosophila nasuta* Lamb (Diptera, Drosophilidae) currently reaching the status of a cosmopolitan species? **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 4, p.346–350, 2015.

VITOUSEK, P. M. *et al.* Introduced species: A significant component of human-caused globalchange. **New Zealand Journal of Ecology**, v. 21, n. 1, p. 1–16, 1997. WALTER, B. M. T., CARVALHO, A. D., & RIBEIRO, J. F. O conceito de savana e de seu componente Cerrado. In: Cerrado: ecologia e flora, , 21-45p. 2008

WEAVER, S. C. *et al.* Population bottlenecks and founder effects: implications for mosquitoborne arboviral emergence. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 184–195, 2021.

WYATT, K. B. *et al.* Historical mammal extinction on Christmas Island (Indian Ocean) correlates with introduced infectious disease. **PLoS ONE**, v. 3, n. 11, 2008.

YUZUKI, K.; TIDON, R. Identification key for drosophilid species (Diptera, Drosophilidae) exotic to the Neotropical Region and occurring in Brazil. Revista Brasileira de Entomologia, v. 64, n. 1, p. 1–9, 2020.

ZENG, Z. *et al.* Global. regional. and national dengue burden from 1990 to 2017: A systematic analysis based on the global burden of disease study 2017. **E. Clinical Medicine**, v. 32, p. 100712, 2021.

Adaptação a diferentes temperaturas resulta em divergência populacional no tamanho das asas da mosca invasora *Drosophila nasuta* no Brasil

Vinícius Alcântara Carvalho Lima Santos¹, Ana Cristina Lauer Garcia² e Martín Alejandro Montes¹

 1- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Campus Dois Irmãos,Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, CEP 52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil.
 2 - Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Rua Alto do Reservatórios/n, CEP 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil.

Status: submetido

Revista: Bulletin of Entomological Research

Qualis: A2

Normas: https://www.cambridge.org/core/journals/bulletin-of-entomological-research/information/ author-instructions/preparing-your-materials

1	Running head: Wing-size adaptation of Drosophila nasuta
2	
3	Adaptation to different temperatures results in wing size divergence of the
4	invading species Drosophila nasuta (Diptera: Drosophilidae) in Brazil
5	
6	Vinícius Alcântara Carvalho Lima Santos ¹ , Ana Cristina Lauer Garcia ^{2*} and
7	Martín Alejandro Montes ^{1*}
8	
9	1- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Campus
10	Dois Irmãos, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, CEP 52171-900, Recife, Pernambuco,
11	Brazil.
12	2 - Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Rua Alto do
13	Reservatórios/n, CEP 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil.
14	
15	*Authors for correspondence:
16	Ana Cristina Lauer Garcia - Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico
17	de Vitória, Rua do Alto do Reservatório, s/n, Bairro Bela Vista, 55608-680, Vitória de
18	Santo Antão, Pernambuco, Brazil. Phone: +55 (81) 3523 3351. E-mail:
19	anacristina.garcia@ufpe.br
20	
21	Martín Alejandro Montes- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
22	de Biologia, Campus Dois Irmãos, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, CEP 52171-900,
23	Recife, Pernambuco, Brazil. Phone +55 (81) 3320 6300. E-mail:
24	martin.montes@ufrpe.br

26 ORCID

27 Vinícius Alcântara Carvalho Lima Santos - https://orcid.org/0009-0006-8015-4828

28 Martín Alejandro Montes - https://orcid.org/ 0000-0002-9051-0287

29 Ana Cristina Lauer Garcia - https://orcid.org/0000-0001-8352-6080

- 30
- 31

32 Abstract

33 Invasive species threaten biodiversity on a global scale. The success of invasions depends on the species' adaptation to the different environmental conditions of new 34 35 territories. Studies show that invasive insects present evolutionary changes in wing morphology in areas they are introduced to in response to abiotic conditions. In the last 36 37 decade, the Asian Drosophila nasuta fly invaded and spread widely throughout Brazil. 38 This insect has preferences for conserved environments and is related to the likely 39 reduction in the abundance of native drosophilids in the Atlantic Forest. Ecological niche 40 modeling analyzes showed that rainfall and temperature are the main factors which 41 delimit the geographic distribution of this species. Herein, we verified the existence of significant differences in the wing sizes of D. nasuta in Brazil and evaluated the 42 43 influence of abiotic factors (rainfall and temperature) on the observed patterns. We 44 conducted 11 measurements on the right-side wings of 240 D. nasuta males collected in 45 the Amazon Forest, Caatinga, Cerrado and Atlantic Forest. Statistical analyzes revealed 46 the existence of two groups: one with larger wings, which brought together samples from 47 locations with the lowest temperatures; and one with smaller wings, which corresponded to places with a hotter climate. One explanation for this result is the fact that large wings 48 49 favor greater heat capture by flies in colder climates, increasing their survival chances in these environments. These rapid evolutionary changes in D. nasuta in this first decade of 50

invasion in Brazil reveal the enormous adaptive potential of this species in thismegadiverse country.

53

54 Keywords: abiotic factors; Brazilian biomes; exotic species; insects; microevolution;
55 morphometry.

- 56
- 57
- 58

Introduction

Biological invasions cause global changes due to their impacts on ecosystems and
biodiversity (Pyšek *et al.*, 2020), being one of the main threats to species extinctions
(Mollot *et al.*, 2017). International trade, transport and tourism have contributed to an
exponential increase in invasive species worldwide in recent decades (Seebens *et al.*,
2018).

Invasive species must present adaptive responses to different selective pressures faced in the environments where they are introduced in order to ensure their survival and colonization of new habitats (Schäfer *et al.*, 2018). Studies on rapid evolutionary changes in invasive species are of great interest because they can identify phenotypic characteristics which favor dispersal and successful colonization of new habitats (Rejmánek and Richardson, 1996).

Evolutionary studies with invasive insect species have widely used wing morphology (Huey *et al.*, 2000; Gilchrist *et al.*, 2004; Loh *et al.*, 2008; Laparie *et al.*, 2016). This is an attractive structure for this kind of investigation, since wings are of wide importance in a variety of aspects of an insect's life, such as reproduction, territorial display, foraging, defense mechanisms, thermal regulation and aerodynamics (Bettsand and Wootton, 1988; Wootton, 1992; Berwaerts *et al.*, 2006; Pass, 2018). Changes in environmental conditions are capable of promoting quantitative variations in the wing size of insects from the Drosophilidae family. Several studies have demonstrated that abiotic parameters (such as temperature) influence the wing size of invasive drosophilid species, with flies developing larger wings as an adaptive response to occupying environments with lower temperatures (Karan *et al.*, 1999; Huey *et al.*, 2000; Gilchrist *et al.*, 2004; Gilchrist and Huey, 2004; Loh *et al.*, 2008).

82 The Asian Drosophila nasuta (Diptera: Drosophilidae) fly is an invasive species 83 in Brazil with a notable ability to expand its geographic distribution in this area of introduction (Martins et al., 2023). The first record of this species in Brazil occurred in 84 85 the Cerrado (savanna), approximately 10 years ago (Leão et al., 2017). Since then, D. nasuta has spread throughout different Brazilian biomes, such as the Atlantic Forest 86 (Vilela and Goñi, 2015; Silva et al., 2020), the Caatinga (xeric shrubland) (Montes et 87 al., 2021), the Amazon Forest (Medeiros et al., 2022) and the Pantanal wetlands 88 89 (Martins et al., 2023). The species currently occupies more than half of Brazil's area 90 (Martins et al., 2023). Genetic studies in Brazil indicate population structuring of D. 91 nasuta (Santos et al., 2021), reflecting its evolutionary potential in this territory.

Some possible effects of ecosystem imbalances caused by *D. nasuta* in Brazil have been observed in the north of the Atlantic Forest, where a reduction in the abundance of native drosophilids was reported after this species arrived (Oliveira, 2021). Furthermore, *D. nasuta* shows a preference for preserved environments compared to anthropized areas (Silva *et al.*, 2020), which represents a threat to the biodiversity of invaded territories.

Ecological niche modeling data projected the geographic expansion of *D. nasuta* in different invasion areas, especially in conservation units in Central and South America. These data also indicated that rainfall and temperature parameters are mainly

responsible for limiting the global distribution of this species (Garcia et al., 2022).
In this work, significant differences in the wing size of Brazilian D. nasuta
populations obtained in Amazon Forest, Caatinga, Cerrado and Atlantic Forest areas
were evaluated. The influence of abiotic factors known to be important for the
geographic distribution of D. nasuta, such as rainfall and temperature, were tested to
understand the geographical pattern of the observed morphological variation.
Materials and methods
D. nasuta sampling locations and capture method
Drosophilids were collected in Brazil in areas within the Amazon Forest, Caatinga,
Cerrado and Atlantic Forest biomes (Fig. 1). Sampling was always performed during
periods of greater rainfall in the areas investigated between 2019 and 2021 in order to
remove the morphological variation associated with seasonality (Przybylska et al.,
2014) (Table 1).
Drosophilids were captured with traps containing banana bait (Tidon and Sene,
1988) in the different investigated locations, and then stored in 70% ethanol. D. nasuta
specimens were identified according to Vilela and Goñi (2015) by their light body color,
the presence of a longitudinal brown stripe in the middle dorsal area of the pleura, a
silvery and whitish fringe in the head region when viewed from the front, a row of
cuneiform setae on the anteroventral side of the femur on the forelegs, wings with a
costal index of about 3.1, and male terminalia characteristics.
Morphometric and statistical analyzes

125 The *D. nasuta* individuals collected were separated by sex and geographic origin. Flies

were discarded if they had torn or wrinkled wings. A total of 30 male individuals from each population were dissected with a 70% ethanol solution. The right-side wing of each individual was removed by squeezing the wing joint with tweezers and pulling the wing away from the body, using a pair of tweezers to hold the body in place. Only the right-side wings were used to avoid fluctuating asymmetry variations.

The dissected wings were placed on microscope slides with the ventral side facing down and covered with a 1:1 solution of absolute ethanol and glycerol. Slides were covered with coverslips and any air bubbles were gently removed by pressing the coverslip with forceps. The wings were digitally photographed on an Instrutherm MBB-200 microscope at 40x magnification.

Next, 11 measurements were taken from the digitized images on each wing from reference points at the junction or termination of the venations, following the parameters of Bitner-Mathé and Klaczko (1999) (Fig. 2). Measurements were performed using the tpsDIG program (Rohlf, 2016). The wings of all specimens were mounted, photographed and measured by the same person in order to minimize possible errors in morphometric analyses, in accordance with the recommendations of Fox *et al.* (2020).

143 Arithmetic means and standard deviations were obtained for each of the 11 wing 144 measurements for samples from different geographic locations. Analysis of Variance 145 (ANOVA) was performed with the Tukey a posteriori test to observe possible 146 differences in wing measurements between locations. The wing measurements of 147 individuals from locations which did not show statistical differences in previous tests were grouped. The established groups were analyzed using a linear discriminant 148 149 function. Pearson's correlation test was performed between wing measurements and abiotic factors (rainfall and maximum and minimum temperatures). All of these 150

151	analyzes were carried out using the PAST version 4.3 program (Hammer et al., 2001)
152	and a significance level of $p < 0.05$ or $p < 0.001$ were used in the statistical tests.
153	
154	Results
155	
156	The lowest averages for the 11 wing measurements evaluated in 240 D. nasuta
157	individuals were observed for the populations of the Amazon Forest (Altamira and
158	Manaus) and the north of the Atlantic Forest (Igarassu). The Caatinga (Caruaru and
159	Belo Jardim), the Cerrado (sensu strictu and Gallery Forest) and the south of the
160	Atlantic Forest (Itatiaia) populations presented the highest averages for these
161	measurements (Table 2).
162	The two groups observed by analyzing the mean D. nasuta wing measurements
163	were also verified by ANOVA and the subsequent Tukey's test (Table 3,
164	Supplementary Table 1). One of the groups was formed by populations from the
165	Amazon Forest (Altamira and Manaus) and the north of the Atlantic Forest (Igarassu),
166	with no significant difference between these samples. Another group brought together
167	populations from the Caatinga (Caruaru and Belo Jardim), the Cerrado (sensu strictu
168	and Gallery Forest) and the south of Atlantic Forest (Itatiaia), also without significant
169	differences between the wing measurements of these populations. Comparisons of wing
170	measurements between the populations of these two groups showed significant
171	differences ($p < 0.001$) (Table 3).
170	The groupings formed in the provide analyzes were evaluated using a linear

The groupings formed in the previous analyzes were evaluated using a linear discriminant function, which confirmed the existence of these two distinct groups. In this analysis, 91.67% of individuals were correctly identified in their corresponding groups by the cross-validation test (Table 4).

The group of individuals with the smallest wings coincided with the locations 176 with the highest maximum and minimum temperatures detected. The group with the 177 178 largest wings corresponded to the areas with the lowest maximum and minimum temperatures (Table 1). A high negative and significant correlation was observed 179 180 between maximum temperatures and four of the 11 wing measurements investigated, as 181 well as for all wing measurements and minimum temperatures. No significant correlation regarding rainfall was observed with any of the wing measurements 182 183 analyzed (Table 5).

- 184
- 185

Discussion

186

The Asian *D. nasuta* fly invaded Brazil approximately 10 years ago (Leão *et al.*, 2017). The species has already expanded over an area of 4.6 million km² in this short period, which corresponds to 55% of the Brazilian territory (Martins *et al.*, 2023). Data from 11 wing measurements taken on 240 individuals of this species from different Brazilian biomes in the present study revealed statistically significant differences between the geographic samples.

193 The variations in wing sizes observed herein resulted in forming two groups of 194 D. nasuta. Other invasive drosophilids in the Neotropical region also showed significant 195 differences in wing morphology in different areas of introduction. Loh and Bitner-196 Mathé (2005) detected variations in the wing size and shape of the African Zaprionus 197 indianus fly in areas recently invaded by the species in Brazil. Some authors have 198 observed significant differences in the morphometry of drosophilid wings in comparison 199 with invaded areas, and in comparing these areas with locations where the species are native; for example, in studies conducted with Z. indianus (David et al., 2006; Yassin et 200

9

al., 2009) and *D. suzukii* (Fraimout *et al.*, 2018). Taken together, our results and those
of these investigations reveal the capacity for morphological differentiation in the wings
of invasive drosophilids in introduced areas.

204 D. nasuta individuals with larger wings were observed in locations with colder 205 temperature extremes (Caatinga, Cerrado and south of Atlantic Forest) and those with 206 smaller wings occurred in locations with higher minimum and maximum temperature extremes (Amazon Forest and north of the Atlantic Forest). Changes in environmental 207 208 temperature conditions are recognized to promote quantitative variations in drosophilid 209 wing morphology. As pointed out by our results, other studies have shown that invasive drosophilids have larger wings in areas with lower temperatures in places of 210 211 introduction. For example, this has been observed for the European species D. 212 subobscura in invaded areas in North and South America (Huey et al., 2000; Gilchrist et 213 al., 2004; Gilchrist and Huey, 2004) and for the African species Z. Indianus in invaded 214 areas in India (Karan et al., 1999) and South America (Loh et al., 2008). These authors 215 deemed that changes in the wing size of invasive drosophilids in response to 216 temperature variations were associated with an adaptive process.

Our results revealed a high negative correlation between wing measurements 217 218 and maximum temperatures, and especially for minimum temperatures. Fraimont et al. 219 (2018) tested the influence of different temperatures (16°C, 22°C and 28°C) in a 220 laboratory on the wing morphology of the Asian species D. suzukii from samples collected in its area of origin in Japan and in two invasion areas, France and the United 221 222 States. As observed in the present study for D. nasuta, the extreme minimum temperature most influenced the wing size of *D. suzukii*, resulting in individuals with 223 larger wings compared to those at temperatures of 22°C and 28°C (which did not 224 225 present significant differences in wing morphology between them). The importance of minimum temperatures for the occurrence of *D. nasuta* has been highlighted by Garcia *et al.* (2022) in an ecological niche modeling study. These authors revealed that cold
temperatures explain 21% of the global geographic distribution model of this species.
Thus, colder minimum temperatures seem to influence the wing morphology of
different drosophilid species, and at the same time, account for the geographic
distribution capacity of *D. nasuta*.

Why were the largest wings of *D. nasuta* observed in individuals occupying locations with the lowest minimum temperatures? This probably occurs because largewinged insects are more effective at absorbing heat, making this trait advantageous in areas with more extreme cold conditions where obtaining and retaining heat are critical for survival (Heinrich, 1974; Douglas, 1981). Thus, the phenotypic variation found in the wings of *D. nasuta* individuals could be the result of an adaptive process related to temperature.

The present study is a pioneer in describing a morphological variation pattern in the wing size of *D. nasuta*, sampling individuals from a large part of the geographic distribution of this recent invasive species in Brazil. This condition reveals the adaptive potential of *D. nasuta* in introduced areas.

243

244	Acknowledgements
245	This work was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
246	Tecnológico (CNPq, Process number: 425274/2018-7).
247	
248	Conflict of interest
249	The authors declare no conflicts of interest.

250

251	References
252	
253	Berwaerts, K., Aerts, P. and van Dyck, H. (2006) On the sex-specific mechanisms of
254	butterfly flight: flight performance relative to flight morphology, wing kinematics,
255	and sex in Pararge aegeria. Biological Journal of the Linnean Society 89, 675-687.
256	Betts, C.R. and Wootton, R.J. (1988) Wing shape and flight behaviour in butterflies
257	(Lepidoptera: Papilionoidea and Hesperioidea): A preliminary analysis. Journal of
258	Experimental Biology 138, 271–288.
259	Bitner- Mathé, B.C and Klaczko, L.B. (1999) Size and shape heritability in natural
260	populations of Drosophila mediopunctata: Temporal and microgeographical
261	variation. Genetica 105, 35–42.
262	David, J.R., Araripe, L.O., Bitner-Mathé, B.C., Capy, P., Goñi, B., Klaczko, L.B.,
263	Legout, H. Martins, M.B., Voudibio, J. Yassin, A. and Moreteau, B. (2006)
264	Quantitative trait analysis and geographic variability of natural populations of
265	Zaprionus indianus, a recent invader in Brazil. Heredity 96, 53-62.
266	Douglas, M.M. (1981) Thermoregulatory significance of thoracic lobes in the evolution
267	of insect wings. Science 211, 84–86.
268	Fox, N.S., Veneracion, J.J. and Blois, J.L. (2020) Are geometric morphometric
269	analyses replicable? Evaluating landmark measurement error and its impact on extant
270	and fossil <i>Microtus</i> classification. Ecology and Evolution 10, 3260–3275.
271	Fraimout, A., Jacquemart, P., Villarroel, B., Aponte, D.J., Decamps, T., Herrel, A.
272	and Cornette, R. and Debat, V. (2018) Phenotypic plasticity of Drosophila suzukii
273	wing to developmental temperature: implications for flight. Journal of Experimental
274	Biology 221 , jeb166868.
275	Garcia, A.C.L, Silva, F.P., Neves, C.H.C.B. and Montes, M.A. (2022) Current and

future potential global distribution of the invading species *Drosophila nasuta*(Diptera: Drosophilidae). Biological Journal of the Linnean Society 135, 208-221.

278 Gilchrist, G.W. and Huey, R.B. (2004) Plastic and genetic variation in wing loading as

- a function of temperature within and among parallel clines in *Drosophila subobscura*. Integrative and Comparative Biology 44, 461-470.
- 281 Gilchrist, G.W., Huey, R.B., Balanyà, J., Pascual. M., Serra, L. and Noor, M.

(2004) A time series of evolution in action: a latitudinal cline in wing size in South
American *Drosophila subobscura*. Evolution 58, 768-780

284 Hammer, Ø., Harper, D.A.T. and Ryan, P.D. (2001) Paleontological statistics

software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica **4**, 1-9.

Heinrich, B. (1974) Thermoregulation in endothermic insects. Science **185**, 747–756.

Huey, R.B., Gilchrist, G.W., Carlson, M.L., Berrigan, D. and Serra, L. (2000)
Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. Science 287, 308309.

Karan, D., Moreteau, B. and David, J.R. (1999) Growth temperature and reaction
norms of morphometrical traits in a tropical drosophilid: *Zaprionus indianus*.
Heredity 83, 398-407.

Laparie, M., Vernon, P., Cozic, Y., Frenot, Y., Renault, D., & Debat, V. (2016)
Wing morphology of the active flyer *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae)
during its invasion of a sub-Antarctic archipelago where insect flightlessness is the
rule. Biological Journal of the Linnean Society 119, 179-193.

Leão, B.F.D., Roque, F., Deus, P.H.M. and Tidon, R. (2017) What happens when
exotic species arrive in a new area? The case of drosophilids in the Brazilian
Savanna. Drosophila Information Service 100, 65-69.

300 Loh, R. and Bitner-Mathé, B.C. (2005) Variability of wing size and shape in three

- 301 populations of a recent Brazilian invader, *Zaprionus indianus* (Diptera:
 302 Drosophilidae), from different habitats. Genetica 125, 271-281.
- Loh, R., David, J.R., Debat, V., and Bitner-Mathé, B.C. (2008) Adaptation to
 different climates results in divergent phenotypic plasticity of wing size and shape in
 an invasive drosophilid. Journal of Genetics 87, 209-217.
- 306 Martins, T.C.S.L., Santos, M.F.S., Santos, M.M.S., Araújo J.S., Neves, C.H.C.B.,
- 307 Garcia, A.C.L. and Montes, M.A. (2023) Drosophila nasuta (Diptera,
- 308 Drosophilidae) in Brazil: a decade of invasion and occupation of more than half of
 309 the country. Anais da Academia Brasileira de Ciências 95, e20230507.
- 310 Medeiros, H.F., Monteiro, M.P., Caçador, A.W.B., Pereira, C.M., Praxedes,
- 311 C.L.B., Martins, M.B, Montes, M.A. and Garcia, A.C.L. (2022) First records of
- 312 the invading species *Drosophila nasuta* (Diptera: Drosophilidae) in the Amazon.
- 313 Neotropical Entomology **51**, 493-497.
- Mollot, G., Pantel, J.H. and Romanuk, T.N. (2017) The effects of invasive species on
 the decline in species richness: a global meta-analysis. Advances in Ecological
 Research 56, 61-83.
- 317 Montes, M.A., Neves, C.H.C.B., Ferreira, A.F., Santos, M.F.S., Quintas, J.I.F.P.,
- 318 Manetta, G.D.A., Oliveira, P.V. and Garcia, A.C.L. (2021) Invasion and
- 319 spreading of Drosophila nasuta (Diptera, Drosophilidae) in the Caatinga Biome,
- 320 Brazil. Neotropical Entomology **50**, 571-578.
- 321 Oliveira, G.H. (2021) Avaliação da homogeneização biótica e preferência ambiental de
- 322 drosofilídeos invasores no norte da Floresta Atlântica. Masters Thesis, Universidade
 323 Federal Rural de Pernambuco, Brazil.
- Pass, G. (2018) Beyond aerodynamics: The critical roles of the circulatory and tracheal
 systems in maintaining insect wing functionality. Arthropod Structure and

- 326 Development **47**, 391–407.
- 327 Przybylska, M.S., de Brito, F.A. and Tidon, R. (2016) Ecological insights from
 328 assessments of phenotypic plasticity in a Neotropical species of *Drosophila*. Journal
 329 of Thermal Biology 62, 7–14.
- 330 Pyšek, P., Hulme P.E, Simberloff, D., Bacher, S., Blackburn, T.M., Carlton, J.T.,
- 331 Dawson, W, Essl, F., Foxcroft, L.C., Genovesi, P., Jeschke, J.M., Kühn, I.,
- 332 Liebhold, A.M., Mandrak, N.E, Meyerson, L.A, Pauchard, A., Pergl, J., Roy,
- 333 H.E., Seebens, H., van Kleunen, M., Vilà, M., Wingfield, M.J. and Richardson,
- 334 D.M (2020) Scientists' warning on invasive alien species. Biological Reviews 95,
 335 1511–1534.
- Rejmánek, M. and Richardson, D.M. (1996) What attributes make some plant species
 more invasive? Ecology 77, 1655–1661.
- Rohlf, F.J. (2016) Thin-plate spline (TPS) computer program. Available from
 http://www.sbmorphometrics.org/index.html.
- 340 Santos, M.F.S., Neves, C.H.C.B.; Oliveira, E., Ribeiro, M.C; Faria-Júnior, J.E.Q.,
- 341 Montes, M.A. and Garcia, A.C.L. (2021) Genetic diversity of the invasive species
- 342 Drosophila nasuta (Diptera, Drosophilidae) in different biomes in Brazil. p. 275. In:
- 343 66° Brazilian Congress of Genetics, Ribeirão Preto, Brazil, 13 September 16
 344 September, Brazilian Society of Genetics.
- 345 Schäfer, M.A, Berger, D., Rohner, P.T, Kjaersgaard, A. Bauerfeind, S.S,
- 346 Guillaume, F., Fox, C.W. and Blanckenhorn, W.U (2018) Geographic clines in
- 347 wing morphology relate to colonization history in New World but not Old World
- populations of yellow dung flies. Evolution **72**, 1629–1644.
- 349 Seebens, H., Blackburn, T.M., Dyer, E.E., Genovesi, P., Hulme, P.E., Jeschke,
- 350 J.M., Pagad, S., Pyšek, P., van Kleunen, M., Winter, M., Ansong, M.,

Arianoutsou, M., Bacher, S., Blasius, B., Brockerhoff, E.G., Brundu, G.,

- Wootton, R.J. (1992) Functional morphology of insect wings. Annual Review of
 Entomology 37, 113–140.
- 371 Yassin, A., David, J.R. and Bitner-Mathé, B.C. (2009) Phenotypic variability of
 372 natural populations of an invasive drosophilid, *Zaprionus indianus*, on different
 373 continents: Comparison of wild-living and laboratory-grown flies. Comptes Rendus
- ³⁷⁴ Biologies **332**, 898-908.
- 375

351

Figure and table legends



379 Figure 1. On the left, map of Brazil with an indication of its biomes. On the right,

380 partial enlargement of the map, indicating the sampling locations of *Drosophila nasuta*.



Figure 2. Right wing of a male *Drosophila nasuta* with indications of the measurements

- that were taken from six reference points: OA, OB, OE, AB, AE, BC, BD, BE, CD, CE
- ³⁸⁴ and DE.

387 Table 1. Drosophila nasuta biomes and sampling locations in Brazil with data on 388 geographic coordinates, sampling dates and climate characterization (temperature and 389 rainfall). The codes for the locations are the same as those used in Figure 1.

390

391 Table 2. Arithmetic means (in mm) and standard deviations for the different reference 392 point measurements of the right wings of *Drosophila nasuta* males from different 393 biomes and locations in Brazil. The reference points for wing measurements are 394 illustrated in Figure 2.

395

Table 3. Tukey's test (p < 0.001) for measurements of the right wings of *Drosophila nasuta* males collected in different locations in Brazilian biomes. The codes for the locations are the same as those used in Table 1, and the reference points for wing measurements are illustrated in Figure 2.

400

401 **Table 4.** Classification by discriminant function analysis followed by cross-validation 402 for the two groups obtained by analysis of means and ANOVA/Tukey's test, based on 403 measurements of the right wings of *Drosophila nasuta* males collected in different 404 Brazilian locations and biomes. Group 1= Populations from the Amazon Forest 405 (Altamira and Manaus) and the north of the Atlantic Forest (Igarassu); and Group 2 = 406 Populations from the *Caatinga* (Caruaru and Belo Jardim), the *Cerrado* (*sensu strictu* 407 and Gallery Forest) and the south of the Atlantic Forest (Itatiaia).

408

Table 5. Pearson's correlation between measurements of the right wings of *Drosophila nasuta* males collected in different biomes in Brazil and abiotic factors (rainfall,
maximum and minimum temperatures). Temperature and rainfall data are shown in

```
Table 1 and wing measurements are shown in Figure 2. P-values are shown in
parentheses. *p <0.05.</li>
Supplementary material
Supplementary material Table 1. Anova's tests for the 11 measurements of the right
wings of Drosophila nasuta males collected in different locations in Brazilian biomes.
The reference points for wing measurements are illustrated in Figure 2.
```

Table 1. *Drosophila nasuta* biomes and sampling locations in Brazil with data on geographic coordinates, sampling dates and climate characterization (temperature and rainfall). The codes for the locations are the same as those used in Figure 1.

Biomes	Locations	Codes	Coordinates	Sample date	Mean maximum annual temperature (°C)	Mean minimum annual temperature (°C)	Annual rainfall (mm)
Amazon	Altamira National Forest	Altamira	4°21'S/52°25'W	January/2020	30.8ª	23.2 ^a	1.904 ^a
Forest	Federal University of Amazonas	Manaus	3°06'S/59°58'W	January/2021	30.7 ^b	23.8 ^b	2.931 ^b
Caatinga	Experimental Station of the Agronomic Institute of Pernambuco	Caruaru	8°14'S/35°55'W	July 2019	28.0°	19.7°	572°
	Bituri Farm Private Natural Heritage	Belo Jardim	8°14′S/36°22′W	July/2019	28.4 ^d	18.6 ^d	428 ^d
	Reserve	Sensu stricto	15°54'S/47°52'W	January/2020	27.1 ^e	17.1 ^e	1.502 ^e
Cerrado	Ecological Station of the Brasília Botanical Garden	Gallery Forest	15°53'S/47°49'W	January/2020	27.1°	17.1°	1.502°
Atlantic Forest	Charles Darwin Ecological Refuge	Igarassu	7°48′S/34°57'W	July/2019	28.4 ^f	23.0 ^f	965 ^f
	Itatiaia National Park	Itatiaia	22°26"S/44°37"W	January/2020	24.4 ^g	15.5 ^g	2.547 ^g

^a Climatempo (2024a) Climatologia histórica de Altamira, Amazonas. https://www.climatempo.com.br/climatologia/228/altamira-br (Accessed 20 january 2024).

^b Climatempo (2024b) Climatologia histórica de Manaus, Amazonas. https://www.climatempo.com.br/climatologia/25/manaus-am (Accessed 20 january 2024).

^c Climatempo (2024c) Climatologia histórica de Caruaru, Pernambuco. https://www.climatempo.com.br/climatologia/764/caruaru-pe (Accessed 20 january 2024). ^d Climatempo (2024d) Climatologia histórica de Belo Jardim, Pernambuco. https://www.climatempo.com.br/climatologia/2179/belojardim-pe (Accessed 20 january

2024).

^e Climatempo (2024e) Climatologia histórica de Brasília, Distrito Federal. https://www.climatempo.com.br/climatologia/61/brasilia-df (Accessed 20 january 2024).

^f Climatempo (2024f) Climatologia histórica de Igarassu, Pernambuco. https://www.climatempo.com.br/climatologia/1256/igarassu-pe (Accessed 20 january 2024).

^g Climatempo (2024g) Climatologia histórica de Itatiaia, Rio de Janeiro. https://www.climatempo.com.br/climatologia/303/itatiaia-rj (Accessed 20 january 2024).

Table 2. Arithmetic means (in mm) and standard deviations for the different reference point measurements of the right wings of

 Drosophila nasuta males from different biomes and locations in Brazil. The reference points for wing measurements are illustrated in

 Figure 2.

		Wing measurements										
Biomes	Locations	OA	OB	OE	AB	AĒ	BC	BD	BE	CD	СЕ	DE
	Altamira	0.22	1.36	1.03	1.21	1.03	0.36	0.48	0.87	0.2	0.85	0.69
Amazon		± 0.02	± 0.06	± 0.05	± 0.05	± 0.06	± 0.02	± 0.02	± 0.04	± 0.01	± 0.04	± 0.03
Forest	Manaus	0.21	1.37	1.03	1.22	1.02	0.37	0.49	0.88	0.21	0.87	0.7
		± 0.02	± 0.07	± 0.05	± 0.06	± 0.05	± 0.02	± 0.02	± 0.04	± 0.02	± 0.04	± 0.04
	Caruaru	0.24	1.6	1.19	1.42	1.17	0.4	0.54	1.00	0.23	0.97	0.78
Caatinga		± 0.02	± 0.07	± 0.05	± 0.07	± 0.05	± 0.02	± 0.02	± 0.05	± 0.03	± 0.05	± 0.04
U	Belo	0.23	1.57	1.17	1.41	1.16	0.4	0.54	0.99	0.24	0.97	0.78
	Jardim	± 0.02	± 0.08	± 0.06	± 0.08	± 0.06	± 0.03	± 0.03	± 0.05	± 0.01	± 0.04	± 0.04
	Sensu	0.24	1.55	1.17	1.37	1.14	0.38	0.52	0.97	0.23	0.95	0.77
Cerrado	stricto	± 0.02	± 0.06	± 0.04	± 0.06	± 0.04	± 0.02	± 0.02	± 0.04	± 0.02	± 0.05	± 0.04
	Gallery	0.24	1.58	1.19	1.41	1.18	0.4	0.54	0.99	0.23	0.96	0.78
	Forest	± 0.02	± 0.06	± 0.05	± 0.05	± 0.05	± 0.02	± 0.03	± 0.04	± 0.01	± 0.04	± 0.03
	Igarassu	0.22	1.4	1.06	1.24	1.04	0.37	0.49	0.89	0.21	0.87	0.7
Atlantic	C	± 0.01	± 0.07	± 0.05	± 0.07	± 0.05	± 0.02	± 0.03	± 0.05	± 0.02	± 0.05	± 0.04
Forest	Itatiaia	0.24	1.55	1.16	1.38	1.14	0.4	0.53	0.97	0.23	0.96	0.77
		± 0.02	± 0.09	± 0.06	± 0.08	± 0.06	± 0.03	± 0.03	± 0.05	± 0.02	± 0.05	± 0.04

Table 3. Tukey's test (p < 0.001) for measurements of the right wings of *Drosophila nasuta* males collected in different locations in Brazilian biomes. The codes for the locations are the same as those used in Table 1, and the reference points for wing measurements are illustrated in Figure 2.

	Wing measurements										
Locations	OA	OB	OE	AB	AE	BC	BD	BE	CD	CE	DE
Altamira x Manaus	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Altamira x Caruaru	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Altamira x Belo Jardim	ns	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Altamira x Sensu stricto	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Altamira x Gallery Forest	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Altamira x Igarassu	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Altamira x Itatiaia	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Manaus x Caruaru	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Manaus x Belo Jardim	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Manaus x Sensu stricto	*	*	*	*	*	ns	*	*	*	*	*
Manaus x Gallery Forest	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Manaus x Igarassu	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Manaus x Itatiaia	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Caruaru x Belo Jardim	*	ns									
Caruaru x Sensu stricto	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
Caruaru x Gallery Forest	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Caruaru x Igarassu	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Caruaru x Itatiaia	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Belo Jardim x Sensu stricto	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
Belo Jardim x Gallery Forest	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Belo Jardim x Igarassu	ns	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Belo Jardim x Itatiaia	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Sensu stricto x Gallery Forest	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	ns
Sensu stricto x Igarassu	*	*	*	*	*	ns	*	*	*	*	*
Sensu stricto x Itatiaia	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
Gallery Forest x Igarassu	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Gallery Forest x Itatiaia	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Igarassu x Itatiaia	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

ns = Not significant. * = Statistically significant.

Table 4. Classification by discriminant function analysis followed by cross-validation for the two groups obtained by analysis of means and ANOVA/Tukey's test, based on measurements of the right wings of *Drosophila nasuta* males collected in different Brazilian locations and biomes. Group 1= Populations from the Amazon Forest (Altamira and Manaus) and the north of the Atlantic Forest (Igarassu); and Group 2 = Populations from the *Caatinga* (Caruaru and Belo Jardim), the *Cerrado* (*sensu strictu* and Gallery Forest) and the south of the Atlantic Forest (Itatiaia).

	Group 1	Group 2	Total
Group 1	82	8	90
Group 2	12	138	150
Total	94	146	240

Table 5

Table 5. Pearson's correlation between measurements of the right wings of *Drosophila nasuta* males collected in different biomes in Braziland abiotic factors (rainfall, maximum and minimum temperatures). Temperature and rainfall data are shown in Table 1 and wingmeasurements are shown in Figure 2. P-values are shown in parentheses. *p <0.05.</td>

	Wing measurements										
Abiotic factors	OA	OB	OE	AB	AE	BC	BD	BE	CD	CE	DE
Rainfall	-0.20	-0.45	-0.50	-0.44	-0.45	-0.50	-0.47	-0.44	-0.44	-0.40	-0.40
	(0.637)	(0.261)	(0.206)	(0.275)	(0.261)	(0.208)	(0.242)	(0.281)	(0.277)	(0.327)	(0.324)
Maximum temperatures	-0.79	-0.76	-0.70	-0.73	-0.74	-0.65	-0.69	-0.68	-0.67	-0.69	-0.66
	(0.020*)	(0.030*)	(0.053)	(0.040*)	(0.037*)	(0.081)	(0.057)	(0.062)	(0.067)	(0.058)	(0.073)
Minimum temperatures	-0.79	-0.88	-0.84	-0.89	-0.88	-0.72	-0.88	-0.86	-0.84	-0.86	-0.83
	(0.020*)	(0.004*)	(0.008*)	(0.003*)	(0.004*)	(0.043*)	(0.004*)	(0.006^{*})	(0.010*)	(0.007*)	(0.011*)





Supplementary material Table 1. Anova's tests for the 11 measurements of the right wings of *Drosophila nasuta* males collected in different locations in Brazilian biomes. The reference points for wing measurements are illustrated in Figure 2.

Wing measurements	F	df	р
OA	11.33	7, 232	< 0.001
OB	59.69	7, 232	< 0.001
OE	58.63	7, 232	< 0.001
AB	59.28	7, 232	< 0.001
AE	50.81	7, 232	< 0.001
BC	15.3	7, 232	< 0.001
BD	30.94	7, 232	< 0.001
BE	48.65	7, 232	< 0.001
CD	16.9	7, 232	< 0.001
CE	39.73	7, 232	< 0.001
DE	37.51	7, 232	< 0.001

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho trouxe um maior conhecimento sobre os caracteres morfológicos de *Drosophila nasuta* provenientes de diversos biomas invadidos na região Neotropical. tendo sido inédito em estudar a morfologia alar dessa espécie em áreas invadidas. Sendo uma espécie com cerca de uma década de invasão na América do Sul, o drosofilídeo já apresentou diferen- ças significativas em suas medidas alares entre as áreas avaliadas. Espécimes da Amazônia e norte da Mata Atlântica apresentaram medidas alares menores, enquanto os do Cerrado, Caatinga e sul da Mata Atlântica apresentaram medidas alares maiores.

Os resultados observados são corroborados por outros estudos realizados em drosofilídeos e outros insetos que, no geral. apresentam uma relação inversamente proporcional entre temperatura e medidas alares. Acredita-se que asas maiores favoreçam a sobrevivência de drosofilídeos em ambientes mais frios, indicando a adaptação da espécie *D. nasuta* aos novos ambientes invadidos.