



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO OESTE - UNICENTRO**  
**SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS - SEAA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EVOLUTIVA- PPGBIOEVOL**  
**Associação Ampla entre a UEPG e a UNICENTRO**

**CAMILA HELOISE DOS SANTOS**

**Variação bionômica e metabólica em três espécies de *Drosophila*  
submetidas a diferentes dietas**

**GUARAPUAVA-PR**

**2020**

**CAMILA HELOISE DOS SANTOS**

**Variação bionômica e metabólica em três espécies de *Drosophila* submetidas a diferentes dietas**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva da Universidade Estadual do Centro Oeste em associação ampla com a Universidade Estadual de Ponta Grossa. Área de concentração: Biologia Evolutiva.

Orientador: Dr. Rogério Pincela Mateus

Coorientadora: Dra. Luciana Paes de Barros Machado

**GUARAPUAVA-PR**

**2020**

Catálogo na Publicação  
Rede de Bibliotecas da Unicentro

S237v

Santos, Camila Heloise dos

Varição bionômica e metabólica em três espécies de *Drosophila* submetidas a diferentes dietas / Camila Heloise dos Santos. -- Guarapuava, 2020.

xii, 112 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, em associação com a Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva, área de concentração em Biologia Evolutiva, 2020.

Orientador: Rogério Pincela Mateus

Orientadora: Luciana Paes de Barros Machado

Banca examinadora: Emanuele Cristina Gustani, Rosana Tidon

Bibliografia

1. Ciências biológicas. 2. Biologia evolutiva. 3. Dieta padrão de banana. 4. Dieta proteica. 5. Dieta rica em açúcar. 6. *Drosophila maculifrons*. 7. *Drosophila ornatifrons*. 8. *Drosophila willistoni*. 9. Viabilidade. 10. Tempo de desenvolvimento. 11. Glicogênio. 12. Triglicérido. 13. Proteínas. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva.

CDD 590



**Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva**

Associação Ampla entre a Universidade Estadual de Ponta Grossa (Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética) e a Universidade Estadual do Centro-Oeste (Departamento de Ciências Biológicas)



**CAMILA HELOISE DOS SANTOS**

**“Variação bionômica e metabólica em três espécies de *Drosophila* submetidas a diferentes dietas”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Biologia Evolutiva”, no Programa de Pós-graduação em Biologia Evolutiva, da Universidade Estadual de Centro-Oeste, pela comissão formada pelos professores:

Prof. Dr. Rogério Pinçela Mateus

(Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO)

Profa. Dra. Rosana Tidon

(Universidade de Brasília - UnB)

Profa. Dra. Emanuele Cristina Gustani Buss

(Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO)

Guarapuava, 05 de junho de 2020.

Aos meus pais, *Marlene Kochinski dos Santos* e  
*Vicente Alves dos Santos*, com amor e carinho.

## AGRADECIMENTOS

Devo meus agradecimentos:

Aos meus orientadores, professor Dr. Rogério Pincela Mateus e professora Dra. Luciana Paes de Barros Machado, pelo auxílio durante toda a realização deste trabalho, pelas oportunidades, convivência e amizade.

Às professoras Dra. Maria Luisa Buschini e Dra. Rosana Tidon, membros da banca de qualificação e defesa, por todas as contribuições que fizeram e agregaram à este trabalho, e, em especial à Dra. Emanuele Gustani, por ter sido banca e por todos os auxílios nas análises estatísticas e também demais colaborações ao trabalho.

Às colegas do Laboratório de Genética e Evolução, Lorena Tayrini e Maria Carolina, às ICs Sandrinne, Heloise, Bárbara, Mylena, Bruna e demais, à técnica Gabriela, em especial à Karoline Vieira, por todo o apoio e suporte concedidos nesse estudo e também pessoalmente.

Ao pessoal do Laboratório de Nanotecnologia do Departamento de Farmácia da UNICENTRO, pelas instruções para utilização do espectrofotômetro.

Aos meus pais, Marlene Kochiski dos Santos e Vicente Alves dos Santos, por me darem todo o subsídio que precisei, por sempre me apoiarem em tudo, por todo o amor, sacrifício e compreensão.

Aos meus demais familiares e amigos pelo incentivo de continuar com meus estudos. Em especial, ao Daniel Mazurek, pela amizade e por aguentar durante os dois anos as minhas queixas. A nossa amizade foi muito importante nesse período.

Ao meu namorado, Sandro L. Mainardes Filho, pelo amor e compreensão.

Aos professores e funcionários membros do PPG em Biologia Evolutiva pela contribuição em minha formação.

À Universidade Estadual do Centro-Oeste, pelo suporte físico, à CAPES e à Fundação Araucária pelos auxílios financeiros.

À todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

“Nada na Biologia faz sentido exceto à luz da evolução”

(Theodosius Dobzhansky)

## RESUMO

Na natureza, existe variabilidade intra e interespecífica no gênero *Drosophila* em relação a capacidade de exploração de recursos. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de quatro dietas, a padrão banana-ágar (DPB) e outras três com diferentes proporções de carboidratos e proteínas (HPS, EPS e LPS), sobre características adaptativas e metabólicas de três espécies neotropicais de *Drosophila*: *D. willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. Para tanto, larvas destas espécies foram criadas nestas dietas e foram avaliadas as seguintes características: 1) viabilidade, determinada como a porcentagem de pupas (VLP) e adultos (VLA) que emergiram a partir das larvas de segundo instar submetidas às dietas; 2) tempo de desenvolvimento, estimado como o período médio (em horas) entre essas transferências dessa larvas e o surgimento de pupas (TLP) e adultos (TLA); 3) peso seco das moscas adultas recém emergidas das dietas (apenas no capítulo 1); e, 4) conteúdo de três moléculas de armazenamento de energia metabólica – triglicerídeos, glicogênio e proteínas solúveis totais. Os conjuntos metabólicos foram quantificados por ensaios colorimétricos usando moscas adultas recém emergidas das dietas. No capítulo 1, no qual foi utilizado apenas o meio de cultura padrão de banana, *D. willistoni* apresentou diferenças significativas com *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* para todos os caracteres analisados, com exceção do conteúdo de glicogênio, enquanto *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* apenas diferiram com relação ao peso seco e conteúdo de triglicerídeo. *Drosophila ornatifrons* apresentou diferenças entre as populações para todos os caracteres analisados, *D. maculifrons* não apresentou diferença populacional apenas para a viabilidade e *D. willistoni*, além da viabilidade, o tempo de desenvolvimento também não foi diferente entre as populações. Para os demais caracteres, peso seco e metabólitos, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* apresentaram o mesmo padrão de diferenciação populacional, já para *D. willistoni* o padrão populacional foi oposto ao das outras duas espécies, com exceção do conteúdo de triglicerídeo. No capítulo 2, no qual foram testadas as outras três dietas, *Drosophila willistoni* foi viável em todas as dietas testadas, enquanto que *D. maculifrons* foi inviável em LPS, e *D. ornatifrons* apresentou uma viabilidade muito baixa nesta dieta. O tempo de desenvolvimento de *D. willistoni* aumentou somente na dieta LPS, não variou em *D. maculifrons*, e aumentou em *D. ornatifrons* quanto maior foi a concentração de carboidrato na dieta. Em *D. willistoni*, pela análise trivariada, apenas glicogênio respondeu ao aumento de carboidrato na dieta, sendo encontrado em maiores níveis em indivíduos alimentados com LPS. Em *D. maculifrons*, o conteúdo dos três metabólitos não mostrou relação com os níveis de carboidrato e proteína das dietas. Em *D. ornatifrons* a variação de carboidratos e proteínas da dieta tiveram um efeito mais evidente nos níveis de triglicerídeo e proteína. Variações interpopulacionais também foram encontradas para vários caracteres nas três espécies. Possíveis *Trade-offs* foram detectados entre viabilidade e tempo de desenvolvimento (*D. willistoni* e *D. ornatifrons*), tempo de desenvolvimento e conteúdo de glicogênio (*D. maculifrons* e *D. ornatifrons*) e entre os conteúdos de glicogênio e triglicerídeo (*D. maculifrons*). E correlações positivas foram observadas entre viabilidade e glicogênio (*D. ornatifrons*) e entre triglicerídeo e proteínas totais (*D. maculifrons*). Assim, foi possível concluir que as variações nas concentrações de macronutrientes nas dietas testadas no presente trabalho, exerceram pressões diferenciais sobre as diversas características avaliadas, demonstrando que a história evolutiva e adaptações diferenciais aos ambientes são importantes para definir a amplitude de resposta que as espécies podem apresentar.

**Palavras-chave:** Dieta padrão de banana; Dieta proteica; Dieta rica em açúcar; *Drosophila maculifrons*; *Drosophila ornatifrons*; *Drosophila willistoni*; Viabilidade; Tempo de desenvolvimento; Glicogênio; Triglicerídeo; Proteínas.



## ABSTRACT

In nature, there is intra and interspecific variability in the *Drosophila* genus regarding the ability to exploit resources. Thus, this work aimed to evaluate the effects of four diets, the standard banana-agar (DPB) and three others with different proportions of carbohydrates and proteins (HPS, EPS and LPS), on adaptive and metabolic traits of three neotropical species of *Drosophila*: *D. willistoni*, *D. maculifrons* and *D. ornatifrons*. Thus, larvae of these species were reared in these diets and the following traits were evaluated: 1) viability, determined as the percentage of pupae (VLP) and adults (VLA) that emerged from the second instar larvae submitted to the diets; 2) development time, estimated as the mean period (in hours) between the larvae transfers and the appearance of pupae (TLP) and adults (TLA); 3) dry weight of adult flies that have recently emerged from diets (only in chapter 1); and, 4) content of three metabolic energy storage molecules - triglycerides, glycogen and total soluble proteins. Metabolic pools were quantified by colorimetric assays using recently emerged adult flies from the diets. In chapter 1, in which only the standard banana diet was used, *D. willistoni* showed significant differences with *D. maculifrons* and *D. ornatifrons* for all the analyzed traits, except for the glycogen content, while *D. maculifrons* and *D. ornatifrons* only differed with respect to dry weight and triglyceride content. *Drosophila ornatifrons* showed differences between populations for all traits analyzed, *D. maculifrons* did not show a population difference only for viability and *D. willistoni*, in addition to viability, the development time was also not different between populations. For the other traits, dry weight and metabolites, *D. maculifrons* and *D. ornatifrons* presented the same pattern of population differentiation, whereas for *D. willistoni* the population pattern was opposite to that of the other two species, except for the content of triglyceride. In chapter 2, in which the other three diets were tested, *Drosophila willistoni* was viable in all tested diets, while *D. maculifrons* was not viable in LPS, and *D. ornatifrons* showed very low viability in this diet. The development time of *D. willistoni* increased only in the LPS diet, did not vary in *D. maculifrons*, and an increase in *D. ornatifrons* as higher the carbohydrate concentration was the diet. In *D. willistoni*, by trivariate analysis, only glycogen responded to the increase in carbohydrate in the diet, being found at higher levels in individuals fed with LPS. In *D. maculifrons*, the content of the three metabolites did not show any relationship with the carbohydrate and protein levels of the diets. In *D. ornatifrons*, the variation of carbohydrates and proteins in the diet had a more evident effect on triglyceride and protein levels. Also, interpopulation variations in several traits were found in all species, trade-offs were detected between viability and development time (*D. willistoni* and *D. ornatifrons*), development time and glycogen content (*D. maculifrons* and *D. ornatifrons*) and between glycogen and triglyceride contents (*D. maculifrons*), and positive correlations between viability and glycogen (*D. ornatifrons*) and between triglycerides and total proteins (*D. maculifrons*). Thus, we concluded that the variations in the concentrations of macronutrients in the diets tested in the present work, exerted differential pressures on the different traits evaluated, demonstrating that the evolutionary history and differential adaptations to the environments are important to define the amplitude of response that the species can show.

**Key-words:** Standard banana diet; Proteic diet; High sugar diet; *Drosophila maculifrons*; *Drosophila ornatifrons*; *Drosophila willistoni*; Viability; Development time; Glycogen; Triglyceride; Protein.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.1</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das viabilidades (%) larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA) das populações (PoA, PMA, Caj) de <i>Drosophila willistoni</i> (A), <i>D. maculifrons</i> (B) e <i>D. ornatifrons</i> (C).....	<b>54</b>
<b>Figura 1.2</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) dos tempos de desenvolvimento (em horas) larva-pupa (TLP) e larva-adulto (TLA) das populações (PoA, PMA, Caj) de <i>Drosophila willistoni</i> (A), <i>D. maculifrons</i> (B) e <i>D. ornatifrons</i> (C).....	<b>55</b>
<b>Figura 1.3</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) do peso seco ( $\mu\text{g}$ ) de machos e fêmeas de populações (PoA, PMA, Caj) de <i>Drosophila willistoni</i> (A), <i>D. maculifrons</i> (B) e <i>D. ornatifrons</i> (C).....	<b>56</b>
<b>Figura 1.4</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das concentrações de triglicerídeo, glicogênio e proteínas totais, por peso seco ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ ), de machos e fêmeas de populações (PoA, PMA, Caj) de <i>Drosophila willistoni</i> , <i>Drosophila maculifrons</i> e <i>Drosophila ornatifrons</i> .....	<b>57</b>
<b>Figura 2.1</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) do peso seco ( $\mu\text{g}$ ) de machos e fêmeas das populações (PoA, PMA, Caj) de <i>Drosophila willistoni</i> (A), <i>D. maculifrons</i> (B) e <i>D. ornatifrons</i> (C) submetidas às dietas HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.....	<b>106</b>
<b>Figura 2.2</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das viabilidades (%) larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA), e dos tempos de desenvolvimento (em horas) larva-pupa (TLP) e larva-adulto (TLA) das populações de <i>Drosophila willistoni</i> submetidas às dietas HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.....	<b>107</b>
<b>Figura 2.3</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das concentrações de triglicerídeo (A), glicogênio (B) e proteínas totais (C), por peso seco ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ ), de machos e fêmeas de populações (PoA, PMA e Caj) de <i>Drosophila willistoni</i> , submetidas às dietas de HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.....	<b>108</b>
<b>Figura 2.4</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das viabilidades (%) larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA), e dos tempos de desenvolvimento (em horas) das populações de <i>Drosophila maculifrons</i> (PMA e Caj) submetidas às dietas HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.....	<b>109</b>
<b>Figura 2.5</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das concentrações de triglicerídeo (A), glicogênio (B) e proteínas totais (C), por peso seco ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ ), de machos e fêmeas de populações (PMA e Caj) de <i>Drosophila maculifrons</i> submetidas às dietas de HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.....	<b>110</b>
<b>Figura 2.6</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das viabilidades (%) larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA), e dos tempos de desenvolvimento (em horas) das populações de <i>Drosophila ornatifrons</i> (PMA e Caj) submetidas às dietas HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.....	<b>111</b>
<b>Figura 2.7</b> Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das concentrações de triglicerídeo (A), glicogênio (B) e proteínas totais (C), por peso seco ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ ), de machos e fêmeas de populações (PMA e Caj) de <i>Drosophila ornatifrons</i> submetidas às dietas de HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.....	<b>112</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.1.</b> ANOVA aninhada (1) e teste de Tukey <i>a posteriori</i> (2) das viabilidades larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA) nas espécies <i>Drosophila willistoni</i> , <i>D. maculifrons</i> e <i>D. ornatifrons</i> . SQ = soma dos quadrados; MQ = quadrados médios; GL = graus de liberdade. * $p \leq 0,05$ ; ** $p \leq 0,01$ .....	<b>50</b>
<b>Tabela 1.2</b> ANOVA aninhada (1) e teste Tukey <i>a posteriori</i> (2) dos tempos de desenvolvimento larva-pupa (TLP) e larva-adulto (TLA) nas espécies <i>Drosophila willistoni</i> , <i>D. maculifrons</i> e <i>D. ornatifrons</i> . SQ = soma dos quadrados; MQ = quadrados médios; GL = graus de liberdade. *** $p \leq 0,001$ .....	<b>50</b>
<b>Tabela 1.3</b> ANOVA aninhada (1) e teste de Tukey <i>a posteriori</i> (2) do peso seco dos adultos para as espécies <i>Drosophila willistoni</i> , <i>D. maculifrons</i> e <i>D. ornatifrons</i> . SQ = soma dos quadrados; MQ = quadrados médios; GL = graus de liberdade. *** $p \leq 0,001$ .....	<b>51</b>
<b>Tabela 1.4</b> ANOVA aninhada (1) e teste de Tukey (2) do conteúdo de triglicérideo, glicogênio e proteínas totais, por peso seco, nas espécies <i>Drosophila willistoni</i> , <i>D. maculifrons</i> e <i>D. ornatifrons</i> . SQ = soma dos quadrados; MQ = quadrados médios; GL = graus de liberdade. * $p \leq 0,05$ ; *** $p \leq 0,01$ ; **** $p \leq 0,001$ .....	<b>52</b>
<b>Tabela 2.1</b> Composição das três dietas com diferentes proporções de proteína/açúcar (HPS, EPS e LPS) utilizadas para o desenvolvimento das larvas de <i>Drosophila willistoni</i> , <i>Drosophila maculifrons</i> e <i>Drosophila ornatifrons</i> . Adaptado de Matzkin et al. (2011).....	<b>65</b>
<b>Tabela 2.2</b> Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações sobre a viabilidade larva-adulto (VLA), o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA), e os conteúdos de triglicérideo, glicogênio e proteínas em <i>Drosophila willistoni</i> . IC = Intervalo de Confiança.....	<b>69</b>
<b>Tabela 2.3</b> Matriz de variância, covariância (abaixo da diagonal) e correlação (acima da diagonal) entre os caracteres analisados em <i>Drosophila willistoni</i> , <i>D. maculifrons</i> e <i>D. ornatifrons</i> . Amarelo = maiores valores positivos de covariância/correlação. Cinza = maiores valores negativos de covariância/correlação ( <i>trade-offs</i> ).....	<b>71</b>
<b>Tabela 2.4</b> Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações sobre a viabilidade larva-adulto (VLA), o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA), e os conteúdos de triglicérideo, glicogênio e proteínas em <i>Drosophila maculifrons</i> . IC = Intervalo de Confiança.....	<b>72</b>
<b>Tabela 2.5</b> Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações sobre a viabilidade larva-adulto (VLA), o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA), e os conteúdos de triglicérideo, glicogênio e proteínas em <i>Drosophila ornatifrons</i> . IC = Intervalo de Confiança.....	<b>73</b>
<b>Tabela 2.6</b> Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações (Caj, PMA e PoA) sobre a viabilidade larva-adulto (VLA) e o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA) em <i>Drosophila willistoni</i> .....	<b>102</b>
<b>Tabela 2.7</b> Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações (Caj, PMA e PoA) sobre as concentrações de triglicérideo, glicogênio e proteínas totais em <i>Drosophila willistoni</i> .....	<b>103</b>
<b>Tabela 2.8</b> Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações (Caj e PMA) sobre a viabilidade larva-adulto (VLA) e o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA) em <i>Drosophila maculifrons</i> e <i>Drosophila ornatifrons</i> .....	<b>104</b>
<b>Tabela 2.9</b> Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações (Caj e PMA) sobre as concentrações de triglicérideo, glicogênio e proteínas totais em <i>Drosophila maculifrons</i> e <i>Drosophila ornatifrons</i> .....	<b>105</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Caj	Cajuru/SP
DPB	Dieta Padrão de Banana
EPS	<i>Equal Protein/Sugar ratio</i> – Proporção igual proteína/açúcar na dieta
GL	Glicogênio
HPS	<i>High Protein/Sugar ratio</i> – Alta proporção proteína/açúcar na dieta
LPS	<i>Low Protein/Sugar ratio</i> – Baixa proporção proteína/açúcar na dieta
MÁX	Temperatura média máxima
MIN	Temperatura média mínima
PMA	Parque Municipal das Araucárias – Guarapuava/PR
PoA	Porto Alegre/RS
PS	Peso seco
PT	Proteína
TD	Tempo de desenvolvimento
TG	Triglicerídeo
TLA	Tempo de desenvolvimento Larva-Adulto
TLP	Tempo de desenvolvimento Larva-Pupa
T°	Temperatura média
UR	Umidade relativa do ar
VI	Viabilidade
VLA	Viabilidade Larva-Adulto
VLP	Viabilidade Larva-Pupa

## SUMÁRIO

<b>Introdução</b> .....	12
I)    O gênero <i>Drosophila</i> .....	12
II)   As espécies de interesse deste estudo.....	13
III)  Efeitos da dieta em organismos do gênero <i>Drosophila</i> .....	16
<b>Objetivos</b> .....	20
I)    Objetivos Gerais.....	20
II)   Objetivos Específicos.....	20
<b>Materiais e Métodos</b> .....	21
I)    Espécies e áreas de coleta.....	21
II)   Desenho experimental.....	21
<b>CAPÍTULO 1 - Variação bionômica e metabólica de três espécies Neotropicais de <i>Drosophila</i> revela influência do tipo de habitat e história evolutiva</b> .....	23
<b>RESUMO</b> .....	24
<b>ABSTRACT</b> .....	25
<b>1.1 Introdução</b> .....	26
<b>1.2 Materiais e Métodos</b> .....	28
1.2.1 Áreas de coleta.....	28
1.2.2 Desenho experimental.....	29
1.2.3 Análises dos caracteres de história de vida.....	29
1.2.4 Análises metabólicas.....	30
1.2.5 Análises estatísticas.....	30
<b>1.3 Resultados</b> .....	31
1.3.1 Viabilidade (VI) larva-pupa (VLP) e viabilidade larva-adulto (VLA).....	31
1.3.2 Tempos de desenvolvimento (TD) larva-pupa (TLP) e larva-adulto (TLA).....	31
1.3.3 Peso seco (PS) dos adultos.....	32
1.3.4 Conteúdos metabólicos.....	32
<b>1.4 Discussão</b> .....	34
<b>1.5 Conclusões</b> .....	40
<b>1.6 Agradecimentos</b> .....	42
<b>1.7 Lista de abreviações</b> .....	42
<b>1.8 Contribuições dos autores</b> .....	42
<b>1.9 Interesses Competitivos</b> .....	42
<b>1.10 Disponibilidade de dados e materiais</b> .....	43
<b>1.11 Consentimento para publicação</b> .....	43
<b>1.12 Consentimento ético de participação</b> .....	43

<b>1.13 Referências.....</b>	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO 2 - O que dietas proteicas e ricas em carboidratos revelam sobre aspectos ecológicos e evolutivos de três espécies Neotropicais de <i>Drosophila</i>?.....</b>	<b>58</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>59</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>60</b>
<b>2.1 Introdução.....</b>	<b>61</b>
<b>2.2 Materiais e Métodos.....</b>	<b>64</b>
2.2.1 Dietas, populações e desenho experimental.....	64
2.2.2 Análises de caracteres bionômicos.....	66
2.2.3 Análises metabólicas.....	66
2.2.4 Análises estatísticas.....	67
<b>2.3 Resultados.....</b>	<b>68</b>
2.3.1 <i>Drosophila willistoni</i> .....	68
2.3.2 <i>Drosophila maculifrons</i> .....	68
2.3.3 <i>Drosophila ornatifrons</i> .....	71
<b>2.4 Discussão.....</b>	<b>74</b>
<b>2.5 Referências Bibliográficas.....</b>	<b>81</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>90</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>91</b>
<b>APÊNDICE I.....</b>	<b>98</b>
<b>APÊNDICE II.....</b>	<b>99</b>
<b>APÊNDICE III.....</b>	<b>102</b>

## INTRODUÇÃO

### I) O gênero *Drosophila*

As moscas da família Drosophilidae (Insecta: Diptera) têm sido utilizadas como bioindicadores da qualidade e da heterogeneidade ambiental, e também em determinações de padrões de alterações demográficas espaciais e ambientais (MATEUS et al., 2006; TIDON, 2006; GOTTSCHALK et al., 2007; CAVASINI et al., 2014). Segundo Bächli (2020), cerca de 4500 espécies pertencem a esta família, subdividida em duas subfamílias, Steganinae e Drosophilinae, ambas possuindo mais de 60 gêneros, sendo o gênero *Drosophila* FALLÉN 1815, da subfamília Drosophilinae, o mais numeroso, com aproximadamente 2000 espécies, ou aproximadamente 50% das espécies da família. Essa situação desequilibrada é parcialmente o resultado do processo evolutivo real, em que membros do gênero *Drosophila* se adaptaram e irradiaram em uma variedade de nichos, e posteriormente diversificaram rapidamente (MARKOW; O'GRADY, 2005; 2006; MARKOW et al., 2008)

O gênero *Drosophila* se tornou um dos sistemas modelo mais importantes nas ciências biológicas. Por mais de um século, uma espécie desse gênero, a *Drosophila melanogaster*, tem sido fundamental para estudos de biologia do desenvolvimento e de genética de animais, organização e evolução de genomas e doenças humanas (O'GRADY; DESALLE, 2018). À medida que o sequenciamento de genomas inteiros se tornou mais viável economicamente, vem ocorrendo um interesse crescente em outros grupos e espécies desse gênero, que são diversificados morfológica, ecológica e comportamentalmente (O'GRADY; DESALLE, 2018). Algumas espécies do gênero *Drosophila* são endêmicas de certas regiões, enquanto outras são cosmopolitas, sendo que, muitas desta última categoria, dispersaram-se pelo mundo devido à sua capacidade de associação ao homem (TIDON-SKLORZ; SENE, 1999). As espécies desse táxon desempenham um papel importante em vários níveis tróficos, principalmente como decompositores, desempenhando um papel importante nos ciclos de nutrientes nos ecossistemas (BAHDER et al., 2016) e têm impactos nas cadeias alimentares saprofíticas, uma vez que seus estágios imaturos e também os adultos alimentam-se de organismos fermentadores. Leveduras são consideradas como uma importante fonte de alimento para a maioria das espécies de *Drosophila* sapropágica nos estágios adulto e larval (BEGON, 1982; BECHER et al., 2012) As espécies de leveduras podem diferir em composição e qualidade, dependendo da levedura em si e do ambiente em que a levedura cresce (GANTER, 2006). Várias espécies de *Drosophila* exibem uma relação específica com determinadas espécies ou grupos de leveduras,

dependendo da composição do substrato ou da distribuição biogeográfica das espécies de *Drosophila* (STARMER et al., 1986; 1990). Contudo, sabe-se também que várias espécies têm um efeito deletério em certas plantações, particularmente culturas de frutas com um exocarpo macio ou fino (CAPINERA, 2001; VAN DER LINDE et al., 2006).

As espécies do gênero *Drosophila* ocupam os mais variados ambientes de forma dispersa (WHEELER, 1982). Este gênero contém dez subgêneros (BAHDER et al., 2016; POWELL, 1997), destacando-se entre eles os subgêneros *Drosophila* e *Sophophora*. O primeiro é o mais numeroso em espécies, com mais de 720 espécies descritas, subdivididas em 43 grupos (BÄCHLI, 2020), sendo o maior representante da família Drosophilidae em regiões Neotropicais (VAL et al., 1981). O segundo, subgênero *Sophophora*, foi primeiramente descrito por Sturtevant em 1939 e compreende aproximadamente 335 espécies distribuídas em nove grupos (BÄCHLI, 2020). Estes dois subgêneros podem ter divergido entre 40 (RUSSO; TAKEZAKI; NEI, 1995) e 63 (TAMURA et al., 2004) milhões de anos atrás. Os eventos de especiação no gênero *Drosophila* não se distribuem regularmente no tempo, encontrando-se agrupados em determinados períodos do Cenozóico, principalmente naqueles no quais ocorreram resfriamentos climáticos, sendo que a adaptação a ambientes áridos e a fragmentação das antigas florestas foram os principais fatores que promoveram a especiação no gênero, isto é, estes eventos influenciaram a composição da variação genética, resultando em diversificação nas linhagens ao ponto de resultar em especiação. (TAMURA et al., 2004).

## **II) As espécies de interesse deste estudo**

As três espécies de *Drosophila* abordadas neste estudo compreendem linhagens neotropicais coletadas em ambientes que sofreram constantes modificações, sendo as mais recentes causadas pela atividade humana. A primeira delas é *D. maculifrons* DUDA 1927, pertencente ao grupo *guaramunu*, do subgênero *Drosophila*, juntamente com *D. griseolineata* e *D. guaraja* (YOTOKO et al., 2003; ROBE et al., 2005; ROBE et al., 2010a, 2010b). O seu padrão atual de distribuição compreende uma parte da região Neotropical, mais especificamente no Brasil e Peru (BÄCHLI, 2020). Porém, existe um grande espaço sem a sua ocorrência entre estes dois países. No Brasil, esta espécie pode ser encontrada no bioma Mata Atlântica no sul e sudeste, e em fragmentos de Mata Atlântica dentro do bioma Pampa (SALZANO, 1955) e também no Cerrado. A frequência desta espécie ao longo da sua distribuição parece variar tanto espacialmente (DE TONI et al., 2007; HOCHMÜLLER et al., 2010) quanto temporalmente, podendo haver uma correlação entre a sua abundância e a temperatura (POPPE; VALENTE; SCHMITZ, 2013).



Cenzi de Ré et al. (2014), analisando a variabilidade molecular de *D. maculifrons*, por meio de uma abordagem filogeográfica baseada nos genes mitocondrais Citocromo Oxidase I e II, encontraram que as populações brasileiras desta espécie estão estruturadas e apresentam uma diversidade mitocondrial muito baixa. Estes resultados podem ser explicados pela ocorrência de um evento de expansão populacional recente (há aproximadamente 12.000 anos). Outro estudo, utilizando marcadores moleculares alozimáticos em duas populações que ocorrem na fitofisionomia Floresta Ombrófila Mista (Mata com Araucária) no município de Guarapuava/PR (SILVA et al., 2015), mostrou baixa diferenciação genética e uma relação positiva entre tamanho do fragmento e taxa de fluxo gênico. Porém, este mesmo estudo não detectou uma baixa diferenciação para microssatélites, mostrando que o fluxo gênico deva ser restrito (SILVA et al., 2015). Quanto aos marcadores morfológicos, Trava (2014) detectou que populações de *D. maculifrons* do sul e sudeste do Brasil apresentam diferenças significativas para o tamanho e forma das asas, e para a forma dos edeagos. Porém, grande parte desta divergência foi observada entre aquelas populações localizadas em região de Floresta Estacional Semidecidual e a população do Parque das Araucárias, localizada na fitofisionomia Floresta Ombrófila Mista no estado do Paraná.

A segunda espécie neotropical de interesse é *Drosophila ornatifrons* DUDA 1927. Ela também pertence ao subgênero *Drosophila*, porém está alocada no grupo *guarani*, juntamente com as espécies *D. guaru*, *D. subbadia*, *D. tucumana* e *D. urubamba* (ROBE et al., 2005; 2010a; 2010b). Anteriormente, acreditava-se que ela fosse endêmica do bioma Mata Atlântica do Brasil (SENE et al., 1980), contudo ela tem sido coletada em diversos tipos de fragmentos florestais, tais como matas de galeria, enclaves xerofíticos, campos rochosos de altitude e outras áreas de transição entre a Mata Atlântica e os biomas adjacentes (ARAÚJO; VALENTE, 1981; TIDON-SKLORZ et al., 1994; VILELA; MORI, 1997; MATEUS et al., 2006; TIDON, 2006; GOTTSCHALK et al., 2008). Ela também tem sido coletada na Colômbia, Bolívia, Equador e Uruguai (RAFAEL; VELA, 2000; GOÑI et al., 2012). Apesar de ocorrer somente em fragmentos florestais, e também ser obtida utilizando iscas padrão de *Drosophila*, isto é, banana fermentada (DOS SANTOS et al., 2010), *D. ornatifrons* demonstrou uma capacidade diferencial de exploração de recursos, uma vez que foi a espécie de *Drosophila* mais abundante em coletas em um fragmento florestal do Uruguai, onde iscas com esterco e carniça foram utilizadas (GOÑI et al., 2012).

*Drosophila ornatifrons* também foi analisada anteriormente quanto a variabilidade molecular e morfológica. Gustani et al. (2015) estudaram a variabilidade molecular dos genes mitocondriais Citocromo Oxidase I e II e detectaram baixa diversidade para esta espécie, provavelmente devido a ocorrência de um evento que levou a perda da variação, tal como um gargalo

de garrafa (*bottleneck*) ou seleção natural. Este evento foi seguido de expansão populacional, que, possivelmente, teve início após o último máximo glacial (entre 20.000 e 18.000 anos atrás; CLARK et al., 2009), e se intensificou mais especificamente na transição entre o Pleistoceno e o Holoceno, a 12.000 anos atrás. Como pode ser observado, estes dados sobre a sua expansão são semelhantes aos encontrados para *D. maculifrons* (CENZI DE RÉ et al., 2014). Com relação à morfologia, Trava (2014) observou que houve diferenciação significativa para o tamanho e a forma das asas e não houve diferenciação morfológica significativa para a forma do edeago entre as populações de *D. ornatifrons*. Como uma forma de explicar os resultados em relação aos marcadores moleculares e morfológicos para as duas espécies acima, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, os autores têm proposto que *D. maculifrons* deva ser mais generalista que a sua espécie irmã, *D. griseolineata*, e também que *D. ornatifrons* (CENZI DE RÉ et al., 2014; TRAVA, 2014).

Com base nos dados acima, a evolução e a divergência morfológica entre as populações de *D. maculifrons* parecem estar relacionadas a diferença de temperatura e umidade entre os locais de coleta analisados em Florestas Ombrófila Mista e Floresta Estacional Semidecidual, e/ou ligadas provavelmente a exploração diferencial de nichos para esta espécie (TRAVA, 2014). Os resultados das coletas de Dos Santos et al. (2010), utilizando iscas de banana fermentada, e de Goñi et al. (2012), com iscas de esterco e carniça, parecem indicar realmente tal diferença. Quanto à utilização de diferentes recursos alimentares, Trava (2014) sugere que *D. maculifrons* deva ser mais generalista que *D. ornatifrons*. Porém, quando somente à exploração de frutos é considerada, Valadão et al. (2019) mostrou que *D. maculifrons* é encontrada em 25 espécies plantas frutíferas, corroborando que *D. maculifrons* é mais generalista que *D. ornatifrons*, a qual foi encontrada utilizando 14 espécies de plantas frutíferos como substrato. Porém, já foi demonstrado que *D. ornatifrons* tem a capacidade de explorar outros recursos além de frutos, tendo em vista que ela foi coletada em iscas contendo esterco e carniça (GOÑI et al., 2012). Assim, muito ainda precisa ser explorado sobre este assunto nestas espécies

Outra espécie de *Drosophila* com distribuição Neotropical, que também ocorre em fragmentos de matas e que é de interesse deste trabalho, é *D. willistoni* STURTEVANT 1916. Entretanto, esta espécie apresenta a diferença de poder ser encontrada também em ambientes antropizados (VALENTE et al., 1993; GOTTSCHALK et al., 2007), o que demonstra uma capacidade exploratória de recursos mais ampla que as duas anteriores. Ao contrário das outras duas espécies de interesse deste trabalho, esta pertence ao subgênero *Sophophora*, e dentro deste, está alocada no grupo *willistoni*, subgrupo *willistoni*, juntamente com *D. paulistorum*, *D. tropicalis*, *D. insularis*, *D. equinoxialis* e *D. pavloskiana* (BÄCHLI, 2020). Todas estas espécies estão amplamente

distribuídas na região Neotropical, sendo que *D. willistoni* tem a mais ampla distribuição, com registros de desde o norte da Argentina, até na América do norte, no México e na Flórida, nos Estados Unidos (VAL; VILELA; MARQUES, 1981; BÄCHLI, 2020). Esta espécie de drosofilídeo é a mais comum em levantamentos de drosofilídeos em florestas da América do Sul (FROTA-PESSOA, 1954; EHRMAN; POWELL, 1982).

Vários estudos abordando aspectos morfológicos, ecológicos, comportamentais, genéticos e evolutivos das espécies irmãs do subgrupo *willistoni* têm sido realizados por Valente e colaboradores (BASSO DA SILVA; VALENTE, 2001; REGNER; VALENTE, 1993; ROBE et al., 2010; ROHDE et al., 2006; VALENTE; ARAÚJO, 1986b; VALENTE et al., 1993;. VALIATI; VALENTE, 1996; SAAVEDRA et al., 2001; ZANINI; DEPRÁ; VALENTE, 2015a; 2015b; 2015c; 2016). A capacidade de *D. willistoni* de explorar ambientes tão diferentes tem sido fonte de debate em muitos trabalhos, pois, apesar de ser considerada uma espécie representativa em ambientes de mata, ela consegue sobreviver em formações abertas (DA CUNHA; DOBSZHANSKY, 1954; DA CUNHA et al., 1959; DOBZHANSKY; POWELL, 1975), e ambientes urbanos (SANTOS; VALENTE, 1990; VALENTE et al., 1993; GOTTSCHALK et al., 2007), como já mencionado anteriormente.

As espécies *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, ambas pertencentes ao subgênero *Drosophila*, são mais próximas filogeneticamente do que em relação à *D. willistoni*, que está alocada no subgênero *Sophophora* (VAN DER LINDE et al., 2010). Assim, pode ser especulado que num maior tempo de divergência, *D. willistoni* deva ter possivelmente acumulado mais diferenças no seu modo de vida, incluindo características relacionadas ao hábito alimentar, quando comparada com as outras duas espécies. Devido ao conservadorismo de muitos traços das espécies na evolução de uma linhagem ou ao sinal filogenético, espera-se, em geral, uma relação positiva entre uma medida da relação filogenética de duas espécies e uma medida de sua história de vida geral e semelhança ecológica (BROOKS; MCLENNAN, 1991; FELSENSTEIN, 1985; HARVEY; PAGEL, 1991; SILVERTOWN et al., 1997).

### **III) Efeitos da dieta em organismos do gênero *Drosophila***

Existem inúmeras abordagens experimentais para o exame, diferenciação e caracterização dos efeitos da dieta em *Drosophila*. Segundo Ormerod et al. (2017), dietas diferentes podem influenciar diretamente na expressão de fenótipos quantitativos, tais como características da fisiologia, da morfologia, do desenvolvimento e comportamento de animais, resultantes de

intrincadas redes de genes. No caso dos organismos do gênero *Drosophila*, as maiores diferenças comportamentais e fisiológicas resultantes da dieta, ocorrem durante os estágios larvais, mas com efeitos que persistem na idade adulta (ORMEROD et al., 2017).

A ocorrência de uma espécie em ambientes diversos, como é o caso de algumas das espécies de *Drosophila*, pode estar relacionada à capacidade de utilização de fontes nutricionais diferentes, conduzindo a respostas distintas frente a regimes nutricionais diversos devido a interação entre o genótipo e o ambiente. Assim, espécies e populações distintas e até mesmo linhagens diferentes, podem apresentar vulnerabilidade diferencial a mudanças de dieta. Para *Drosophila melanogaster* tem sido encontrada considerável variação intraespecífica frente a diferentes concentrações de açúcares e lipídeos na dieta (REED et al., 2010), o que sugere a presença de variabilidade genética nos diferentes componentes que compõem as rotas metabólicas destes nutrientes.

Diferenças nas adaptações metabólicas também são esperadas quando espécies ecologicamente diferentes são analisadas. A análise dos conteúdos metabólicos de proteínas, triglicerídeos e glicogênio de doze espécies ecologicamente distintas de *Drosophila* (MATZKIN et al., 2009) mostrou que as maiores diferenças muito provavelmente refletem a evolução de adaptações metabólicas às dietas ecologicamente diversas utilizadas por estas espécies. Por exemplo, *D. melanogaster* é uma espécie generalista do subgênero *Sophophora* que utiliza frutos em decomposição como fonte de alimentação, e *Drosophila mojavensis* é especialista, pertence ao subgênero *Drosophila*, e utiliza tecidos de cactos em decomposição como recurso alimentar. A quantidade de nitrogênio, fósforo (JAENIKE; MARKOW, 2003; MARKOW et al., 1999) e carboidratos (KIRCHER, 1982; KIRCHER; AL-AZAWI, 1985) encontrado no cacto é muito menor do que nos frutos. Assim, quando duas espécies que apresentam esta grande divergência ecológica e utilizam, cada uma delas, recursos tão diferentes, ao longo do tempo estas diferenças podem produzir adaptações metabólicas distintas para a sua sobrevivência diante das abundâncias e/ou deficiências de alguns micro e macronutrientes (MATZKIN et al., 2009; 2011).

Na natureza, os recursos utilizados por espécies de *Drosophila* variam amplamente, tendo já sido detectados substratos como fluxos de lodo de árvores, cogumelos, cactos, frutas, flores e outros tecidos vegetais em decomposição. Estes substratos são utilizados como locais de alimentação e reprodução para diferentes espécies (POWELL, 1997; MARKOW; O'GRADY, 2007). Essa variação na utilização do substrato sugere que o controle das vias metabólicas em *Drosophila* provavelmente deve ter sofrido alterações ao longo da sua história evolutiva. Por exemplo, diferenças no nitrogênio e fósforo no corpo de espécies ecologicamente diferentes de *Drosophila* indica que as espécies

apresentam adaptações metabólicas de acordo com a composição nutricional de seus hospedeiros (MARKOW et al., 1999; JAENIKE; MARKOW, 2003).

É comum espécies animais enfrentarem períodos de estresse nutricional, durante o qual os indivíduos continuam a se desenvolver, crescer e/ou se reproduzir, apesar da baixa quantidade ou qualidade dos alimentos (HOFFMANN; PARSONS, 1991). Kolss et al. (2009), testaram a evolução experimental para estudar a adaptação a esse estresse nutricional crônico em populações de *D. melanogaster*. O alimento pobre em nutrientes resultou em viabilidade ovo-adulto 20% menor, desenvolvimento ovo-adulto 70% mais longo e peso corporal adulto 50% menor. No entanto, segundo os autores, após 29–64 gerações de seleção, as populações selecionadas mudaram no sentido de aumentar a viabilidade ovo-adulto e de diminuir o tempo de desenvolvimento. As mudanças populacionais, como resposta às adversidades na alimentação, podem se dar tanto pela seleção de caracteres adaptativos pré-existentes, quanto por meio da plasticidade fenotípica (KOLSS et al., 2009).

As diferenças individuais no desenvolvimento de respostas metabólicas aos regimes nutricionais são uma função da interação entre genótipo e ambiente, com algumas populações de indivíduos sendo mais vulneráveis a mudanças na dieta do que outras (MATZKIN et al., 2011). De acordo com Reed et al. (2010), existe considerável variação intraespecífica em *D. melanogaster* em resposta a dietas com níveis diferentes de açúcar e lipídios, sugerindo a presença de variabilidade genética em diferentes componentes das vias metabólicas subjacentes. A variabilidade genética é a principal determinante associada à seleção na forma como os organismos processam nutrientes e pelos efeitos do conteúdo da dieta, por exemplo, no sucesso reprodutivo, imunidade e desenvolvimento (AYRES; SCHNEIDER, 2009; FELLOUS; LAZZARO, 2010; FRICKE et al., 2008; LAYALLE et al., 2005; PIPER et al., 2005; PIPER; PARTRIDGE, 2007; SKORUPA et al., 2008; VASS; NAPPI, 1998). Unckless, Rottschaefer e Lazzaro (2015) pesquisaram a variabilidade genética para reservas de nutrientes (glicose, glicogênio, glicerol, proteína, triglicerídeos e peso úmido) utilizando a plataforma *Drosophila* Genetic Reference Panel (DGRP), depois de criar as moscas em uma dieta com baixa e alta concentração de glicose. Os autores encontraram variação genética que explicava as respostas à determinadas dietas, mapeando as regiões responsáveis e a interferência da nutrição durante o desenvolvimento.

Segundo Kolss et al. (2009), diante de estresse nutricional, os organismos, podem, até certo ponto, ajustar sua fisiologia e mudar hábitos alimentares, por meio da plasticidade fenotípica, que é a capacidade de um genótipo único exibir uma gama de fenótipos em resposta à variação no ambiente

(PIGLIUCCI, 2001). Foi o que ocorreu em *D. melanogaster*, quando, em condições de superpopulação em laboratório, as larvas mais jovens atacaram e consumiram regularmente outras larvas da mesma espécie, sugerindo que, pelo menos em condições de laboratório, a predação co-específica em *Drosophila* é um comportamento funcional e adaptativo, que pode evoluir rapidamente em resposta às condições nutricionais precárias (VIJENDRAVARMA; NARASIMHA; KAWECKI, 2013).

Também tem sido detectado um aumento acentuado da deposição de gordura nas moscas de *Drosophila* em dietas com alto teor de açúcar, que foram suprimidas por leveduras e amplamente dissociadas do conteúdo calórico geral. Embora as moscas fossem mais magras ao consumir uma dieta rica em proteínas e com pouco carboidrato, sua longevidade foi severamente reduzida. De fato, para um determinado nível de ingestão calórica, as moscas sobreviveram melhor ao consumir uma dieta com níveis intermediários de ambos os nutrientes. Assim, parece plausível que uma forte adesão a dietas ricas em componentes alimentares específicos, em detrimento de outros, pode diminuir a viabilidade do organismo (LAGIOU et al., 2007).

Devido à existência de considerável sobreposição nas vias metabólicas dos seres humanos e das moscas do gênero *Drosophila* (CHEN; CROWTHER, 2012; PANDEY; NICHOLS, 2011), estas, particularmente a espécie *D. melanogaster*, tem se tornado um sistema modelo útil para estudar uma variedade de doenças humanas. Cerca de 74% de todos os genes humanos considerados causadores de doenças (de acordo com o banco de dados *Online Mendelian Inheritance in Man*) têm homólogos em *Drosophila* (LESSING; BONINI, 2009). As moscas têm uma série de características, que as tornam adequadas para o estudo de diabetes e suas complicações (GRAHAM; PICK, 2017; MUSSELMAN et al., 2011.). Tal como seres humanos, as moscas são confrontadas com a decisão metabólica de armazenar ou mobilizar reservas de energia em face da disponibilidade nutricional variável, e também armazenam energia na forma de triglicerídeos e glicogênio, que são mobilizados em momentos de necessidade (TELEMAN; RATZENBÖCK; OLDHAM, 2012). Exemplo disso é que moscas de *D. melanogaster* alimentadas com uma dieta rica em sacarose mostraram-se hiperglicêmicas e resistentes à insulina. Como consequência, exibiram alterações na expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico, tornando-se obesas, todas as características do diabetes tipo 2 (MUSSELMAN et al., 2011). Isto demonstra mais uma vez a importância do uso deste organismo modelo em estudos abordando os mais diversos problemas biológicos.

## OBJETIVOS

### Objetivos Gerais

Os objetivos gerais deste estudo foram avaliar os efeitos de diferentes dietas sobre características de história de vida (bionômicas) e metabólicas nas espécies *Drosophila maculifrons*, *D. ornatifrons* e *D. willistoni*, investigando as bases ecológicas e genéticas da variabilidade na utilização diferencial de recursos alimentares por essas espécies. Assim, pretende-se entender melhor como as diferenças interespecíficas, e também a ocorrência das três espécies em diferentes fitofisionomias do Bioma Mata Atlântica, afetam características adaptativas e metabólicas, e também, determinar qual é a relação dos resultados obtidos com o processo adaptativo, a biologia e a história evolutiva destas espécies.

### Objetivos Específicos

- Examinar os efeitos da dieta padrão de banana (DPB - banana-ágar) e de três dietas contendo concentrações diferentes de proteína e carboidratos (HPS: maior proporção proteína:açúcar (HPS); EPS: proporção intermediária proteína:açúcar, e; LPS: menor proporção proteína:açúcar) sobre a viabilidade (sobrevivência) das larvas até o estágio de pupas, e até emergência dos adultos, em linhagens recém coletadas de *Drosophila maculifrons*, *D. ornatifrons* e *D. willistoni*.
- Analisar os efeitos das quatro dietas (DPB, HPS, EPS e LPS) sobre o tempo de desenvolvimento larva-pupa e larva-adulto em linhagens recém coletadas de *Drosophila maculifrons*, *D. ornatifrons* e *D. willistoni*.
- Medir o peso seco corporal de linhagens recém coletadas de *Drosophila maculifrons*, *D. ornatifrons* e *D. willistoni* submetidas às quatro dietas (DPB, HPS, EPS e LPS).
- Quantificar o conteúdo de proteínas totais, triglicerídeos e glicogênio de linhagens recém coletadas de *Drosophila maculifrons*, *D. ornatifrons* e *D. willistoni* submetidas às quatro dietas (DPB, HPS, EPS e LPS).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### I) Espécies e áreas de coleta

Neste estudo foram realizadas coletas de *Drosophila maculifrons*, *Drosophila ornatifrons* e *Drosophila willistoni* em fragmentos de Mata Atlântica do sudeste e sul do Brasil. No sudeste foi possível obter amostras das três espécies a partir de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual localizado na Fazenda Santa Cecília (21°20'33,33"S, 47°16'0,83"O), em Cajuru/SP (Caj). No sul, amostras das três espécies foram obtidas num fragmento de Floresta Ombrófila Mista (Mata de Araucária) no Parque Natural Municipal das Araucárias (PMA), Guarapuava/PR (25°23'36"S, 51°27'19"O). Ainda no sul, apenas *D. willistoni* foi coletada em um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual no Morro Santana, dentro do *Campus* da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (30°01'59"S, 51°13'48"O), em Porto Alegre/RS (PoA). Indivíduos de cada população e de cada espécie foram coletados a partir de armadilhas abertas, distribuídas no chão dentro da mata, e utilizando rede entomológica para captura, de acordo com o método descrito por Dos Santos et al. (2010), com modificações (foram utilizadas apenas iscas de banana, laranja e fermento biológico).

As moscas capturadas foram transferidas para garrafas contendo meio de cultura e transportadas para o laboratório para triagem. As fêmeas identificadas como sendo dos grupos *guaramunu*, *guarani* e *willistoni* (chave de identificação de Freire-Maia e Pavan, 1949) foram colocadas individualmente em vidros contendo meio de cultura padrão para *Drosophila* para a obtenção de linhagens isofêmeas (isolinhagens). Os machos das possíveis linhagens de *D. willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, descendentes destas fêmeas coletadas na natureza, foram analisados quanto à sua genitália para a correta identificação da espécie (VILELA; BÄCHLI, 1990; ZANINI; DEPRÁ; VALENTE, 2016). Aquelas linhagens identificadas como sendo das três espécies de interesse foram mantidas em laboratório em meio de cultura padrão (banana-ágar).

### II) Desenho experimental

Três linhagens de *D. willistoni*, duas de *D. maculifrons* e duas de *D. ornatifrons* (uma linhagem de cada local de coleta), foram submetidas aos experimentos do efeito das dietas. Foram preparados quatro tipos de dietas. A dieta padrão de banana-ágar (DPB – APÊNDICE I) foi utilizada pois todas as espécies se desenvolvem bem na mesma. As outras três dietas apresentaram variação nas concentrações de açúcares e proteínas, de acordo com o descrito por Matzkin et al. (2011): HPS – maior relação proteínas : açúcares; EPS – relação proteínas : açúcares intermediária, e; LPS – menor



relação proteínas : açúcares. Foram testados a viabilidade (ou sobrevivência), o tempo de desenvolvimento, o peso seco corporal e os conteúdos metabólicos de triglicerídeo, glicogênio e proteínas totais, quando as larvas das três espécies foram criadas nas quatro dietas. Detalhes das análises realizadas estão descritos nos capítulos que seguem.

## Capítulo 1

Capítulo elaborado nas normas para ser submetido à revista *Zoological Studies*

<http://zoolstud.sinica.edu.tw/info/ZSIFA.pdf>

Variação bionômica e metabólica de três espécies Neotropicais de *Drosophila* revela influência do tipo de habitat e história evolutiva

Camila Heloise dos Santos, Luciana Paes de Barros Machado, Rogério Pincela Mateus\*

*Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Campus CEDETEG, Élio Antonio Dalla Vecchia Alley, 838, Vila Carli, Guarapuava, PR 85040-167, Brasil. E-mail: [chscamilasantos@yahoo.com](mailto:chscamilasantos@yahoo.com), [lpbmachado@gmail.com](mailto:lpbmachado@gmail.com), [rogeriopmateus@gmail.com](mailto:rogeriopmateus@gmail.com)*

\*Correspondência: Tel: +55 42 3629-8179. Fax: +55 42 3629-8145. Email: [rogeriopmateus@gmail.com](mailto:rogeriopmateus@gmail.com)

## RESUMO

A exploração diferencial dos recursos naturais por espécies de *Drosophila* tem efeitos no valor adaptativo, com modificações nas características de história de vida e metabólicas. A variação destes caracteres em diferentes ambientes tem sido pouco estudada em espécies de *Drosophila* do Neotrópico. Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil dos caracteres bionômicos, viabilidade (VI), tempo de desenvolvimento (TD) e peso seco (PS), e dos conteúdos dos metabólitos triglicérido (TG), glicogênio (GL) e proteína (PT) em populações de diferentes ambientes de três espécies de *Drosophila* Neotropicais: *D. willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. VI foi determinada como a porcentagem de pupas e adultos que emergiram a partir das larvas de segundo instar transferidas para dieta padrão banana/ágar; TD foi estimado como o período (em horas) transcorrido entre a fase larval e o surgimento de pupas e adultos; PS e os conteúdos de TG, GL e PT foram determinados nas moscas adultas recém emergidas. Foram analisadas três populações de *D. willistoni*, PoA, PMA e Caj, e as duas últimas para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. Não houve diferenças significativas interpopulacionais para VI e TD em *D. willistoni*. Para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, PMA apresentou maior TD, e apenas para *D. ornatifrons* foi observada relação inversa entre TD e VI em PMA. PS foi maior nas fêmeas das três espécies e em PMA para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, enquanto *D. willistoni* apresentou maior PS em PoA e não houve diferença entre PMA e Caj. Para os conteúdos metabólicos, apenas as fêmeas de *D. willistoni* e *D. ornatifrons* apresentaram maior concentração de TG e GL, e de PT, respectivamente, que os machos, e somente para TG foi observado o mesmo padrão populacional entre as espécies, sendo significativamente maior em PMA. Os conteúdos de GL e PT foram superiores em Caj para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, enquanto que para *D. willistoni* GL foi maior em PoA e menor em Caj, e PT foi superior em PMA. Os resultados indicam que houve variação populacional nos caracteres analisados, provavelmente em decorrência do tipo de habitat, sugerindo um padrão ambiental de respostas específicas. Assim, as respostas adaptativas à esta variação ambiental são um produto das pressões seletivas impostas ao longo da história evolutiva das espécies, e são inversas entre as espécies restritas a ambientes naturais, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, e a espécie antropizada, *D. willistoni*.

**Palavras-chave:** *Drosophila willistoni*, *Drosophila maculifrons*, *Drosophila ornatifrons*, Caracteres de história de vida, Conjunto de metabólitos.

## ABSTRACT

The differential exploitation of natural resources by *Drosophila* species has effects on fitness, with changes in life history and metabolic traits. The variation of these characters in different environments has few studies in Neotropical species of *Drosophila*. This study aimed to evaluate the profile of biometric traits, such as viability (VI), development time (TD) and dry weight (PS), and the metabolic pools of triglyceride (TG), glycogen (GL) and protein (PT) in populations of different environments of three Neotropical species of *Drosophila*: *D. willistoni*, *D. maculifrons* and *D. ornatifrons*. VI was determined as the percentage of pupae and adults that emerged from second instar larvae transferred to a standard banana/agar diet; TD was estimated as the period (in hours) between the larval phase and the appearance of pupae and adults; PS and the contents of TG, GL and PT were determined in the newly emerged adult flies. Three populations of *D. willistoni*, PoA, PMA and Caj, and the two for *D. maculifrons* and *D. ornatifrons* (PMA and Caj) were analyzed. No significant inter-population differences were detected for VI and TD in *D. willistoni*. For *D. maculifrons* and *D. ornatifrons*, PMA presented a higher TD, and only for *D. ornatifrons* an inverse relationship was observed between TD and VI in PMA. PS was higher in females of the three species and in PMA for *D. maculifrons* and *D. ornatifrons*, while *D. willistoni* presented higher PS in PoA and no difference was observed between PMA and Caj. For the metabolic pools, only the *D. willistoni* and *D. ornatifrons* females showed a higher concentration of TG and GL, and of PT, respectively, than males, and only for TG the same population pattern was observed between species, being significantly higher in PMA. The contents of GL and PT were higher in Caj for *D. maculifrons* and *D. ornatifrons*, whereas for *D. willistoni*, GL was higher in PoA and lower in Caj, and PT was higher in PMA. The results indicated a population variation in the traits analyzed, probably due to the type of habitat, suggesting an environmental pattern of specific responses. Thus, the adaptive responses to this environmental variation are a product of the selective pressures imposed over the evolutionary history of the species, and be inverse among species restricted to natural environments, *D. maculifrons* and *D. ornatifrons*, and the anthropized specie, *D. willistoni*.

**Key words:** *Drosophila willistoni*, *Drosophila maculifrons*, *Drosophila ornatifrons*, Life history traits, Metabolic pools.

## 1.1 Introdução

Características de história de vida, como viabilidade, tempo de desenvolvimento e peso, além da concentração de metabólitos de um organismo, são traços quantitativos resultantes da interação entre o genótipo e o ambiente, sendo influenciados por inúmeras variáveis ambientais, além de fatores internos, tais como os níveis de estresse, a atividade do sistema imunológico, a composição do microbioma intestinal, a qualidade e o conteúdo calórico da dieta, entre outros (Rose 1983; Hoffmann e Parsons 1989; Partridge e Sibly 1991; Rose e Bradley 1998; Matzkin et al. 2009; Jumbo-Lucioni et al. 2010; Matzkin et al. 2011; Jehrke et al. 2018; Flatt 2020). O resultado da ação conjunta de todos esses parâmetros determina o valor adaptativo dos indivíduos, assim estudos sobre essas relações são essenciais para a compreensão do processo de adaptação e da evolução dos caracteres da história de vida de um organismo.

O tempo de desenvolvimento em *Drosophila* é um caráter plástico sujeito à pressões seletivas, tais como competição intra e interespecífica. Espécies com maior tempo de desenvolvimento são mais susceptíveis à competição, enquanto as espécies com desenvolvimento mais rápido apresentam maior habilidade competitiva, visto que, na natureza, as larvas exploram recursos escassos que se esgotam rapidamente (Bakker 1969; Zwaan et al. 1995; Nunney 1996; Chippindale et al. 1997; Prasad et al. 2000; Wertheim et al. 2000; Krijger et al. 2001; Ghosh et al. 2019; Shrader et al. 2020). Já foi relatado que um longo período larval tem consequências deletérias em outros caracteres de história de vida, como a redução do tamanho corporal, na fecundidade e sucesso de acasalamento (Tantawy e Vetukhiv 1960; Bakker 1962; Tantawy 1961; Bakker 1969; Partridge e Farquhar 1983; Atkinson 1985; Zwaan et al. 1991; Nunney 1996; Joshi et al. 1998)

Um maior peso corporal resulta em um incremento no valor adaptativo, moscas maiores apresentam maior resistência a jejum, pois armazenam mais metabólitos energéticos, além de poder aumentar a fecundidade e longevidade das fêmeas, e o sucesso para acasalamento nos machos (Zwaan et al. 1991; Hillesheim e Stearns 1992; Pitnick e García-González 2002). Além do peso corporal, as reservas metabólicas energéticas também podem ser afetadas pela temperatura, pois a ingestão de alimentos e a taxa metabólica variam igualmente com a temperatura (Klepsatel et al. 2016, 2019).

*Drosophila melanogaster* é um modelo biológico muito utilizado no estudo da evolução de caracteres de história de vida e de mecanismos fisiológicos e patologias associadas com a alimentação (Merritt et al. 2006; Reed et al. 2010; Matzkin et al. 2011; Na et al. 2013; Jehrke et al. 2018; Flatt 2020). Entretanto, há menos informação disponível sobre a variação intra e interespecífica dessas

características, especialmente em espécies de *Drosophila* de áreas naturais da região Neotropical, onde o processo de divergência adaptativa pode ser acentuado pela variedade de recursos e tipos de habitats disponíveis. Os recursos utilizados para alimentação e sítios de acasalamento e oviposição pelas espécies de *Drosophila* Neotropicais são muito variados, desde cactos, frutos, flores, fungos, esterco e até carcaças animais (Powell 1997; Gottschalk et al. 2009; Goñi et al. 2012; da Mata et al. 2015; Valadão et al. 2019). A diversificação de tipos de habitats e seus recursos associados resulta em diferentes respostas adaptativas do metabolismo e dos caracteres de história de vida das espécies de *Drosophila* do Neotrópico.

Matzkin et al. (2009) estudaram a variação do metabolismo em 12 espécies de *Drosophila* ecologicamente divergentes que tiveram seus genomas sequenciados. Nove destas espécies pertencem ao subgênero *Sophophora*, e três ao subgênero *Drosophila*, sendo duas cactófilas. Desta maneira, existe uma lacuna para modelos Neotropicais não cactófilos do subgênero *Drosophila*, e sobre a variação interpopulacional destes caracteres em populações provenientes de diferentes tipos de habitat para ambos subgêneros nesta região.

Uma das conclusões do trabalho de Matzkin et al. (2009) aponta que embora o controle dos metabólitos analisados possa ser semelhante entre as espécies, ele parece ser evolutivamente plástico, podendo refletir a resposta às necessidades nutricionais de populações. Com o objetivo de auxiliar na elucidação dessa questão, além de aumentar a amostragem com espécies de outras regiões, este trabalho analisou a variação do metabolismo e de caracteres de história de vida em três espécies de *Drosophila* não cactófilas provenientes de diferentes populações recém-coletadas em áreas naturais da Mata Atlântica brasileira. Foram analisadas uma espécie do subgênero *Sophophora*, *D. willistoni* (grupo *willistoni*), e duas do subgênero *Drosophila*, *D. maculifrons* (grupo *guaramunu*) e *D. ornatifrons* (grupo *guarani*). As três espécies apresentam distribuição no Neotrópico, e na Mata Atlântica do Brasil ocorrem em diferentes fitofisionomias. Enquanto *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* são restritas às áreas de mata da região Neotropical, *D. willistoni* apresenta distribuição mais ampla e em ambientes antropizados, sendo, entre as espécies neotropicais, uma das mais generalistas (Val et al. 1981; Medeiros e Klaczko 2004; Mateus et al. 2006; Gottschalk et al. 2007; Döge et al. 2008; Hochmüller et al. 2010; Cavasini et al. 2014; Coutinho-Silva et al. 2017; Mendes et al. 2017; Mateus et al. 2018; Valadão et al. 2019; TaxoDros 2020). A aplicação desta abordagem permite inferir sobre qual o papel da adaptação e da história evolutiva que determinam a abrangência de utilização de recursos e ocupação de habitats de uma espécie.

Considerando a variedade de recursos e tipos de habitats disponíveis nas diferentes fitofisionomias da Mata Atlântica brasileira, a questão central deste estudo é avaliar diferenças intra e interespecífica em traços clássicos da história de vida (viabilidade, tempo de desenvolvimento, peso seco) e na resposta metabólica (conteúdos de triglicerídeo, glicogênio e proteína) em espécies Neotropicais de *Drosophila*. Todos os caracteres analisados mostraram diferentes respostas adaptativas populacionais. Enquanto as espécies filogeneticamente próximas e de ocorrência restrita a ambientes naturais, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, apresentaram o mesmo padrão populacional, *D. willistoni*, pertencente a outro subgênero e ampla distribuição, inclusive em áreas antropizadas, revelou perfil oposto ao das outras duas espécies para a maioria dos caracteres analisados. O possível papel do ambiente de coleta na resposta adaptativa dos caracteres analisados e da capacidade de exploração de recursos e habitats das espécies são discutidos.

## 1.2 Materiais e Métodos

### 1.2.1 Áreas de coleta

Foram realizadas coletas de drosofilídeos em três áreas da Mata Atlântica brasileira com características de clima e fitofisionomias distintas:

1) Parque Municipal das Araucárias, Guarapuava-PR (PMA), um fragmento de Floresta Ombrófila Mista (Mata de Araucária); temperatura média ( $T^{\circ}$ ) = 17,6° C (mínima – MIN - = 13,4° C; máxima – MÁX - = 24,1° C); umidade relativa média (UR) = 82,2%. Esta região é caracterizada por verões com temperaturas amenas, e outono e inverno com geadas frequentes e severas;

2) Fazenda Santa Cecília, Cajuru-SP (Caj), fragmento de Floresta Estacional Semidecidual;  $T^{\circ}$  = 22,7° C (MIN = 15,6° C; MÁX = 30,4° C); UR = 67%. Nesta área o verão é quente e úmido e o inverno caracterizado por longos períodos sem precipitação, e;

3) Morro Santana, *Campus* da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS (PoA), fragmento de Floresta Estacional Semidecidual dentro do bioma Pampa;  $T^{\circ}$  = 20,1° C (MIN = 16,1° C; MÁX = 25,8° C); UR = 77,1%. Clima subtropical úmido, sem estação seca definida.

Os dados de temperatura e umidade relativa referem-se à média do período entre janeiro de 2009 e dezembro de 2018 (Instituto Nacional de Meteorologia 2019).

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas isolinhagens (ao longo do trabalho denominadas apenas como linhagens) de *D. willistoni* das três populações (uma de cada população),

e para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* isolinhagens das populações PMA e Caj. As coletas ocorreram entre fevereiro e abril de 2018 e assim que foram estabelecidas as isolinhagens, no mesmo ano, foram iniciados os experimentos.

### 1.2.2 Desenho experimental

Entre 50 a 80 fêmeas e machos virgens sexualmente maduros de cada isolinhagem foram colocados em câmaras embrionárias contendo placa de Petri com ágar 0,5% enriquecido com sacarose e levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) para indução da eclosão dos ovos. Diariamente, as placas com ágar foram substituídas, e as placas removidas com ovos foram armazenadas. Após 48h (*D. willistoni*) e 144h (*D. maculifrons* e *D. ornatifrons*) do cruzamento, larvas F1 de 2º instar foram transferidas para tubos com dieta padrão de banana (APÊNDICE I). Foram realizadas 10 réplicas para cada isolinhagem e espécie, cada uma contendo 40 (*D. willistoni*) e 30 (*D. maculifrons* e *D. ornatifrons*) larvas. Todos os experimentos foram realizados a  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo natural.

Dentre os drosofilídeos capturados por iscas de frutas, os grupos *willistoni* e o antigo grupo *guarani* (do qual *guarani* e *guaramunu* eram subgrupos, King 1947; Robe et al. 2010) foram os que apresentaram maior amplitude de utilização de recursos (Valadão et al. 2019). Assim, a dieta padrão de banana utilizada nos experimentos deste trabalho não seria um recurso estressante para o desenvolvimento larval das espécies analisadas, e as diferenças nos caracteres analisados refletiriam a adaptação ao ambiente de coleta, antes do que uma resposta a um recurso muito distinto do natural.

### 1.2.3 Análises dos caracteres de história de vida

A partir das pupas e adultos emergidos, foram estimados a viabilidade (VI) e o tempo de desenvolvimento (TD) de cada uma das populações das três espécies. VI foi expressa, primeiro, como a proporção média nas réplicas de larvas transferidas que atingiram o estágio de pupa (VLP) e, segundo, como a proporção de larvas que sobreviveram até o estágio adulto (VLA). TD foi medido de duas formas: o período médio decorrido (em horas) entre a transferência das larvas de 2º instar para o meio de cultura e o aparecimento das pupas (TLP); e como o período médio decorrido (em horas) entre a transferência das larvas de 2º instar para o meio de cultura e a emergência de adultos (TLA). As observações foram realizadas a cada quatro horas após o aparecimento da primeira pupa e emergência dos primeiros adultos, respectivamente. Todos adultos emergidos foram sexados e armazenados a  $20^{\circ}\text{C}$  negativos para posterior realização das análises metabólicas.

O peso seco (PS) foi determinado em 10 grupos para cada população e sexo das três espécies, cada um contendo cinco moscas para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, e 15 moscas para *D. willistoni*,



incubados durante três dias em estufa a 50° C. Após a secagem, PS foi determinado utilizando balança de precisão Shimadzu, modelo AY 220.

#### 1.2.4 Análises metabólicas

As análises metabólicas foram realizadas de acordo com o descrito por Matzkin et al. (2011) nos grupos de moscas secas descritos no item anterior. Cada grupo de moscas foi homogeneizado em 1 mL de tampão fosfato (25 mM KHPO<sub>4</sub>, pH 7,4) e centrifugado por 2 minutos a 12.000 rpm para a remoção de partículas que poderiam interferir nos ensaios colorimétricos. Um total de 800 µL do sobrenadante do homogeneizado foi coletado e armazenado a 20° C negativo para posterior análise dos conteúdos metabólicos.

As análises colorimétricas foram realizadas para a quantificação dos conteúdos de glicogênio (GL), triglicerídeo (TG) e proteínas solúveis totais (PT). Todos os protocolos das análises dos conteúdos metabólicos estão descritos em detalhes no APÊNDICE II. O conteúdo de GL foi medido utilizando o kit de enzimas Glicose Oxidase e Peroxidase (Sigma-Aldrich P7119), adicionando 0,1 unidades de Amiloglicosidase (Sigma-Aldrich) por mL de tampão de reação. As amostras (40 µL do homogeneizado + 200 µL de tampão de reação) foram incubadas a 37° C durante três horas, e a absorbância medida a 445 nm. O conteúdo de TG em cada amostra foi determinado utilizando o kit Triglicérides (Gold Analisa REF. 459, MS 80022230062). As amostras (40 µL do homogeneizado + 200 µL do reagente do *kit*) foram incubadas a 37° C por 30 minutos, e a absorbância medida a 500 nm. Foi realizada a análise apenas de triglicerídeos, e não de lipídeos totais (que incluem lipídeos cuticulares), pelo fato do objetivo deste trabalho ser avaliar os componentes envolvidos no armazenamento de energia. A concentração de PT foi determinada utilizando o ensaio do Ácido Bicinconínico, seguindo as instruções do fabricante (Sigma B9643), e a absorbância para quantificação de proteínas foi medida a 562 nm. As medidas de absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro Spectramax 190 da Molecular Devices. Cada conjunto metabólico foi mensurado pela média de triplicatas normalizadas por PS antes das análises estatísticas.

#### 1.2.5 Análises estatísticas

Os dados de VI, TD e dos conteúdos metabólicos foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) multifatorial, utilizando população e sexo como fatores. A comparação entre as espécies foi realizada por meio de uma ANOVA aninhada das populações dentro das espécies. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa Statistica 7 (StatSoft, Inc.), utilizando  $\alpha = 0,05$  (SOKAL; ROHLF, 1995).

### 1.3 Resultados

#### 1.3.1 Viabilidade (VI) larva-pupa (VLP) e viabilidade larva-adulto (VLA)

Não foram encontradas diferenças significativas em VI entre as populações de *D. willistoni* (mediana  $\pm$  erro padrão VLP/VLA: PoA =  $100 \pm 2,79/77,5 \pm 5,02$ , PMA =  $96 \pm 4,62/88,5 \pm 9,40$ , Caj =  $91 \pm 3,46/70 \pm 6,07$ ; VLP F = 0,66, p = 0,52; VLA F = 0,70, p = 0,50) e de *D. maculifrons* (mediana  $\pm$  erro padrão VLP/VLA: PMA =  $93,33 \pm 6,52/46,67 \pm 7,90$ , Caj =  $83 \pm 6,17/51,5 \pm 7,00$ ; VLP F = 0,175, p = 0,68; VLA F = 0,50, p = 0,48). Para *D. ornatifrons*, VI de PMA (mediana  $\pm$  erro padrão: VLP/VLA =  $73 \pm 6,66/39,5 \pm 6,56$ ) foi significativamente menor que Caj (mediana  $\pm$  erro padrão: VLP/VLA =  $93 \pm 2,62/80 \pm 4,31$ ), (VLP F = 7,96, p = 0,011; VLA F = 147,00, p  $\leq$  0,001). A comparação interespecífica revelou viabilidade significativamente maior de *D. willistoni* em comparação as outras duas espécies, e diferenças não significativas entre *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* (Figura 1.1, Tabela 1.1).

#### 1.3.2 Tempos de desenvolvimento (TD) larva-pupa (TLP) e larva-adulto (TLA)

Para a espécie *D. willistoni*, não houve diferença significativa em TD entre as populações (mediana  $\pm$  erro padrão TLP/TLA: PoA =  $96 \pm 1,14/230 \pm 26,67$ , PMA =  $95,5 \pm 0,44/225 \pm 21,63$ , Caj =  $99 \pm 0,34/230,5 \pm 38,48$ ) (F TLP = 2,53, p = 0,08; F TLA = 1,33, p = 0,26). Também não houve diferença entre os sexos para TLA (mediana  $\pm$  erro padrão: Fêmea/Macho PoA =  $223 \pm 1,63/234 \pm 1,90$ , PMA =  $222 \pm 1,55/234 \pm 1,54$ , Caj =  $225,5 \pm 0,83/232 \pm 0,84$ ), e também na interação entre população e sexo (F = 1,8, p = 0,23; F = 1,19, p = 0,30; respectivamente). Para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, TLP e TLA foram significativamente maiores em PMA (mediana  $\pm$  erro padrão: *D. maculifrons* TLP/TLA PMA =  $180 \pm 6,45/390 \pm 57,53$ ; Caj =  $156,5 \pm 5,44/310 \pm 4,56$ ; TLP F = 85,65, p  $\leq$  0,001; TLA F = 292,15, p  $\leq$  0,001; *D. ornatifrons* TLP/TLA PMA =  $249,5 \pm 8,31/430,5 \pm 62,08$ , Caj =  $120,5 \pm 7,01/299 \pm 35,77$ ; TLP F = 895,9, p  $\leq$  0,001; TLA F = 451,53, p  $\leq$  0,001). Em ambas espécies não houve diferença significativa para TLA entre os sexos (mediana  $\pm$  erro padrão: *D. maculifrons* Fêmea/Macho PMA =  $386 \pm 15,44/407 \pm 13,67$ , Caj =  $309 \pm 7,40/305 \pm 5,64$ ; F = 1,44, p = 0,23; *D. ornatifrons* PMA =  $415 \pm 10,30/442,5 \pm 13,73$ , Caj =  $298,5 \pm 8,56/298 \pm 7,69$ ; F = 1,52, p = 0,218) e nem na interação entre população e sexo (*D. maculifrons* F = 0,12, p = 0,72; *D. ornatifrons* F = 0,22, p = 0,64) (Figura 1.2).

A análise comparativa revelou que TLP e TLA são diferentes entre as espécies, bem como para as populações aninhadas dentro das espécies, e a comparação par-a-par mostrou que *D. willistoni*

é a espécie que difere das outras duas, com menor tempo de desenvolvimento (Figura 1.2), enquanto não foi encontrada diferença significativa entre *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* (Tabela 1.2).

### 1.3.3 Peso seco (PS) dos adultos

Peso seco (PS), neste trabalho, representa a comparação de tamanho entre as espécies, ou seja, as moscas com maior peso correspondem às maiores. As fêmeas das três espécies foram significativamente maiores que os machos (mediana  $\pm$  erro padrão Fêmea/Macho: *D. willistoni* = 186,66 $\pm$ 4,53; F = 57,71,  $p \leq 0,001$ ; *D. maculifrons* = 300 $\pm$ 8,10/260 $\pm$ 15,30; F = 10,24,  $p \leq 0,01$ ; *D. ornatifrons* = 360 $\pm$ 12,02/330 $\pm$ 13,05; F = 9,39,  $p \leq 0,01$ ). Além disso, também foram encontradas diferenças significativas no peso seco entre as populações de *D. willistoni*, sendo os indivíduos de PoA maiores que das outras populações (mediana  $\pm$  erro padrão: PoA = 173 $\pm$ 6,90, PMA = 163 $\pm$ 5,39, Caj = 169,5 $\pm$ 4,95, F = 13,39;  $p < 0,001$ ). Para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, os indivíduos de PMA foram significativamente maiores que Caj (mediana  $\pm$  erro padrão: *D. maculifrons* PMA = 310 $\pm$ 7,81, Caj = 260 $\pm$ 15,11, F = 11,95;  $p \leq 0,01$ ; *D. ornatifrons* PMA = 360 $\pm$ 8,74, Caj = 300 $\pm$ 12,10, F = 29,16;  $p \leq 0,001$ ) (Figura 1.3). No entanto, para nenhuma das espécies foi encontrada interação entre população e sexo (*D. willistoni* F = 0,147;  $p = 0,86$ ; *D. maculifrons* F = 1,32;  $p = 0,256$ ; *D. ornatifrons* F = 2,13;  $p = 0,153$ ) (Figura 1.3).

Todas as espécies apresentaram diferenças significativas para o peso seco, inclusive na comparação entre os sexos, entre as populações dentro das espécies, e na comparação par-a-par entre as espécies (Tabela 1.3), sendo que *D. ornatifrons* é a maior espécie, seguida por *D. maculifrons*, e *D. willistoni* é a menor.

### 1.3.4 Conteúdos metabólicos

#### - Triglicerídeo (TG):

As fêmeas de *D. willistoni* apresentaram maior concentração de TG que os machos (mediana  $\pm$  erro padrão Fêmea/Macho = 0,0882 $\pm$ 0,0084/0,0796 $\pm$ 0,0082, F = 4,57,  $p \leq 0,05$ ), enquanto que para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* não houve diferença significativa entre os sexos (mediana  $\pm$  erro padrão Fêmea/Macho: *D. maculifrons* = 0,3292 $\pm$ 0,0327/0,2755 $\pm$ 0,0571; F = 0,1,  $p = 0,752$ ; *D. ornatifrons* = 0,1618 $\pm$ 0,0210/0,1362 $\pm$ 0,0135; F = 2,798;  $p = 0,103$ ). Foi observado o mesmo padrão na concentração de TG entre as populações nas três espécies, sendo o conteúdo significativamente maior em PMA (mediana  $\pm$  erro padrão: *D. willistoni* PoA = 0,0794 $\pm$ 0,0122, PMA = 0,0860 $\pm$ 0,0115, Caj = 0,0879 $\pm$ 0,0060; F = 25,11,  $p \leq 0,001$ ; *D. maculifrons* PMA = 0,3964 $\pm$ 0,0358, Caj = 0,2671 $\pm$ 0,0488; F = 6,52,  $p \leq 0,01$ ; *D. ornatifrons* PMA = 0,2011 $\pm$ 0,0218, Caj = 0,1304 $\pm$ 0,0073)

(Figura 1.4). Nas três espécies não foram detectadas diferenças significativas na interação população e sexo (*D. willistoni*  $F = 12,03$ ,  $p = 0,141$ ; *D. maculifrons*  $F = 0,623$ ,  $p = 0,538$ ; *D. ornatifrons*  $F = 2,163$ ,  $p = 0,150$ ). A comparação entre as espécies mostrou que existe diferença estatisticamente significativa no conteúdo de TG entre elas, *D. maculifrons* apresentou maiores valores, seguida por *D. ornatifrons*, e *D. willistoni* a espécie com menor concentração deste metabólito; e também na comparação entre as populações aninhadas dentro das espécies, e nas comparações par-a-par entre as espécies (Figura 1.4, Tabela 1.4).

#### - Glicogênio (GL):

As fêmeas de *D. willistoni*, assim como para TG, também apresentaram maior concentração de GL que os machos (mediana  $\pm$  erro padrão Fêmea/Macho =  $0,0223 \pm 0,0016 / 0,0210 \pm 0,0013$ ;  $F = 4,26$ ,  $p \leq 0,05$ ), enquanto que para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* não houve diferenças significativas entre os sexos (mediana  $\pm$  erro padrão Fêmea/Macho: *D. maculifrons* =  $0,0299 \pm 0,0024 / 0,0205 \pm 0,0067$ ;  $F = 2,72$ ,  $p = 0,102$ ; *D. ornatifrons* =  $0,0202 \pm 0,0018 / 0,0178 \pm 0,0014$ ;  $F = 2,83$ ,  $p = 0,102$ ). *Drosophila maculifrons* e *D. ornatifrons* também mostraram o mesmo padrão populacional para a concentração de GL, com Caj apresentando maior concentração deste metabólito que PMA (mediana  $\pm$  erro padrão: *D. maculifrons* PMA =  $0,0181 \pm 0,0024$ , Caj =  $0,0322 \pm 0,0051$ ;  $F = 6,8$ ,  $p \leq 0,01$ ; *D. ornatifrons* PMA =  $0,0158 \pm 0,0020$ , Caj =  $0,0219 \pm 0,0012$ ;  $F = 6,307$ ,  $p \leq 0,05$ ). Já *D. willistoni* revelou padrão distinto na concentração de GL, sendo Caj a população com menor concentração deste metabólito, PoA com a maior, seguida por PMA (mediana  $\pm$  erro padrão: PoA =  $0,0305 \pm 0,0020$ , PMA =  $0,0236 \pm 0,0007$ , Caj =  $0,0153 \pm 0,0006$ ;  $F = 35,64$ ,  $p \leq 0,001$ ). Para as três espécies não foi detectado efeito significativo na interação população e sexo (*D. willistoni*  $F = 0,74$ ,  $p = 0,48$ ; *D. maculifrons*  $F = 0,93$ ;  $p = 0,4$ ; *D. ornatifrons*  $F = 0,97$ ;  $p = 0,33$ ) (Figura 1.4).

Não houve variação no conteúdo total de GL entre as espécies, nem na comparação par-a-par, entre os sexos, e na interação com as populações aninhadas nas espécies. Porém, houve diferença significativa entre as populações aninhadas dentro das espécies (Tabela 1.4), provavelmente devido ao fato das populações PoA de *D. willistoni* e Caj de *D. maculifrons* terem apresentado maiores concentrações de GL por peso seco do que as duas populações de *D. ornatifrons* (Figura 1.4).

#### - Proteínas totais (PT):

Apenas as fêmeas de *D. ornatifrons* apresentaram maior concentração de PT que os machos (mediana  $\pm$  erro padrão Fêmea/Macho =  $0,2780 \pm 0,0152 / 0,1923 \pm 0,0197$ ;  $F = 5,984$ ,  $p \leq 0,05$ ), enquanto para *D. willistoni* e *D. maculifrons* não houve diferença significativa entre os sexos

(mediana  $\pm$  erro padrão Fêmea/Macho: *D. willistoni* = 0,1748 $\pm$ 0,0127/0,1413 $\pm$ 0,0167; F = 3,98, p = 0,051; *D. maculifrons* = 0,1370 $\pm$ 0,0113/0,0940 $\pm$ 0,0260; F = 0,0098, p = 0,921). Essa diferença entre os sexos para *D. ornatifrons* foi pronunciada em PMA, enquanto Caj revelou valores similares entre os sexos (mediana  $\pm$  erro padrão Fêmea/Macho: PMA = 0,1984 $\pm$ 0,017/ 0,1428 $\pm$ 0,008; Caj = 0,2958 $\pm$ 0,016/0,3186 $\pm$ 0,0197). Assim como para os conteúdos de GL, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* seguiram o mesmo padrão populacional na concentração de PT, sendo Caj com valor significativamente superior a PMA (mediana  $\pm$  erro padrão: *D. maculifrons* PMA = 0,0845 $\pm$ 0,0098, Caj = 0,1506 $\pm$ 0,0231; F = 11,22, p  $\leq$  0,01; *D. ornatifrons* PMA = 0,1791 $\pm$ 0,0119, Caj = 0,2964 $\pm$ 0,0120; F = 59,452; p  $\leq$  0,001). Novamente para a concentração de PT, *D. willistoni* mostrou padrão populacional contrário ao das duas outras espécies, com PMA apresentando conteúdo significativamente maior deste metabólito, seguida por PoA, e Caj com a menor concentração entre as três populações (mediana  $\pm$  erro padrão: PoA = 0,1688 $\pm$ 0,0088, PMA = 0,2897 $\pm$ 0,0158, Caj = 0,1302 $\pm$ 0,0056; F = 56,34; p  $\leq$  0,001). Não houve diferença significativa na interação entre população e sexo para as três espécies (*D. willistoni* F = 2,10, p = 0,13; *D. maculifrons* F = 3,255, p = 0,0795; *D. ornatifrons* F = 3,384; p = 0,0740) (Figura 1.4).

A análise com todas as espécies resultou em diferenças significativas na concentração de PT por peso seco para todos os fatores, isto é, entre as espécies, entre as populações aninhadas dentro das espécies, entre os sexos e na interação populações aninhadas dentro das espécies com o sexo. A comparação par-a-par entre as espécies também demonstrou *D. willistoni* como a espécie mais distinta, apresentando conteúdo superior deste metabólito (Tabela 1.4).

## 1.4 Discussão

As espécies *D. willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* analisadas neste trabalho pertencem aos grupos de *Drosophila*, *willistoni* e *guarani* (atuais grupos *guaramunu* e *guarani*, respectivamente, Robe et al. 2010) que corresponderam a 30% dos recursos frutíferos amostrados para espécies de drosofilídeos capturados por iscas de frutas (Valadão et al. 2019). O generalismo destas espécies, refletido na habilidade de exploração de recursos, é ainda mais pronunciado quando considerado que elas também foram encontradas em substratos diferentes de tecidos vegetais, como fungos (*D. willistoni* e *D. maculifrons*, Gottschalk et al. 2009) e até mesmo esterco e carcaças animais (*D. ornatifrons*, Goñi et al. 2012).

A ampla distribuição geográfica de *D. willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* em diferentes tipos de habitats das áreas naturais do Neotrópico pode ter relação com a versatilidade de exploração de recursos alimentares e de oviposição (Val et al. 1981; Gottschalk et al. 2007, 2008; TaxoDros 2020). No entanto, a distribuição de *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* é mais restrita que *D. willistoni*. Enquanto esta última é encontrada em abundância em ambientes antropizados e diferentes biomas brasileiros, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* ocorrem preponderantemente em matas, e sua abundância parece ser influenciada por temperaturas mais amenas e alta umidade, como da Floresta Atlântica do sul e sudeste do Brasil. No entanto, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* podem ser raras ou ausentes em algumas fitofisionomias desta floresta, como Semidecídua, Ombrófila Densa da costa, além de florestas de galeria do cerrado e caatinga, de mangues e dunas, no bioma Pampa, na Amazônia e nordeste do Brasil (Dobzhansky e Pavan 1950; Salzano 1955; Martins 1987; Saavedra et al. 1995; Medeiros e Klaczko 2004; Mateus et al. 2006; Tidon 2006; Gottschalk et al. 2007; Schmitz et al. 2007; Chaves e Tidon 2008; Döge et al. 2008; Acurio e Rafael 2009; Bizzo et al. 2010; Hochmüller et al. 2010; Poppe et al. 2012; dos Santos et al. 2010; Cavasini et al. 2014; Gustani et al. 2015; Coutinho-Silva et al. 2017)

Assim, apesar de *D. willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* compartilharem o generalismo, características do habitat, como os fatores abióticos e os recursos de alimentação e para acasalamento e oviposição associados ao tipo de vegetação, determinam o sucesso da distribuição geográfica destas espécies. A maior amplitude de exploração ambiental de *D. willistoni* em relação a *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* foi refletida em diferenças significativas para todos os caracteres analisados, sendo a única exceção o conteúdo de triglicerídeo, o qual também foi distinto em *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*; enquanto *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* se diferenciaram, além na concentração de triglicerídeo, somente pelo peso seco. Também o padrão populacional das características analisadas foram os mesmos entre *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, com exceção da viabilidade. As diferenças populacionais em todos os caracteres não causou viabilidade populacional diferencial em *D. maculifrons*, mas sim para *D. ornatifrons*. Com relação a este caráter, viabilidade, *D. maculifrons* foi semelhante a *D. willistoni*, a qual também o tempo de desenvolvimento não foi afetado pelos diferentes ambientes populacionais, sugerindo vias adaptativas mais estáveis para *D. willistoni* e *D. maculifrons* em relação a *D. ornatifrons*. A necessidade dietética preferencial/ideal de *D. ornatifrons* na natureza pode ser mais rara e/ou não usual, com conteúdos nutricionais mais específicos que a de *D. willistoni* e *D. maculifrons*, afetando a viabilidade dependendo da disponibilidade deste recurso no ambiente. Este fato pode ser sugerido por esta ser a única das espécies analisadas neste trabalho que foi capturada em esterco e carcaças animais (Goñi et al. 2012).

Nos demais caracteres avaliados neste trabalho, peso seco e metabólitos, a resposta populacional de *D. willistoni* foi oposta, com a única exceção para os conteúdos de triglicerídeos, a de *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. As respostas populacionais diferentes entre *D. willistoni* e *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* podem ser explicados pela preferência nos recursos a serem utilizados nas áreas em que ocorrem em simpatria. Enquanto as espécies do subgênero *Sophophora*, como *D. willistoni*, tendem a consumir frutos em decomposição, as moscas de espécies do subgênero *Drosophila*, de *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, além de frutos, frequentemente se alimentam de outras partes de plantas em decomposição (Matzkin et al. 2009). As espécies e a quantidade de biomassa de levedura que ocorrem nesses substratos provavelmente devam ser diferentes e podem se relacionar com a amplitude de exploração de hospedeiros (Valadão et al. 2019; Koerte et al. 2020), além de afetar caracteres de história de vida, como o tempo de desenvolvimento e o peso corporal dos adultos (Anagnostou et al. 2010).

O tempo de desenvolvimento é uma característica plástica e sensível às pressões seletivas como fatores bióticos, competição/densidade intra e interespecífica e dessecação, e também abióticos, como a temperatura e umidade, podendo, inclusive, apresentar efeito transgeracional (Bakker 1962, 1969; Zwaan et al. 1995; Nunney 1996; Chippindale et al. 1997; Prasad et al. 2000; Valtonen et al. 2012; Ghosh et al. 2019, Shrader et al. 2020). *Drosophila willistoni* apresentou tempo de desenvolvimento mais rápido que *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. Este desenvolvimento larval mais curto possibilita maior habilidade na resposta à dessecação e competição, pois como as larvas exploram fragmentos relativamente pequenos de recursos que são rapidamente esgotados, especialmente quando as densidades são altas, uma diminuição do tempo para eclosão dos imagos traria a vantagem dos indivíduos passarem mais rapidamente por esta condição desfavorável (Joshi e Mueller 1988; Joshi e Mueller 1996; Chippindale et al. 1998; Hoffmann e Harshman 1999; Krijger et al. 2001; Wertheim et al. 2000). Uma maior habilidade competitiva, devido a redução no tempo de desenvolvimento também favoreceria a amplitude habitats ocupados por *D. willistoni*.

Apesar da desvantagem competitiva para período de desenvolvimento mais longo, com resultado na diminuição da viabilidade (Chippindale et al., 1996; Prasad et al. 2000), este pode ser vantajoso para espécies adaptadas a temperaturas mais baixas em razão de permitir um maior tamanho corporal e acúmulo de moléculas de reserva energética que favoreceriam a passagem por período de maior escassez de recursos alimentares e a passagem pela diapausa por algumas espécies de *Drosophila* no inverno, além do maior tamanho corporal possibilitar maior fecundidade e longevidade nas fêmeas e maior sucesso de acasalamentos dos machos (Tantawy e Vetukhiv 1960; Tantawy 1961; Zwaan et al. 1991; Hillesheim e Stearns 1992; Ohtsu et al. 1992; Partridge e Fowler 1993; Betran et

al. 1998; Prasad et al. 2000; Michaud e Denlinger 2007; Zonato et al. 2017; Kauranen et al. 2019; Flatt 2020).

As áreas em que as três espécies foram coletadas em simpatria, PMA e Caj, apresentam fitofisionomias da Mata Atlântica e condições climáticas muito distintas. Enquanto PMA, no município de Guarapuava-PR, é uma região de Floresta Atlântica com predomínio de Mata de Araucária (Floresta Ombrófila Mista), caracterizada por inverno rigoroso, com geadas frequentes, temperaturas amenas o ano todo e alto índice pluviométrico e de umidade relativa; Caj, no município de Cajuru-SP, apresenta fitofisionomia do tipo Floresta Estacional Semidecidual, caracterizada por apresentar temperaturas mais altas a maior parte do ano e dois períodos anuais marcados: úmido e com secas intensas (IBGE 1992; Backes 1999; Oliveira-Filho et al. 2015; Instituto Nacional de Meteorologia 2019). A temperatura baixa, associada a uma habilidade menor na exploração de habitats e recursos em relação à *D. willistoni*, devem ser a razão para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* mostrarem tempo de desenvolvimento mais longo na população PMA em relação a Caj, com consequente significativo maior tamanho corporal, especialmente para *D. ornatifrons*, que também revelou menor viabilidade nesta população.

A temperatura afeta os organismos em todos os níveis da organização biológica, das macromoléculas aos ecossistemas (Angilletta 2009). O estresse tanto por temperaturas mais altas que as ideais para sobrevivência, como temperaturas mais baixas, afeta negativamente as reservas de energia em *Drosophila* (Klepsatel et al. 2016, 2019). Apesar do conteúdo de triglicerídeos ter sido significativamente diferente entre as espécies, todas apresentaram o mesmo padrão populacional, sendo os indivíduos de PMA com as maiores concentrações deste metabólito. Este padrão populacional conservado seria uma adaptação tanto ao frio, quanto aos períodos de limitação de recurso nesta condição, visto que os triglicerídeos são uma classe de lipídeos envolvidos no armazenamento de energia a longo prazo, capacitando espécies de *Drosophila* a suportar períodos de jejum, baixas temperaturas e a diapausa (Ohtsu et al. 1992; Chippindale et al. 1996; Ohtsu et al. 1998; Harshman et al. 1999; Michaud e Denlinger 2007; Nelson e Cox 2014).

Matzkin et al (2009) realizaram a análise desses metabólitos de reserva energética em 12 espécies ecologicamente divergentes de *Drosophila*, inclusive para *D. willistoni*. Estes autores encontraram que o conteúdo de triglicerídeo separou as espécies do subgênero *Sophophora* e *Drosophila*, com os maiores valores nas espécies deste subgênero. Os valores determinados neste trabalho não separam nos subgêneros, pois foram estatisticamente diferentes nas três espécies



estudadas e aproximam-se aos valores das espécies do subgênero *Sophophora* analisadas por Matzkin et al. (2009).

O glicogênio é um polímero ramificado de glicose que serve como uma forma energética primária de carboidratos em células animais, e o excesso deste metabólito é convertido em triglicerídeo. O glicogênio tem papel importante na metamorfose de *Drosophila* e na resistência a dessecação, isso porque o glicogênio além de representar uma fonte de energia de rápida disponibilidade, é também reserva de água metabólica, pois armazena esta molécula em suas ligações (Graves et al. 1992; Djawdan et al. 1998; Roach et al. 2012; Gálíková et al. 2015; Fernández-Elías et al. 2015; Matsuda et al. 2015; Yamada et al. 2018, 2019). A maior concentração de glicogênio em Caj quando comparado a PMA para as espécies *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* pode conferir, a estas espécies adaptadas a condições de maior umidade, resistência a dessecação no ambiente mais seco característico desta população.

Na espécie *D. melanogaster*, entretanto, um maior acúmulo de moléculas energéticas ocorre em condições de temperaturas mais favoráveis à história adaptativa da espécie, aumentando seus estoques em temperaturas intermediárias e reduzindo as reservas de gordura e glicogênio quando exposta a temperaturas abaixo de 15° C ou acima de 27° C. Foi sugerido que esta relação se deve ao fato da ingestão de alimentos e a taxa metabólica variarem igualmente em relação à temperatura (Klepsatel et al. 2019).

Para *D. willistoni*, Caj apresentou as menores concentrações não apenas de glicogênio, como das outras moléculas energéticas analisadas, triglicerídeo e proteína. Considerando que temperatura e umidade estão entre os fatores ambientais mais importantes na seleção das estratégias da evolução adaptativas dos insetos (Nevo et al. 1998), o caso de *D. willistoni* sugere ser semelhante ao descrito para *D. melanogaster* (Klepsatel et al. 2019), pertencente ao mesmo subgênero *Sophophora* de *D. willistoni*, em que as maiores concentrações de moléculas energéticas ocorrem em populações com condições mais satisfatórias para a sobrevivência da espécie, como PMA e PoA, cujas temperaturas anuais são mais baixas que Caj, além de não apresentarem longos períodos de seca (Instituto Nacional de Meteorologia 2019).

Os conteúdos de glicogênio determinados neste trabalho não foram significativamente diferentes entre as espécies, e foram superiores aos valores encontrados por Matzkin et al. (2009) tanto para as espécies do subgênero *Sophophora* como de *Drosophila*. Outra diferença em relação ao trabalho de Matzkin et al. (2009) é que estes autores encontraram neste metabólito as maiores diferenças entre os sexos para as espécies analisadas. Neste trabalho apenas *D. willistoni* apresentou

diferença sexual com relação ao conteúdo de glicogênio, assim como de triglicérideo, enquanto para *D. maculifrons* não houve diferença sexual para nenhum dos metabólitos, e somente as fêmeas de *D. ornatifrons* apresentaram concentração de proteína superior ao machos.

Tanto no trabalho de Matzkin et al. (2009) como neste trabalho, as fêmeas apresentaram maiores valores dos metabólitos que os machos, o que pode estar relacionado ao maior gasto energético com a reprodução pelas fêmeas. Por exemplo, as fêmeas absorvem grandes quantidades de carboidratos pelos oócitos ovarianos após a oogênese, que são armazenadas principalmente como glicogênio e, então, consumidos durante a embriogênese (Gutzeit et al. 1994; Tennessen et al. 2014; Matsuda et al. 2015).

Em Matzkin et al. (2009) as concentrações de triglicédeos permitiram discriminar as espécies do subgênero *Sophophora* das do subgênero *Drosophila*. Neste trabalho, apenas os conteúdos de proteínas foram significativamente superiores em *D. willistoni*, separando, então, as espécies destes subgêneros. No entanto, vale ressaltar que *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, assim como para as concentrações de glicogênio, apresentam maiores valores de proteína que as espécies do subgênero *Drosophila* analisadas por Matzkin et al. (2009).

As diferenças encontrados entre este trabalho e o de Matzkin et al. (2009) podem refletir diferenças interespecíficas, ou intraespecífica para o caso de *D. willistoni*, e/ou que as respostas encontradas para as linhagens utilizadas por Matzkin sejam resultado de adaptação após várias gerações às condições de laboratório (Tucson *Drosophila* Species Stock), enquanto os resultados deste trabalho poderiam refletir mais apropriadamente as condições naturais, pois foram realizados com linhagens recém-coletadas (cerca de três gerações em laboratório). Contudo, também não é possível descartar que diferenças nos componentes nutricionais dos meios de cultura utilizados por Matzkin et al. (2009) (banana/*Opuntia*) e neste trabalho (banana/ágar) possam influenciar em algum nível os resultados encontrados (Ormerod et al. 2017).

## 1.5 Conclusões

Como pode ser observado na ilustração abaixo, *Drosophila willistoni* mostrou padrões populacionais e específicos distintos de *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* para a maioria dos caracteres analisados neste trabalho, o que pode refletir tanto a história filogenética, *D. willistoni* pertence ao subgênero *Sophophora* e as outras duas espécies ao subgênero *Drosophila*, como sua maior habilidade na exploração de recursos e habitats, frequentemente ocupando ambientes antropizados, diferentemente das outras duas espécies.

Os resultados das concentrações de metabólitos não refletiram os valores e/ou as relações entre os subgêneros *Sophophora* e *Drosophila* observados por Matzkin et al. (2009), o que sugere um maior papel do ambiente antes que relações filogenéticas.

O maior tempo de desenvolvimento, peso seco e conteúdo de triglicerídeo para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* ocorreram em PMA, área de maior umidade e temperaturas baixas. A área com menor umidade e maior temperatura (Caj), favoreceu o acúmulo de glicogênio e proteínas. Já para *D. willistoni*, as moscas com maior peso (PoA), acumularam maior concentração de glicogênio, e parece que a área mais quente e menor precipitação (Caj) não favoreceu o acúmulo de nenhum dos componentes energéticos analisados para esta espécie. Diferenças populacionais no peso seco e nos caracteres metabólicos não afetaram o tempo de desenvolvimento e a viabilidade de *D. willistoni*, nem a viabilidade de *D. maculifrons*, revelando uma história adaptativa distinta para *D. ornatifrons*, com maior tempo de desenvolvimento resultando em menor viabilidade. Este aspecto merece melhor elucidação em estudo que analise os mesmos caracteres sob condições diferentes de recursos com o objetivo de verificar a amplitude da capacidade adaptativa destas espécies.

Ilustração resumindo a comparação dos caracteres viabilidade (VI), tempo de desenvolvimento (TD), peso seco (PS), e do conteúdo de triglicérido (TG), glicogênio (GL) e proteína (PT) entre populações (PoA, PMA e Caj) e entre espécies (E) para *Drosophila willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. Diferenças populacionais: **maior valor**, **valor intermediário**, **menor valor**; diferenças interespecíficas: **maior valor**, **valor intermediário**, **menor valor**; branco = sem diferença.

	<i>D. willistoni</i>				<i>D. maculifrons</i>			<i>D. ornatifrons</i>		
	PoA	PMA	Caj	E	PMA	Caj	E	PMA	Caj	E
VI				Red				Grey	Black	
TD				Purple	Black	Grey		Black	Grey	
PS	Black	Grey	Olive	Purple	Black	Grey	Red	Black	Grey	Red
TG	Olive	Black	Grey	Purple	Black	Grey	Red	Black	Grey	Red
GL	Black	Olive	Grey		Grey	Black		Grey	Black	
PT	Olive	Black	Grey	Red	Grey	Black		Grey	Black	

## 1.6 Agradecimentos

Nós somos gratos à Fundação Araucária (Protocolo 5773/17, Convênio 17/2017) e UNICENTRO, essenciais para o financiamento das coletas e fornecimento de estrutura e materiais para os experimentos. CHS foi beneficiária de auxílio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES – Brasil (bolsa de mestrado).

## 1.8 Lista de abreviações

Caj = Cajuru-SP	TD = Tempo de desenvolvimento
GL = Glicogênio	TG = Triglicerídeo
MÁX = Temperatura média máxima	TLA = tempo de desenvolvimento larva-adulto
MIN = Temperatura média mínima	TLP = tempo de desenvolvimento larva-pupa
PMA = Parque Municipal das Araucárias	UR = Umidade relativa
PoA = Porto Alegre-RS	VI = Viabilidade
PS = Peso seco	VLA = Viabilidade larva-adulto
PT = Proteína	VLP = viabilidade larva-pupa
T° = Temperatura média	

## 1.8 Contribuições dos autores

CHS e RPM coletaram os espécimes; RPM e LPBM realizaram o desenho experimental; CHS e RPM geraram e analisaram os resultados e CHS, RPM e LPBM interpretaram os resultados e escreveram o artigo. Todos os autores contribuíram, leram e aprovaram a versão final do artigo.

## 1.9 Interesses Competitivos

Os autores declaram não haver interesses competitivos.

### 1.10 Disponibilidade de dados e materiais

Os dados gerados e analisados poderão ser disponibilizados pelo autor de correspondência se solicitados.

### 1.11 Consentimento para publicação

Todos os autores concordam e consentem com o conteúdo do artigo e com sua publicação como submetido.

### 1.12 Consentimento ético de participação

Todos os autores estão em acordo.

### 1.13 Referências

- Acurio AE, Rafael VL. 2009. Inventario taxonómico de Drosophilidae (Diptera) en el Parque Nacional Yasuni, Amazonia Ecuatoriana. *Acta Amazonica* **39**:713–718.
- Angilletta MJ. 2009. *Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis*. Oxford University Press, Oxford.
- Anagnostou C, Dorsch M, Rohlf M. 2010. Influence of dietary yeasts on *Drosophila melanogaster* life-history traits. *Entomol Exp Appl* **136**:1-11.
- Atkinson WD. 1985. Coexistence of australian rainforest Diptera breeding in fallen fruit. *J Anim Ecol* **54**:507-518.
- Backes A. 1999. Condicionamento climático e distribuição geográfica de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze no Brasil–II. *Pesquisas (Botânica)* **49**:31-52.
- Bakker K. 1962. An analysis of factors which determine the success in competition for food among larvae of *Drosophila melanogaster*. *Arch Neerl Zool* **14**:200-281.
- Bakker K. 1969. Selection for rate of growth and its influence on competitive ability of larvae of *Drosophila melanogaster*. *Neth J Zool* **19**:541-595.
- Betran E, Santos M, Ruiz A. 1998. Antagonistic pleiotropic effect of second-chromosome inversions on body size and early life-history traits in *Drosophila buzzatii*. *Evolution* **52**:144–154.
- Bizzo L, Gottschalk MS, De Toni D, Hofmann PRP. 2010. Seasonal dynamics of a drosophilid (Diptera) assemblage and its potencial as bioindicator in open environments. *Iheringia Ser Zool* **100**:185–191.

- Cavasini R, Buschini MLT, Machado LPB, Mateus RP. 2014. Comparison of Drosophilidae (Diptera) assemblages from two highland Araucaria Forest fragments, with and without environmental conservation policies. *Braz J Biol* **74**:761-768.
- Chaves NB, Tidon R. 2008. Biogeographical aspects of drosophilids (Diptera, Drosophilidae) of the Brazilian savanna. *Rev Bras Entomol* **52**:340-348.
- Chippindale AK, Chu TJ, Rose MR. 1996. Complex trade-offs and the evolution of starvation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* **50**:753-766.
- Chippindale AK, Alipaz JA, Chen H-W, Rose MR. 1997. Experimental evolution of accelerated development in *Drosophila*. 1. Developmental speed and larval survival. *Evo* **51**:1536-1551.
- Chippindale AK, Gibbs AG, Sheik M, Yee KJ, Djawdan M, Bradley TJ, Rose M R. 1998. Resource acquisition and the evolution of stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* **52**:1342-1352.
- Coutinho-Silva RD, Montes MA, Oliveira GF, de Carvalho-Neto FG, Rohde C, Garcia ACL 2017. Effects of seasonality on drosophilids (Insecta, Diptera) in northern part of the Atlantic Forest, Brazil. *Bull Entomol Res* **107**:634-644.
- da Mata RA, Valadão H, Tidon R. 2015. Spatial and temporal dynamics of drosophilid larval assemblages associated to fruits. *Rev Bras Entomol* **59**: 50-57.
- Djawdan M, Chippindale AK, Rose MR, Bradley TJ. 1998. Metabolic reserves and evolved stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Physiol Zool* **71**:584-594.
- Dobzhansky TH, Pavan C. 1950. Local and seasonal variation in frequencies of species of *Drosophila* in Brazil. *J Anim Ecol* **19**:1-14.
- Döge JS, Valente VLS, Hofmann PRP. 2008. Drosophilids (Diptera) from an Atlantic Forest Area in Santa Catarina, Southern Brazil. *Rev Bras Entomol* **52**:615-624.
- dos Santos K, Machado LPB, Mateus RP. 2010. Sampling two species of the *Drosophila guarani* group in a fragment of Araucaria Forest: testing different types of baits, fermentation time, and period of the day. *Dros Inf Serv* **93**:185-188.
- Fernández-Elías VE, Ortega JF, Nelson RK, Mora-Rodriguez R. 2015. Relationship between muscle water and glycogen recovery after prolonged exercise in the heat in humans. *Eur J Appl Physiol* **115**:1919-1926.
- Flatt T. 2020. Life-history evolution and the genetics of fitness components in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **214**: 3-48.
- Gáliková M, Diesner M, Klepsatel P, Hehlert P, Xu Y, Bickmeyer I, Predel R, Kühnlein RP. 2015. Energy homeostasis control in *Drosophila* adipokinetic hormone mutants. *Genetics* **201**:665-683.
- Ghosh SM, Satish KM, Jayaram M, Joshi A. 2019. Does long-term selection for development time result in canalization: a test using *Drosophila melanogaster*. *Front Ecol Evol* **7**:1-16.
- Goñi B, Remedios M, González-Vainer P, Martínez M, Vilela CR. 2012. Species of *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) attracted to dung and carrion baited pitfall traps in the Uruguayan Eastern Serranías. *Zoologia* **29**:308-317.

- Gottschalk MS, De Toni DC, Valente VLS, Hofmann P. 2007. Changes in Brazilian Drosophilidae (Diptera) assemblages across an urbanisation gradient. *Neotr Ent* **36**:848-862.
- Gottschalk MS, Hofmann PRP, Valente VLS. 2008. Diptera, Drosophilidae: historical occurrence in Brazil. *Check List* **4**:485-518.
- Gottschalk MS, Bizzo L, Döge JS, Profes MS, Hofmann PRP, Valente VLS. 2009. Drosophilidae (Diptera) associated to fungi: differential use of resources in anthropic and Atlantica Rain Forest areas. *Iheringea Sér Zool* **99**:442-448.
- Graves JL, Toolson EC, Jeong C, Vu LN, Rose MR. 1992. Desiccation, flight, glycogen, and postponed senescence in *Drosophila melanogaster*. *Physiol Zool* **65**:268-286.
- Gustani EC, Oliveira APF, Santos MH, Machado LPB, Mateus RP. 2015. Demographic Structure and Evolutionary History of *Drosophila ornatifrons* (Diptera, Drosophilidae) from Atlantic Forest of Southern Brazil. *Zool Sci* **32**:141-150.
- Gutzeit HO, Zissler D, Grau V, Liphardt M, Heinrich UR. 1994. Glycogen stores in mature ovarian follicles and young embryos of *Drosophila*: ultrastructural changes and some biochemical correlates. *Eur J Cell Biol* **63**:52-60.
- Harshman LG, Hoffmann AA, Clark AG. 1999. Selection for starvation resistance in *Drosophila melanogaster*: physiological correlates, enzyme activities and multiple stress responses. *J Evol Biol* **12**:370-379.
- Hillesheim E, Stearns SC. 1992. Correlated responses in life history traits to artificial selection for body weight in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* **46**:745-752.
- Hochmüller CJ, Lopes-da-Silva M, Valente VL, Schmitz HJ. 2010. The drosophilid fauna (Diptera, Drosophilidae) of the transition between the Pampa and Atlantic Forest Biomes in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil: first records. *Pap Avulso Zool* **50**:285-295.
- Hoffmann AA, Harshman LG. 1999. Desiccation and starvation resistance in *Drosophila*: patterns of variation at the species, population and intrapopulation levels. *Heredity* **83**:637-43.
- Hoffmann AA, Parsons PA. 1989. An integrated approach to environmental stress tolerance and life-history variation: desiccation tolerance in *Drosophila*. *Biol J Linn Soc Lond* **37**:117-136.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (1992) Manual técnico da vegetação brasileira. IBGE Manuais técnicos em geociências, Rio de Janeiro.
- Instituto Nacional de Meteorologia. 2019. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília. <http://www.inmet.gov.br/portal/portal/>. Accessed 30 Apr. 2019.
- Jehrke L, Stewart FA, Droste A, Beller M. 2018. The impact of genome variation and diet on the metabolic phenotype and microbiome composition of *Drosophila melanogaster*. *Sci Rep* **8**: 1-15.
- Joshi A, Mueller LD. 1988. Evolution of higher feeding rate in *Drosophila* due to density-dependent natural selection. *Evolution* **42**:1090-1093.
- Joshi A, Mueller LD. 1996. Density-dependent natural selection in *Drosophila*: trade-offs between larval food acquisition and utilization. *Evol Ecol* **10**:4634-74.
- Joshi A, Wu WP, Mueller LD. 1998. Density-dependent natural selection in *Drosophila*: adaptation to adult crowding. *Evol Ecol* **12**:363-376.



- Jumbo-Lucioni P, Ayroles JF, Chambers MM, Jordan KW, Leips J, Mackay TF, De Luca M. 2010. Systems genetics analysis of body weight and energy metabolism traits in *Drosophila melanogaster*. *BMC Genomics* **11**:297-309.
- Kauranen H, Kinnunen J, Hopkins D, Hoikkala A. 2019. Direct and correlated responses to bi-directional selection on pre-adult development time in *Drosophila montana*. *J Insect Physiol* **116**:77-89.
- King JC. 1947. A Comparative analysis of the chromosomes of the *guarani* group of *Drosophila*. *Evolution* **1**:48-62.
- Klepsatel P, Gálíková M, Xu Y, Kühnlein RP. 2016. Thermal stress depletes energy reserves in *Drosophila*. *Sci Rep* **6**:1-12.
- Klepsatel P, Wildridge D, Gálíková, M. 2019. Temperature induces changes in *Drosophila* energy stores. *Sci Rep* **9**:1-10.
- Koert S, Keeseey IW, Easson MLE, Gershenson J, Hansson BS, Knaden M. 2020. Variable dependency on associated yeast communities influences host range in *Drosophila* species. *Oikos*. doi: 10.1111/oik.07180.
- Krijger CL, Peters YC, Sevenster JG. 2001. Competitive ability of neotropical *Drosophila* predicted from larval development times. *Oikos* **92**: 325-332.
- Martins M. 1987. Variação espacial e temporal de algumas espécies e grupos de *Drosophila* (Diptera) em duas reservas de matas isoladas, nas vizinhanças de Manaus (Amazonas, Brasil). *Bol Mus Par Emilio Goeldi, sér Zool* **3**:195–218.
- Mateus RP, Buschini MLT, Sene FM. 2006. The *Drosophila* community in xerophytic vegetations of the upper Parana-Paraguay river basin. *Braz J Biol* **66**:719-729.
- Mateus RP, Machado LPB, Simão-Silva DP. 2018. *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) survey in an ‘island’ of xerophytic vegetation within the Atlantic Forest biome, with emphasis on the *repleta* species group. *Stud Neotrop Fauna Environ* **53**:152-161.
- Matsuda H, Yamada T, Yoshida M, Nishimura T. 2015. Flies without trehalose. *J Biol Chem* **290**:1244-1255.
- Matzkin LM, Mutsaka K, Johnson S, Markow TA. 2009. Metabolic pools differ among ecologically diverse *Drosophila* species. *J Insect Physiol* **55**:1145–1150.
- Matzkin LM, Johnson S, Paight C, Bozinovic G, Markow TA. 2011. Dietary protein and sugar differentially affect development and metabolic pools in ecologically diverse *Drosophila*. *J Nutr* **141**:1127-1133.
- Medeiros HF, Klaczko LB. 2004. How many species of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) remain to be described in the forests of São Paulo, Brazil? Species lists of three forest remnants. *Biota neotrop* **4**:1–12.
- Mendes MF, Valer FB, Vieira JGA, Blauth ML, Gottschalk MS. 2017. Diversity of Drosophilidae (Insecta, Diptera) in the Restinga forest of southern Brazil. *Rev Bras Entomol* **61**:248-256.
- Merritt TJS, Sezgin E, Zhu CT, Eanes WF. 2006. Triglyceride pools, flight and activity variation at the *Gpdh* locus in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **172**: 293-304.

- Michaud MR, Denlinger DL. 2007. Shifts in the carbohydrate, polyol, and aminoacid pools during rapid cold-hardening and diapause-associated cold-hardening in flesh flies (*Sarcophaga crassipalpis*): a metabolomic comparison. *J Comp Physiol B* **177**:753–763.
- Na J, Musselman LP, Pendse J, Baranski TJ, Bodmer R, Ocorr K, Cagan RA. 2013. *Drosophila* model of high sugar diet-induced cardiomyopathy. *PLoS Genet*. doi: 10.1371/journal.pgen.1003175.
- Nelson DL, COX MM. 2014. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. Artmed, Porto Alegre.
- Nevo E, Rashkovetsky E, Pavlicek T, Korol A. 1998. A complex adaptive syndrome in *Drosophila* caused by microclimatic contrasts. *Heredity* **80**:9–16.
- Nunney L. 1996. The response of selection for fast larval development in *Drosophila melanogaster* and its effects on adult weight: an example of a fitness trade-off. *Evolution* **50**:1193–1204.
- Ohtsu T, Kimura MT, Hori SH. 1992. Energy storage during reproductive diapause in the *Drosophila melanogaster* species group. *J Comp Physiol B* **162**:203–208.
- Ohtsu T, Kimura MT, Katagiri C. 1998. How *Drosophila* species acquire cold tolerance: qualitative changes of phospholipids. *Eur J Biochem* **252**:608–611.
- Oliveira-Filho AT, Budke JC, Jarenkow JA, Eisenlohr PV, Neves DRM. 2015. Delving into the variations in tree species composition and richness across South American subtropical Atlantic and Pampean forests. *J Plant Ecol* **8**:242–260.
- Ormerod KG, LePine OK, Abbineni PS, Bridgeman JM, Coorssen JR, Mercier A J, Tattersall GJ. 2017. *Drosophila* development, physiology, behavior, and lifespan are influenced by altered dietary composition. *Fly* **11**:153–170.
- Partridge L, Farquhar M. 1983. Lifetime mating success of male fruitflies (*Drosophila melanogaster*) is related to their size. *Anim Behav* **31**:871–877.
- Partridge L, Sibly R. 1991. Constraints in the evolution of life-histories. *Phil Trans R Soc London B* **332**:3–13.
- Partridge L, Fowler K. 1993. Responses and correlated responses to artificial selection on thorax length in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* **47**:213–226.
- Pitnick S, García-González F. 2002. Harm to females increases with male body size in *Drosophila melanogaster*. *Proc Royal Soc B* **269**: 1821–1828.
- Poppe JL, Valente VLS, Schmitz HJ. 2012. Structure of Drosophilidae assemblage (Insecta, Diptera) in Pampa Biome (São Luiz Gonzaga, RS). *Pap Avulsos Zool* **52**:185–195.
- Prasad NG, Shakarad M, Gohil VM, Sheeba V, Rajamani M, Joshi A. 2000. Evolution of reduced pre-adult viability and larval growth rate in laboratory populations of *Drosophila melanogaster* selected for shorter development time. *Genet Res* **76**:249–259.
- Powell JR. 1997. *Progress and prospects in evolutionary biology: The Drosophila model*. Univ Press, Oxford.
- Reed LK, Williams S, Springston M, Brown J, Freeman K, DesRoches CE, Sokolowski MB, Gibson G. 2010. Genotype-by-diet interactions drive metabolic phenotype variation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **185**:1009–1019.

- Roach PJ, Depaoli-Roach AA, Hurley TD, Tagliabracci VS. 2012. Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. *Biochem J* **441**:763-787.
- Robe LJ, Valente VLS, Loreto ELS. 2010. Phylogenetic relationships and macro-evolutionary patterns within the *Drosophila tripunctata* “radiation” (Diptera: Drosophilidae). *Genetica* **138**:725-735.
- Rose MR. 1983. Theories of life history evolution. *Am Zool* **23**:15–23.
- Rose MR, Bradley TJ. 1998. Evolutionary physiology of the cost of reproduction. *Oikos* **83**:443–451.
- Saavedra CCR, Callegari-Jacques SM, Napp M, Valente VLS. 1995. A descriptive and analytical study of four Neotropical Drosophilid communities. *J Zool Syst Evol Res* **33**:62-74.
- Salzano FM. 1955. Chromosomal polymorphism in two species of the *guarani* group of *Drosophila*. *Chromosoma* **7**:39-50.
- Schmitz HJ, Valente VLS, Hofmann PRP. 2007. Taxonomic survey of Drosophilidae (Diptera) from Mangrove Forests of Santa Catarina Island, Southern Brazil. *Neotrop Entomol* **36**:53–64.
- Shrader ME, Burrack HJ, Pfeiffer DG. 2020. Effects of interspecific larval competition on developmental parameters in nutrient sources between *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) and *Zaprionus indianus*. *J Econ Entomol* **113**:230-238.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1995. *Biometry*, 3a ed. Freeman, New York.
- Tantawy AO, Vetukhiv MO. 1960. Effects of size on fecundity, longevity and viability in populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Am Nat* **94**:395-403.
- Tantawy AO. 1961. Effects of temperature on productivity and genetic variance of body size in populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* **46**:227-238.
- TaxoDros. 2020. The database on taxonomy of Drosophilidae, Zürich. <http://www.taxodros.uzh.ch>. Accessed 16 Feb. 2020.
- Tennessen JM, Bertagnolli NM, Evans J, Sieber MH, Cox J, Thummel CS. 2014. Coordinated metabolic transitions during *Drosophila* embryogenesis and the onset of aerobic glycolysis. *G3 (Bethesda)* **4**:839-850.
- Tidon R. 2006. Relationships between drosophilids (Diptera, Drosophilidae) and the environment in two contrasting tropical vegetations. *Biol J Linn Soc Lond* **87**:233–247.
- Val FC, Vilela MD, Marques CR. 1981. Drosophilidae of the Neotropical Region. In Ashburner M, Carson HL, Thompson N (eds) *The Genetics and Biology of Drosophila*, 3rd edn. Academic Press, New York.
- Valadão H, Proença CE, Kuhlmann MP, Harris SA, Tidon R. 2019. Fruit-breeding drosophilids (Diptera) in the Neotropics: playing the field and specialising in generalism? *Ecol Entomol* **44**:721-737.
- Valtonen TM, Kangassalo K, Pölkki M, Rantala MJ. 2012. Transgenerational effects of parental larval diet on offspring development time, adult body size and pathogen resistance in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One*. doi:10.1371/journal.pone.0031611.

- Wertheim B, Sevenster JG, Eijs IEM, Van Alphen JJM. 2000. Species diversity in a mycophagous insect community: the case of spatial aggregation vs. resource partitioning. *J Anim Ecol* **69**:335-351.
- Yamada T, Habara O, Kubo H, Nishimura T. 2018. Fat body glycogen serves as a metabolic safeguard for the maintenance of sugar levels in *Drosophila*. *Development* **145**:1-12.
- Yamada T, Habara O, Yoshii Y, Matsushita R, Kubo H, Nojima Y, Nishimura, T. 2019. The role of glycogen in development and adult fitness in *Drosophila*. *Development* **146**:1-14.
- Zonato V, Collins L, Pegoraro M, Tauber E, Kyriacou CP. 2017. Is diapause an ancient adaptation in *Drosophila*? *J Insect Physiol* **98**:267-274.
- Zwaan BJ, Bulsma R, Hoekstra RF. 1991. On the developmental theory of aging. I. Starvation resistance and longevity in *Drosophila melanogaster* in relation to preadult breeding conditions. *Heredity* **66**:29-39.
- Zwaan B, Bijlsma R, Hoekstra RF. 1995. Artificial selection for development time in *Drosophila melanogaster* in relation to the evolution of aging: direct and correlated responses. *Evolution* **49**:635–648.

**Tabela 1.1.** ANOVA aninhada (1) e teste de Tukey *a posteriori* (2) das viabilidades larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA) nas espécies *Drosophila willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. SQ = soma dos quadrados; MQ = quadrados médios; GL = graus de liberdade. \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ .

1		SQ	MQ	GL	F
VLP	Espécie	0,20196	0,10098	2	3,936*
	População(Espécie)	0,21381	0,05345	4	2,084
	Erro	1,61614	0,02565	63	
VLA	Espécie	0,55454	0,27727	2	5,773**
	População(Espécie)	0,75853	0,18963	4	3,948**
	Erro	3,02538	0,04802	63	
2		<i>D. willistoni</i>	<i>D. maculifrons</i>		
VLP	<i>D. maculifrons</i>	0,031194*	-		
	<i>D. ornatifrons</i>	0,022050*	0,896417		
VLA	<i>D. maculifrons</i>	0,025379*	-		
	<i>D. ornatifrons</i>	0,033003*	0,995146		

**Tabela 1.2** ANOVA aninhada (1) e teste Tukey *a posteriori* (2) dos tempos de desenvolvimento larva-pupa (TLP) e larva-adulto (TLA) nas espécies *Drosophila willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. SQ = soma dos quadrados; MQ = quadrados médios; GL = graus de liberdade. \*\*\* $p \leq 0,001$ .

1		SQ	MQ	GL	F
TLP	Espécie	94496	47248	2	119,755***
	População(Espécie)	63587	15897	4	40,292***
	Erro	24856	395	63	
TLA	Espécie	556467	278234	2	314,53***
	População(Espécie)	246898	61725	4	69,78***
	Sexo	2693	2693	1	3,04
	População(Espécie) x Sexo	1572	262	6	0,30
	Erro	111459	885	126	
2		<i>D. willistoni</i>	<i>D. maculifrons</i>		
TLP	<i>D. maculifrons</i>	0,000113***			
	<i>D. ornatifrons</i>	0,000113***	0,472358		
TLA	<i>D. maculifrons</i>	0,000022***			
	<i>D. ornatifrons</i>	0,000022***	0,450188		

**Tabela 1.3** ANOVA aninhada (1) e teste de Tukey *a posteriori* (2) do peso seco dos adultos para as espécies *Drosophila willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. SQ = soma dos quadrados; MQ = quadrados médios; GL = graus de liberdade. \*\*\* $p \leq 0,001$ .

<b>1</b>	SQ	MQ	GL	F
Espécie	0,000018	0,000009	2	255,703***
População(Espécie)	0,000002	0,000001	4	16,845***
Sexo	0,000002	0,000002	1	45,771***
População(Espécie) x Sexo	0,000000	0,000000	6	0,973
Erro	0,000004	0,000000	126	
<b>2</b>	<i>D. willistoni</i>	<i>D. maculifrons</i>		
<i>D. maculifrons</i>	0,000022***			
<i>D. ornatifrons</i>	0,000022***	0,000022***		

**Tabela 1.4** ANOVA aninhada (1) e teste de Tukey (2) do conteúdo de triglicerídeo, glicogênio e proteínas totais, por peso seco, nas espécies *Drosophila willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. SQ = soma dos quadrados; MQ = quadrados médios; GL = graus de liberdade. \* $p \leq 0,05$ ; \*\*\* $p \leq 0,01$ ; \*\*\*\* $p \leq 0,001$ .

1		SQ	MQ	GL	F
Triglicerídeos	Espécie	1,564843	0,782421	2	55,633***
	População(Espécie)	0,153972	0,038493	4	2,737*
	Sexo	0,003002	0,003002	1	0,2134
	População(Espécie) x Sexo	0,076727	0,012788	6	0,9093
	Erro	1,589220	0,014064	113	
Glicogênio	Espécie	0,000673	0,000336	2	2,7812
	População(Espécie)	0,005798	0,001450	4	11,984***
	Sexo	0,000431	0,000431	1	3,5634
	População(Espécie) x Sexo	0,000631	0,000105	6	0,8694
	Erro	0,014756	0,000121	122	
Proteínas Totais	Espécie	0,218487	0,109244	2	30,758***
	População(Espécie)	0,483185	0,120796	4	34,010***
	Sexo	0,015439	0,015439	1	4,347*
	População(Espécie) x Sexo	0,048124	0,008021	6	2,258*
	Erro	0,447519	0,003552	126	
2		<i>D. willistoni</i>	<i>D. maculifrons</i>		
Triglicerídeos	<i>D. maculifrons</i>	0,000022***			
	<i>D. ornatifrons</i>	0,000022***	0,006352**		
Glicogênio	<i>D. maculifrons</i>	0,274030			
	<i>D. ornatifrons</i>	0,068503	0,349998		
Proteínas Totais	<i>D. maculifrons</i>	0,004873**			
	<i>D. ornatifrons</i>	0,000022***	0,052485		

**Figura 1.1** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das viabilidades (%) larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA) das populações (PoA, PMA, Caj) de *Drosophila willistoni* (A), *D. maculifrons* (B) e *D. ornatifrons* (C).

**Figura 1.2** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) dos tempos de desenvolvimento (em horas) larva-pupa (TLP) e larva-adulto (TLA) das populações (PoA, PMA, Caj) de *Drosophila willistoni* (A), *D. maculifrons* (B) e *D. ornatifrons* (C).

**Figura 1.3** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) do peso seco ( $\mu\text{g}$ ) de machos e fêmeas de populações (PoA, PMA, Caj) de *Drosophila willistoni* (A), *D. maculifrons* (B) e *D. ornatifrons* (C).

**Figura 1.4** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das concentrações de triglicérido, glicogênio e proteínas totais, por peso seco ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ ), de machos e fêmeas de populações (PoA, PMA, Caj) de *Drosophila willistoni*, *Drosophila maculifrons* e *Drosophila ornatifrons*.



Figura 1.1

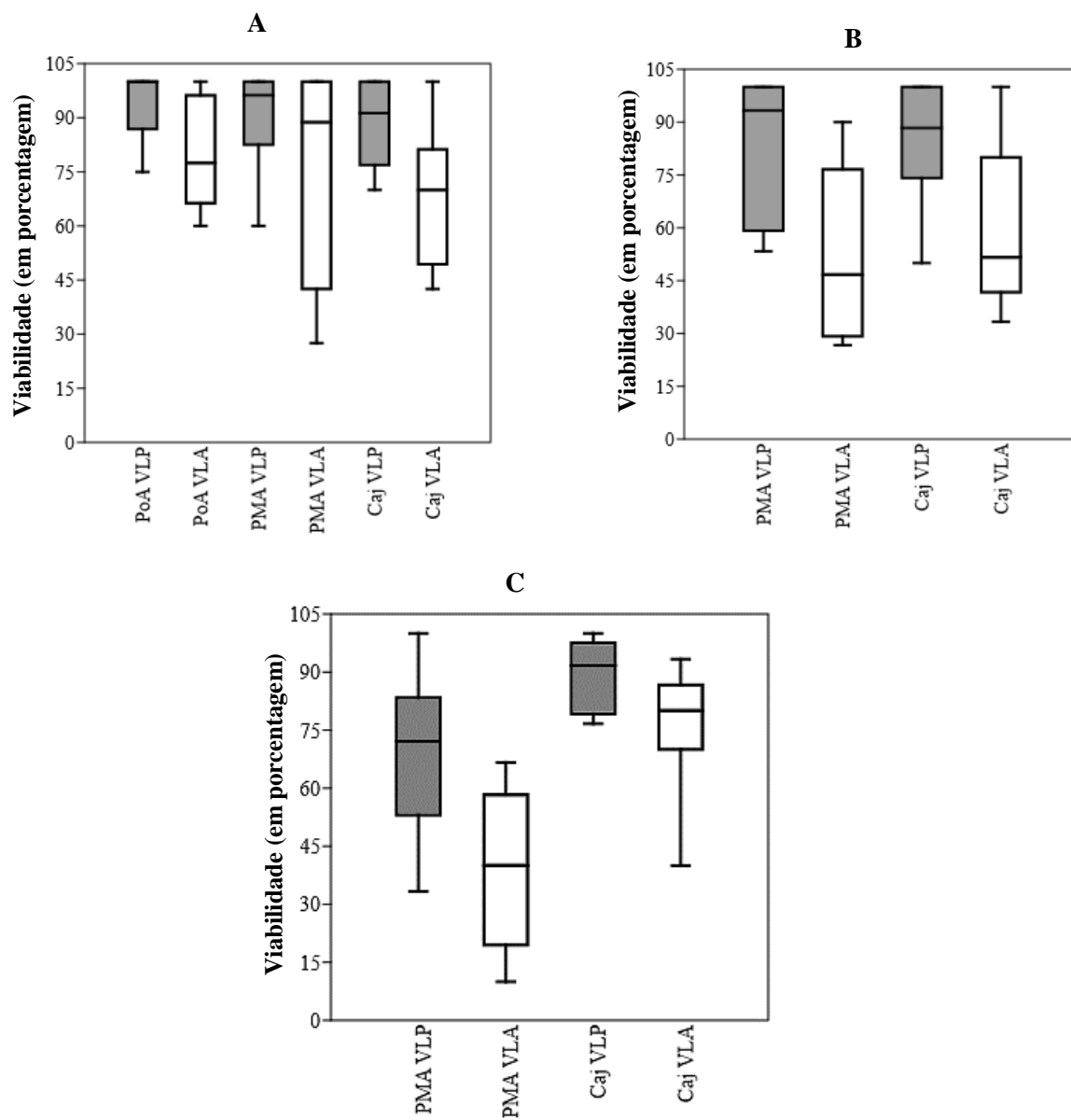


Figura 1.2

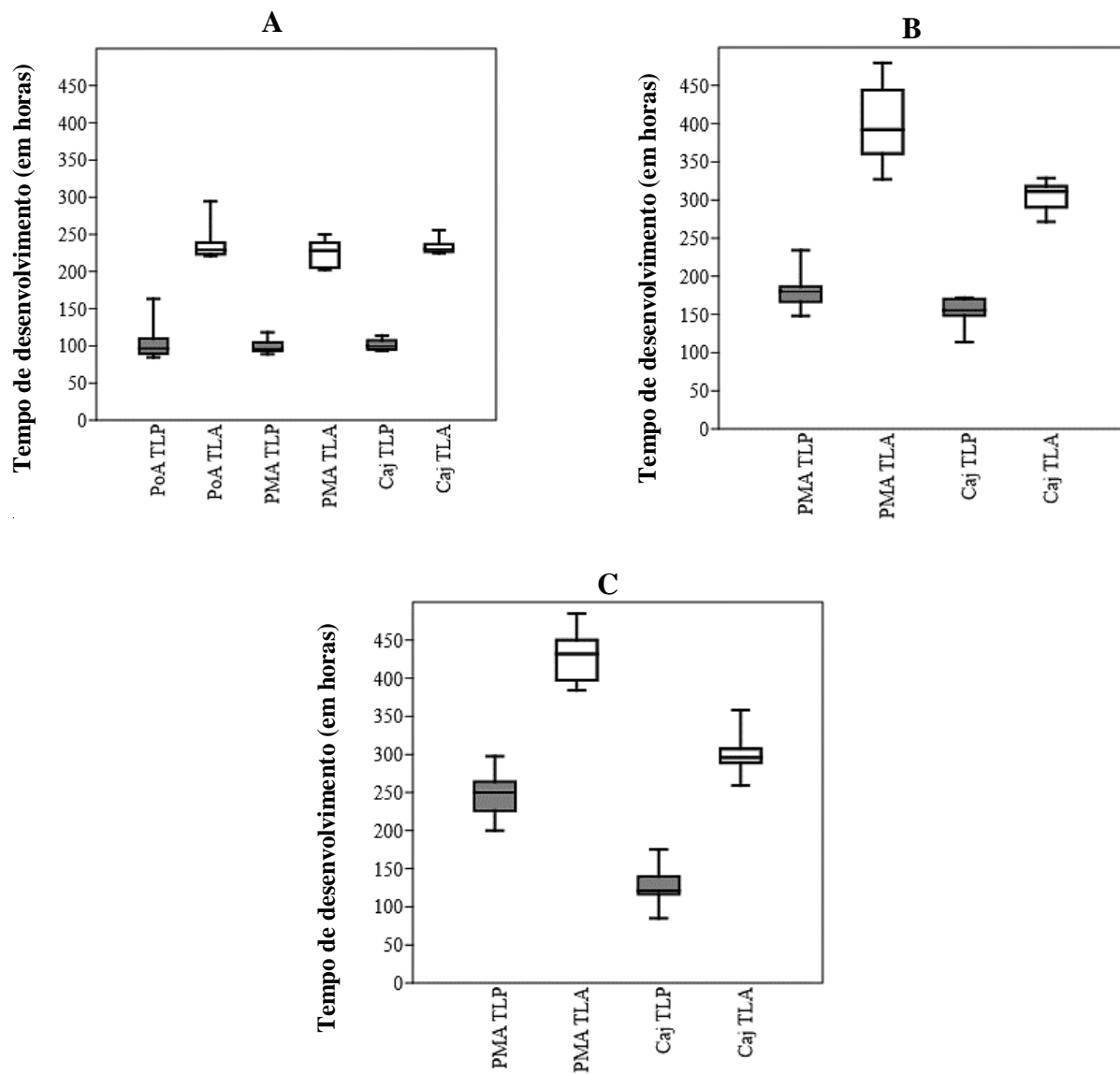


Figura 1.3

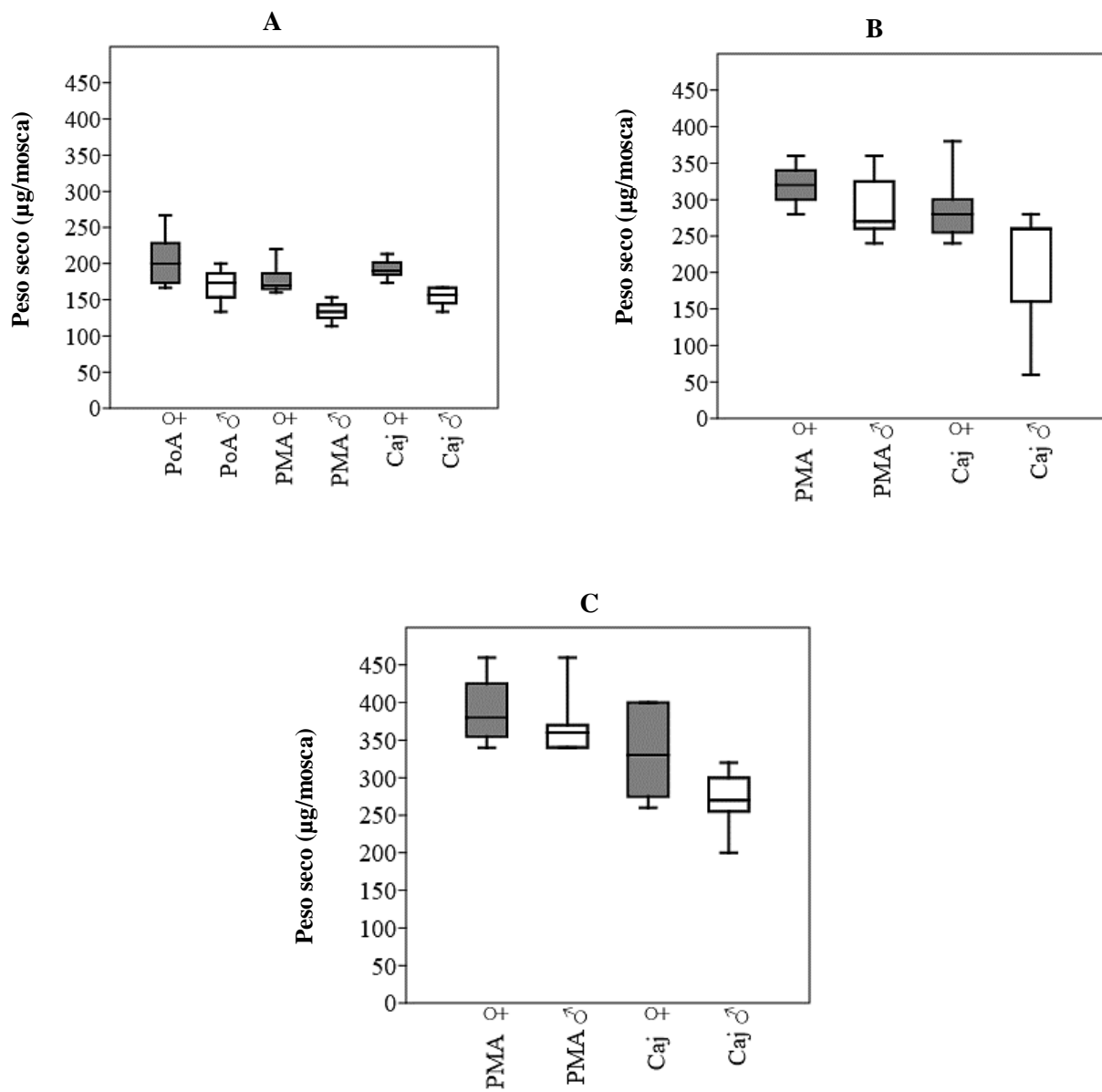
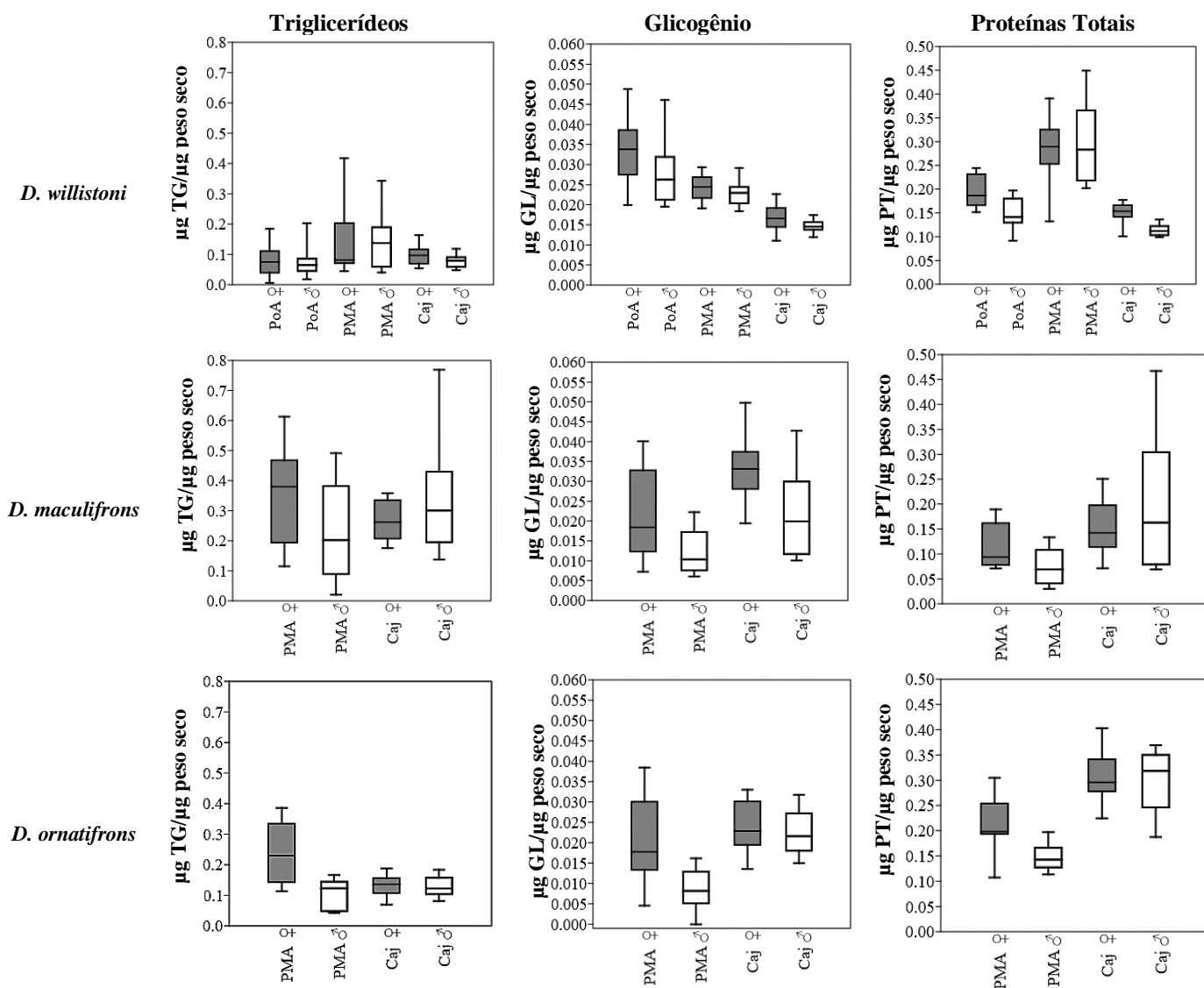


Figura 1.4



## Capítulo 2

O que dietas proteicas e ricas em carboidratos revelam sobre aspectos ecológicos e evolutivos de três espécies Neotropicais de *Drosophila*?

## RESUMO

Moscas do gênero *Drosophila* têm sido utilizadas como modelo para testar efeitos de inúmeras variáveis sobre diversas características da história de vida e metabólicas, tais como o efeito de diferentes dietas. No entanto, existe variabilidade intra e interespecífica neste gênero em relação a capacidade de exploração de recursos. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de três dietas, com diferentes proporções de carboidratos e proteínas (HPS, EPS e LPS), sobre características adaptativas e metabólicas de três espécies de *Drosophila* neotropicais: *D. willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. Para tanto, larvas destas espécies foram criadas nestas dietas, e foram avaliadas as seguintes características: 1) viabilidade, determinada como a porcentagem de adultos (VLA) e também de pupas (VLP) que emergiram a partir das larvas de segundo instar submetidas às dietas; 2) tempo de desenvolvimento, estimado como o período médio (em horas) entre essas transferências da larvas de segundo instar e o surgimento de pupas (TLP) e adultos (TLA); e, 3) conteúdo de três metabólitos: triglicerídeos, glicogênio e proteínas solúveis totais. Os conjuntos metabólicos foram quantificados por ensaios colorimétricos usando moscas adultas recém emergidas das dietas. *Drosophila willistoni* foi viável nas três dietas testadas, enquanto que *D. maculifrons* foi inviável em LPS, que possui concentração maior de carboidrato e menor de proteína, e *D. ornatifrons* apresentou uma viabilidade muito baixa nesta dieta. O tempo de desenvolvimento de *D. willistoni* foi aumentado somente na dieta LPS, não variou em *D. maculifrons*, e *D. ornatifrons* teve seu tempo de desenvolvimento aumentado quanto maior foi a concentração de carboidrato na dieta. Em *D. willistoni*, pela análise trivariada, apenas glicogênio respondeu ao aumento de carboidrato na dieta, sendo encontrado em maiores níveis em indivíduos alimentados com LPS. Em *D. maculifrons*, o conteúdo dos três metabólitos não mostrou relação com os níveis de carboidrato e proteína das dietas. A explicação para este resultado pode ser que uma vez fornecida a quantidade mínima de carboidrato e proteína por meio da dieta, um aumento de um ou outro não implica em diferenças nesses metabólitos. Ou ainda, provavelmente por que foi obtido um baixo número amostral de indivíduos devido a baixa viabilidade apresentada por esta espécie nas dietas de HPS e EPS. Em *D. ornatifrons* a variação de carboidratos e proteínas da dieta tiveram um efeito mais evidente nos níveis de triglicerídeo e proteína. Foram encontradas também variações interpopulacionais em vários caracteres nas três espécies, *trade-offs* entre viabilidade e tempo de desenvolvimento (*D. willistoni* e *D. ornatifrons*), tempo de desenvolvimento e conteúdo de glicogênio (*D. maculifrons* e *D. ornatifrons*) e entre os conteúdos de glicogênio e triglicerídeo (*D. maculifrons*), e correlações positivas entre viabilidade e glicogênio (*D. ornatifrons*) e entre triglicerídeo e proteínas totais (*D. maculifrons*). Assim, foi possível concluir que as variações nas concentrações de macronutrientes nas dietas testadas no presente trabalho, exerceram pressões diferenciais sobre as diversas características avaliadas, demonstrando que a história evolutiva e adaptações diferenciais aos ambientes são importantes para definir a amplitude de resposta que as espécies podem apresentar.

**Palavras-chave:** *Drosophila maculifrons*; *Drosophila ornatifrons*; *Drosophila willistoni*; Viabilidade; Tempo de desenvolvimento; Glicogênio; Triglicerídeo; Proteínas Totais.

## ABSTRACT

Flies of the *Drosophila* genus have been used as a model to test the effects of several variables, such as the effect of different diets, on different life history and metabolic traits. However, there is intra and interspecific variability in this genus regarding the ability to exploit resources. Thus, this work aimed to evaluate the effects of three diets, with different proportions of carbohydrates and proteins (HPS, EPS and LPS), on adaptive and metabolic traits of three species of neotropical *Drosophila*: *D. willistoni*, *D. maculifrons* and *D. ornatifrons*. For this purpose, larvae of these species were raised in these diets, and the following traits were evaluated: 1) viability, determined as the percentage of adults (VLA) and also pupae (VLP) that emerged from the second instar larvae submitted to the diets; 2) development time, estimated as the average period (in hours) between these second instar larvae were transferred to the diets and the appearance of pupae (TLP) and adults (TLA); and, 3) content of three metabolites: triglycerides, glycogen and total soluble proteins. Metabolic pools were quantified by colorimetric assays using recently emerged adult flies from the diets. *Drosophila willistoni* was viable in the three diets tested, while *D. maculifrons* was not viable in LPS, which has a higher carbohydrate and lower protein concentrations, and *D. ornatifrons* showed a very low viability in this diet. The development time of *D. willistoni* was increased only in the LPS diet, it did not vary in *D. maculifrons*, and *D. ornatifrons* had its development time increased with the higher carbohydrate concentration in the diet. In *D. willistoni*, by trivariate analysis, only glycogen responded to the increase in carbohydrate in the diet, being found at higher levels in individuals fed with LPS. In *D. maculifrons*, the content of the three metabolites did not show any relationship with the carbohydrate and protein levels of the diets. The explanation for this result may be that once the minimum amount of carbohydrate and protein is provided through the diet, an increase in one or the other does not imply differences in the content of these metabolites. Or probably because a low sample number of individuals was obtained due to the low viability of this species in the HPS and EPS diets. In *D. ornatifrons*, the variation of carbohydrates and proteins in the diet had a more evident effect on triglyceride and protein levels. Also, interpopulation variations in several traits were found in all species, trade-offs were detected between viability and development time (*D. willistoni* and *D. ornatifrons*), development time and glycogen content (*D. maculifrons* and *D. ornatifrons*) and between glycogen and triglyceride contents (*D. maculifrons*), and positive correlations between viability and glycogen (*D. ornatifrons*) and between triglycerides and total proteins (*D. maculifrons*). Thus, we concluded that the variations in the concentrations of macronutrients in the diets tested in the present work, exerted differential pressures on the different traits evaluated, demonstrating that the evolutionary history and differential adaptations to the environments are important to define the amplitude of response that the species can show.

**Key-words:** *Drosophila maculifrons*; *Drosophila ornatifrons*; *Drosophila willistoni*; Viability; Development time; Glycogen; Triglyceride; Total Protein.

## 2.1 Introdução

Muitas espécies animais enfrentam períodos de restrição alimentar ou precisam se alimentar com alimentos pouco nutritivos. Dessa forma, é provável que a capacidade de lidar com o estresse nutricional esteja sob a ação da seleção natural, levando a adaptações em diversos aspectos da estrutura, função e história de vida dos organismos (HOFFMANN; PARSONS, 1991; DEARING; FOLEY; MCLEAN, 2005). A restrição alimentar pode aumentar (CHAPMAN; PARTRIDGE, 1996) ou diminuir (COOPER et al., 2004) o valor adaptativo dos organismos. Já o excesso de calorias, por meio de uma alimentação rica em açúcares, por exemplo, tem sido associado à obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares (MALIK et al., 2010). Em *Drosophila*, Na et al. (2013) detectaram que moscas alimentadas com dietas ricas em açúcares houve a ocorrência de deterioração da função cardíaca, acompanhada por acúmulo de colágeno semelhante a fibrose, defeitos de sinalização de insulina e acúmulo de gordura. Estes efeitos são muito semelhantes aos que ocorrem em mamíferos, incluindo a espécie humana, quando em condições alimentares parecidas (HAMBY; ZONERAICH; SHERMAN, 1974; WISNESKI et al., 1987; RODRIGUES; CAM; MCNEILL, 1988; CHATHAM; SEYMOUR, 2002; STANLEY; CHANDLER, 2002; HUSS; KELLY, 2005). Obesidade e características fenotípicas associadas a essa condição exibem herdabilidade significativa em populações naturais da maioria dos organismos (JUMBO-LUCIONI et al., 2010). Além disso, em *Drosophila melanogaster*, excesso de açúcar na dieta, mas não de gorduras ou proteínas, tem resultado em fenótipos resistentes à insulina. A expressão de genes envolvidos na lipogênese, gliconeogênese e  $\beta$ -oxidação foi aumentada em larvas que se alimentavam com alto teor de açúcar, consistentes com mecanismos conhecidos de resistência à insulina em humanos (MUSSELMAN et al., 2011).

Vários trabalhos têm demonstrado em *D. melanogaster* que alterações nos componentes nutricionais são mais impactantes do que a quantidade de calorias sobre diversas características, tais como longevidade, mortalidade e reprodução (MAIR; PIPER; PARTRIDGE, 2005; LEE et al., 2008; JENSEN et al., 2015), expectativa de vida e fisiologia (SKORUPA et al., 2008), peso corporal e tamanho de asa e fêmur (POÇAS; CROSBIE; MIRTH, 2020). A nutrição larval pode ainda afetar a história de vida e respostas ao estresse ambiental. Por exemplo, Andersen et al. (2010) mostraram que indivíduos adultos de *D. melanogaster*, resultantes de larvas que se desenvolveram em meio rico em proteínas, aumentaram a tolerância ao calor e à dessecação em comparação com aqueles que se desenvolveram em meio rico em carboidratos. Em contraste, as moscas desenvolvidas no meio de crescimento enriquecido com carboidratos se recuperaram mais rapidamente do estresse ao frio em comparação com as moscas desenvolvidas em um meio rico em proteínas. A produção de ovos foi



maior nas fêmeas que se desenvolveram no meio enriquecido com proteínas. Os mesmos resultados foram encontrados para *Drosophila ananassae* (SISODIA; SINGH, 2012).

A influência da dieta larval parece ter efeito transgeracional em *Drosophila*. Em *D. melanogaster*, o tempo de desenvolvimento larval é mais curto para os filhos cujo um dos parentais (mãe ou pai) é criado com dieta padrão e o outro com dieta pobre, e mais longo para os filhos em que ambos os parentais foram criados em dieta pobre, evidenciando o efeito transgeracional da dieta larval dos parentais sobre o tempo de desenvolvimento dos descendentes (VALTONEN et al., 2012). Matzkin et al. (2013) observaram que os descendentes de moscas criadas com alto teor de proteína em relação ao açúcar sofreram metamorfose significativamente mais rápida, apresentaram maior produtividade, e diferentes conteúdos metabólicos, em comparação com os descendentes de adultos que se desenvolveram em baixo teor de proteína em relação ao açúcar na dieta. Além disso, houve diferença entre as linhagens no grau em que os efeitos parentais foram observados, demonstrando a ocorrência de variabilidade genética para a espécie. Assim, parece que os efeitos da dieta durante uma geração de *D. melanogaster* se estendeu para a próxima, mesmo quando a geração subsequente retornou a utilizar uma dieta padrão durante o desenvolvimento. Outrossim, Zajitschek; Zajitschek; Manier (2017) observaram que machos de *D. melanogaster* criados com dieta rica em proteínas tendem a ter descendentes que apresentam melhor desempenho durante a competição espermática, sugerindo que a seleção sexual pós-copulatória possa também estar sujeita a efeitos paternos transgeracionais.

Não apenas as dietas larvais têm mostrado afetar a sobrevivência em *Drosophila*. As dietas utilizadas pelos adultos, que diferem na proporção de carboidratos e proteínas, também têm consequências significativas na história de vida desses organismos. Níveis crescentes de carboidratos em relação às proteínas nas dietas de adultos de *D. melanogaster*, por exemplo, tendem a aumentar a longevidade, embora a fecundidade seja maximizada à medida que o conteúdo de proteínas aumenta na dieta (MAIR; PIPER; PARTRIDGE, 2005; LEE et al., 2008).

Assim, como foi apontado acima, o gênero *Drosophila* têm se tornado popular em estudos dos efeitos da dieta sobre diversas características da história de vida e às características metabólicas. Porém, como pode ser observado, a maioria destes estudos que fornecem informações importantes sobre o controle do metabolismo, têm sido realizados com *D. melanogaster* (KOHYAMA-KOGANEYA et al., 2008; MATZKIN et al., 2011, como exemplos). Existem atualmente mais de 2000 espécies dentro deste gênero (BÄCHLI, 2020), sendo que a região Neotropical abriga em torno de 442 espécies (BRAKE; BÄCHLI, 2008). Estas espécies apresentam uma enorme variabilidade de

exploração de recursos, tais como frutos, flores, fungos e cactos (CARSON, 1971; PEREIRA; VILELA; SENE, 1983), sendo muitas generalistas e outras especialistas (VALADÃO et al., 2019). Apesar desta grande diversidade, poucos têm sido os estudos realizados a respeito da capacidade de utilização de diferentes dietas com espécies Neotropicais.

Nos grupos Neotropicais, *Drosophila maculifrons* é uma das espécies que pertence ao grupo *guaramunu* (Diptera: Drosophilidae), sendo comumente encontrada e amplamente distribuída na região sul da América Latina, ocorrendo em fragmentos de Mata Atlântica, inclusive dentro do bioma Pampa (SALZANO, 1955). Outra espécie com distribuição Neotropical é *Drosophila ornatifrons*, pertencente ao grupo *guarani* (Diptera: Drosophilidae), encontrada principalmente em áreas úmidas do bioma Mata Atlântica do sul do Brasil (MEDEIROS; KLACZKO, 2004; GOTTSCHALK et al., 2007; DÖGE; VALENTE; HOFMANN, 2008; HOCHMÜLLER et al., 2010; CAVASINI et al., 2014), sendo ocasionalmente coletada em baixíssima abundância (espécie rara) em florestas de galeria do Cerrado e das Savanas (TIDON, 2006) e em baixa abundância no sudeste do Brasil (MATEUS; BUSCHINI; SENE, 2006). A atual distribuição de ambas as espécies parece ser resultado de expansão demográfica que provavelmente começou após o último máximo glacial, entre 20.000 e 18.000 anos atrás, e foi intensificado perto da transição Pleistoceno-Holoceno, há cerca de 12.000 anos, quando a temperatura e a umidade começaram a subir (CENZI DE RÉ et al., 2014; GUSTANI et al., 2015). Após a expansão, diferenciações genéticas e morfológicas surgiram e têm sido detectadas para as duas espécies, e estas alterações têm sido relacionadas a ocorrência em diferentes fitofisionomias da Mata Atlântica (MACHADO et al., 2012; TRAVA, 2014).

Outra espécie do gênero *Drosophila*, que já foi muito estudada, porém tem sido pouco analisada quanto aos efeitos da alimentação, é *Drosophila willistoni*. Ela pertence ao grupo *willistoni* do subgênero *Sophophora*, apresenta uma ampla distribuição geográfica na região Neotropical (VAL; VILELA; MARQUES, 1981; BÄCHLI, 2020), sendo uma das espécies mais polimórficas para inversões cromossômicas em todo o gênero *Drosophila* (SPERLICH; PFRIEM, 1986; ROHDE; VALENTE, 2012) e também apresenta grande variabilidade genética para marcadores isoenzimáticos (AYALA; POWELL, 1972; BURLA et al., 1949). Ela tem sido considerada um organismo modelo clássico para pesquisa em genética populacional e evolutiva, especiação, genética ecológica e evolução molecular (EHRMAN; POWELL, 1982; MARKOW; O'GRADY, 2007). Essa espécie apresenta capacidade de exploração de diversos tipos de ambientes, tais como cidades (SANTOS; VALENTE, 1990; VALENTE; RUSZCZYK; dos SANTOS, 1993; GOTTSCHALK et al., 2007), matas (MATEUS; BUSCHINI; SENE, 2006; PENARIOL; MADI-RAVAZZI, 2013; MATEUS; MACHADO; SIMÃO-SILVA, 2018), formações abertas (DA CUNHA; DOBSZHANSKY, 1954;

DA CUNHA et al., 1959; DOBZHANSKY; POWELL, 1975), bem como de diversos tipos de substratos (CARSON, 1965; VALENTE; ARAÚJO, 1986; VALADÃO et al., 2019). Porém, pouco se sabe sobre os efeitos desta grande habilidade de exploração de variados recursos sobre caracteres bionômicos e metabólicos.

Assim, como as três espécies acima citadas possuem histórias evolutivas próprias, apresentam características peculiares quanto a exploração de recursos, e ocorrem em simpatria em vários fragmentos de mata de diferentes fitofisionomias do Bioma Mata Atlântica na região Neotropical, este trabalho avaliou como estas semelhanças e diferenças moldaram algumas características adaptativas e metabólicas. Para tanto, a viabilidade, o tempo de desenvolvimento e os conteúdos metabólicos de triglicerídeos, glicogênio e proteínas totais foram avaliados quando larvas de diferentes populações destas espécies foram alimentadas em três dietas isocalóricas: 1) com maior concentração de proteína em relação à açúcar (HPS); 2) com concentrações intermediárias de proteína e açúcar (EPS), e; 3) com menor concentração de proteína em relação à açúcar (LPS). Assim, será possível inferir qual é a relação dos resultados obtidos com o processo adaptativo, a biologia e a história evolutiva das três espécies.

## 2.2 Materiais e Métodos

### 2.2.1 Populações, dietas e desenho experimental

Amostras de *Drosophila willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* foram coletadas em três localidades: 1) Parque Municipal das Araucárias (PMA), Guarapuava/PR, que é um fragmento de Floresta Ombrófila Mista (Mata de Araucária); 2) Cajuru/SP (Caj), em um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual na Fazenda Santa Cecília, e; 3) Morro Santana, dentro do *Campus* da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em Porto Alegre/RS (PoA), que é em um fragmento de Mata Atlântica dentro do bioma Pampa. As fêmeas identificadas como sendo candidatas das três espécies (chave de identificação de FREIRE-MAIA; PAVAN, 1949) foram colocadas individualmente em vidros contendo meio de cultura padrão de banana-ágar para a obtenção de linhagens isofêmeas (isolinhagens), denominadas apenas como populações ao longo do trabalho. Foi possível obter linhagens de *D. maculifrons* e de *D. ornatifrons* de Caj e PMA apenas, enquanto que para *D. willistoni* foram obtidas linhagens de todas as localidades. Foram utilizadas nos experimentos três linhagens de *D. willistoni*, uma de cada local de coleta (PMA, Caj e PoA), duas de *D. maculifrons*

e duas de *D. ornatifrons* (uma de PMA, uma de Caj para cada espécie). Todos os experimentos foram realizados a  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , em um fotoperíodo de 12h:12h (claro:escuro).

Três diferentes dietas foram preparadas: 1) maior concentração de proteína em relação à açúcar (HPS – *high protein:sugar ratio*); 2) concentrações intermediárias de proteína e açúcar (EPS – *equal protein:sugar ratio*), e; 3) menor concentração de proteína em relação à açúcar (LPS – *low protein:sugar ratio*). A composição completa das três dietas é encontrada na Tabela 1, seguindo o que foi descrito por Matzkin et al. (2011). De acordo com esses autores, essas dietas são isocalóricas, contendo as seguintes quantidades calóricas (por 100 g): 452 kJ para HPS; 456 kJ para EPS; e 469 kJ para LPS. Diversos trabalhos têm demonstrado que alterações nos componentes nutricionais são mais impactantes do que a quantidade de calorias em *Drosophila* (MAIR; PIPER; PARTRIDGE, 2005; POÇAS; CROSBIE; MIRTH, 2020, com exemplos). Segundo Matzkin et al. (2011), HPS apresenta a maior quantidade de proteína das três dietas (7,1%) e a menor quantidade de carboidratos (17,9%), EPS apresenta 4,3% de proteínas e 21,2% de carboidratos, e LPS é composta por apenas 2,5% de proteínas e 24,6% de carboidratos. Todas as três dietas contêm 73% de umidade e menos de 1% de lipídios. O conteúdo de vitaminas e minerais não foi avaliado nas três dietas e sua influência potencial nos resultados experimentais, se existir diferenças entre elas, é desconhecida. Depois de preparadas, alíquotas de 10 mL das dietas foram pipetadas para tubos, deixando esfriar até ficarem sólidas.

**Tabela 2.1** Composição das três dietas com diferentes proporções de proteína/açúcar (HPS, EPS e LPS) utilizadas para o desenvolvimento das larvas de *Drosophila willistoni*, *Drosophila maculifrons* e *Drosophila ornatifrons*. Adaptado de Matzkin et al. (2011).

	HPS	EPS	LPS
Sacarose (g)	8	20	32
Levedura (g)	32	20	8
Farinha de milho amarela (g)	9	9	8
Água (mL)	100	100	100
Ágar granulado (g)	1	1	1
Solução de Nipagim (mL)	0,1	0,1	0,1
Proteína total/carboidrato (g)	0,43	0,2	0,1

HPS – *High Protein Sugar* (dieta com alta proporção de proteína em relação ao açúcar);

EPS – *Equal Protein Sugar* (dieta com proporções intermediárias de proteína e açúcar);

LPS – *Low Protein Sugar* (dieta com baixa proporção de proteína em relação ao açúcar).

Entre 50 a 80 casais de cada população foram colocados durante 24 horas em câmaras embrionárias contendo placa de petri com ágar a 0,5% enriquecido com sacarose e levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) para indução da oviposição. Após este período, estas placas foram trocadas por novas placas. As que foram retiradas foram mantidas por mais 48h (*D. willistoni*) ou 144h (*D. maculifrons* e *D. ornatifrons*) nas mesmas condições das câmaras embrionárias. Esse tempo é necessário para que as larvas eclodam dos ovos e atinjam o 2º instar. Estas larvas foram colocadas em tubos contendo uma das três dietas. Este processo foi repetido até que o total de larvas necessárias para a realização dos experimentos fosse obtido. Para *D. willistoni*, um total de 40 larvas por tubo foram colocadas para evitar o efeito de superpopulação. Como para as espécies *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* observou-se que a produção de larvas era menor e demandava um tempo maior, um total de 30 larvas foram colocadas em cada tubo contendo uma das três dietas. Foram preparados 10 tubos por dieta e por população.

### 2.2.2 Análises de caracteres bionômicos

Para as três espécies, foram calculados a viabilidade e o tempo de desenvolvimento desde a colocação das larvas de 2º estágio até a formação de pupas e também a emergência dos adultos nos tubos com os três tipos de dietas. A viabilidade (VLA) foi expressa como a proporção de larvas transferidas que atingiram o estágio de adulto. Esta medida foi realizada para cada réplica, e o valor para cada população em cada dieta foi obtido a partir da média entre as réplicas. O tempo de desenvolvimento foi medido de duas formas: 1 - o tempo decorrido (em horas) entre a transferência das larvas de 2º instar para os tubos e o aparecimento de cada pupa (TLP); e 2 - como o tempo decorrido (em horas) entre a transferência das larvas de 2º instar para os tubos e a emergência de cada mosca adulta (TLA). Nos dois casos, as observações foram realizadas a cada 4 horas após a emergência das primeiras pupas. Para TLA, os valores foram obtidos a partir da média dos tempos de todos os adultos, e devido a natureza dos dados, somente esta medida foi analisada estatisticamente. Todas as moscas adultas que emergiram foram identificadas com relação ao sexo e congeladas a -20°C para posterior utilização nas análises metabólicas.

### 2.2.3 Análises metabólicas

As análises metabólicas foram realizadas de acordo com o descrito por Matzkin et al. (2011). Dez grupos de 5 moscas para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, e de 15 moscas para *D. willistoni*, com zero dia após a emergência, foram colocados em uma estufa a 50 °C para secagem durante 3 dias. Os grupos foram formados para cada combinação entre sexo, população e dieta para cada espécie. O peso seco foi determinado utilizando uma microbalança Shimadzu, modelo AY 220. Os valores dos

pesos secos das três espécies são encontrados na Figura 2.1 do APÊNDICE III. Cada grupo de moscas secas foi homogeneizado em 1 mL de tampão fosfato (25 mM KHPO<sub>4</sub>, pH 7,4) e todos foram centrifugados por 2 minutos a 12.000 rpm para a remoção de partículas que poderiam interferir nos ensaios colorimétricos. Um total de 800 µL do sobrenadante do homogeneizado foi coletado e congelado para posterior análise dos conteúdos metabólicos.

As análises colorimétricas foram realizadas para a quantificação dos conteúdos de glicogênio, triglicerídeos e proteínas solúveis totais. Todos os protocolos das análises dos conteúdos metabólicos estão descritos em detalhes no APÊNDICE II. O conteúdo de glicogênio foi medido utilizando o kit de enzimas Glicose Oxidase e Peroxidase (Sigma-Aldrich P7119), adicionando 0,1 unidades de Amiloglicosidase (Sigma-Aldrich) por mL de tampão de reação. As amostras (40 µL do homogeneizado + 200 µL de tampão de reação) foram incubadas a 37°C durante 3 horas. A absorbância foi medida a 445 nm. O conteúdo de triglicerídeos em cada amostra foi determinado utilizando o kit Triglicérides (Gold Analisa REF. 459, MS 80022230062). As amostras (40 µL do homogeneizado + 200 µL do reagente do kit) foram incubadas a 37°C durante 30 minutos. A absorbância foi medida a 500 nm. Foi realizada a análise apenas de triglicerídeos, e não de lipídeos totais (que incluem lipídeos cuticulares), pelo fato do nosso objetivo ser avaliar os componentes envolvidos no armazenamento de energia. A concentração de proteínas solúveis foi determinada utilizando o ensaio do Ácido Bicinconínico (Sigma B9643), seguindo as instruções do fabricante. A absorbância para quantificação de proteínas foi medida a 562 nm. As absorbâncias foram medidas no espectrofotômetro Spectramax 190 da Molecular Devices. Cada conjunto metabólico de cada amostra foi mensurado em triplicata e as médias de cada triplicata foram normalizadas utilizando o peso seco antes das análises estatísticas.

#### 2.2.4 Análises estatísticas

Para testar os efeitos das dietas de HPS, EPS e LPS sobre VLA, TLA e os conteúdos dos metabólitos triglicerídeo, glicogênio e proteínas totais, foi utilizado o modelo linear misto com uma abordagem Bayesiana. Os fatores dieta, população e sexo foram utilizados como efeitos fixos e os indivíduos das espécies como efeito randômico. A execução do modelo foi realizada com 100.000 iterações MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*) amostrados em 15.000 *burn-in* iterações com intervalos de 1.000 iterações para estimar os componentes de variância e suas correlações, utilizando o pacote MCMCglm com distribuição Gaussiana (HADFIELD, 2010). A verificação de convergência do melhor modelo foi realizada utilizando o DIC (*Deviance Information Criterion from the threshold model*). Foi testada a repetibilidade entre os tubos para TLA utilizando a função *CalcRepeatability*

no pacote Evolgg (MELO et al., 2016) e esta variou entre 0.89 e 0.91 para as espécies testadas. As cinco características foram testadas em conjunto, de forma bivariada analisando apenas VLA e TLA, e de forma trivariada, analisando somente os três metabólitos. As análises foram feitas no programa R versão 3.6.2 (CORE TEAM, 2019).

## 2.3 Resultados

### 2.3.1 *Drosophila willistoni*

No modelo linear misto, que analisou todas as características em conjunto, a VLA de *D. willistoni* não foi afetada pelas dietas, mas diferiu entre os sexos (Tabela 2.2), com os machos sendo menos viáveis (dados não mostrados). Esses mesmos resultados foram obtidos no modelo bivariado (Tabela 2.6 – APÊNDICE III), acrescidos de diferenças entre as populações na resposta às dietas. O TLA foi significativamente aumentado pela dieta LPS, com interação significativa com as populações de PMA e PoA, tanto no modelo linear misto quanto no modelo bivariado (Tabela 2.2; Tabela 2.6 – Apêndice III; Figura 2.2 – Apêndice III). O sexo também mostrou efeito sobre o TLA (Tabela 2.2; Tabela 2.6 – Apêndice III), com as fêmeas desenvolvendo-se mais rapidamente (resultados não mostrados). A VLA e TLA apresentaram os maiores valores de covariância e correlação, tendo sido estes negativos, indicando que variam inversalmente proporcionais. Os demais valores de covariância e correlação foram baixos (Tabela 2.3).

Na análise em conjunto, os conjuntos metabólicos de triglicerídeos, glicogênio e proteínas não mostraram serem afetados pelas dietas (Tabela 2.2). No entanto, na análise trivariada, que avaliou os três metabólitos separadamente dos caracteres bionômicos, glicogênio demonstrou ser afetado pelas três dietas (Tabela 2.7 – Apêndice III), de modo que os níveis deste metabólito diminuíram na seguinte ordem: LPS > EPS > HPS. Apenas PMA mostrou diferença no conteúdo de proteínas, na análise em conjunto (Tabela 2.2; Figura 2.3 – Apêndice III), e de glicogênio, na análise trivariada (Tabela 2.7 e Figura 2.3 – Apêndice III).

### 2.3.2 *Drosophila maculifrons*

Nenhum indivíduo de *D. maculifrons* conseguiu completar seu desenvolvimento na dieta LPS, não havendo emergência de adultos. Assim, a VLA foi nula nesta dieta, e por consequência, o TLA não pode ser estimado. Porém, como algumas larvas conseguiram empupar, os resultados da VLP (viabilidade larva-pupa) e do TLP (tempo de desenvolvimento larva-pupa) estão apresentados na Figura 2.4 do Apêndice III.

**Tabela 2.2** Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações sobre a viabilidade larva-adulto (VLA), o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA), e os conteúdos de triglicerídeo, glicogênio e proteínas em *Drosophila willistoni*. IC = Intervalo de Confiança.

		Média posterior	IC 95% Inferior	IC 95% Superior	Amostras efetivas	pMCMC
VLA	Intercepto	1,127e+01	9,227e+00	1,328e+01	700,0	< 0,001 **
	SexoM	-2,587e+00	- 3,680e+00	-1,457e+00	700,0	< 0,001 **
	HPS	3,785e-01	-1,833e+00	2,909e+00	700,0	0,75143
	LPS	1,151e+00	-1,200e+00	3,479e+00	700,0	0,36286
	PMA	7,845e-01	-1,444e+00	3,410e+00	700,0	0,53429
	PoA	-3,945e-01	-2,711e+00	2,136e+00	700,0	0,72286
	HPS:PMA	-2,702e+00	-6,392e+00	7,374e-01	700,0	0,13714
	HPS:PoA	-1,537e+00	-5,363e+00	1,816e+00	700,0	0,40286
	LPS:PMA	-2,479e+00	-5,931e+00	7,477e-01	700,0	0,14571
	LPS:PoA	-2,831e+00	-6,209e+00	9,756e-01	859,1	0,12000
TLA	Intercepto	2,420e+02	2,310e+02	2,510e+02	700,0	< 0,001 **
	SexoM	9,260e+00	2,882e+00	1,526e+01	623,3	< 0,001 **
	HPS	-7,348e+00	-2,039e+01	5,685e+00	700,0	0,27143
	LPS	-1,409e+01	-2,819e+01	-9,495e-01	700,0	0,04857 *
	PMA	-1,147e+01	-2,350e+01	2,088e+00	700,0	0,11429
	PoA	-1,263e+01	-2,487e+01	1,819e+00	616,0	0,06857
	HPS:PMA	2,601e+00	-1,589e+01	2,335e+01	700,0	0,78000
	HPS:PoA	-3,277e+00	-2,207e+01	1,417e+01	700,0	0,72286
	LPS:PMA	2,335e+01	6,363e+00	4,507e+01	700,0	0,01429 *
	LPS:PoA	2,853e+01	9,791e+00	4,790e+01	511,3	0,00571 **
Triglicerídeo	Intercepto	-1,119e+01	-1,327e+01	-9,054e+00	700,0	< 0,001 **
	SexoM	-1,830e-02	-6,939e-02	2,511e-02	699,3	0,43429
	HPS	2,811e-02	-8,428e-02	1,239e-01	785,6	0,58857
	LPS	2,948e-02	-7,278e-02	1,248e-01	793,2	0,55143
	PMA	6,217e-02	-3,477e-02	1,674e-01	896,6	0,20000
	PoA	5,474e-02	-5,011e-02	1,550e-01	643,9	0,28000
	HPS:PMA	-5,865e-02	-2,067e-01	8,633e-02	887,5	0,40000
	LPS:PMA	-2,812e-02	-1,739e-01	1,032e-01	821,9	0,66571
	HPS:PoA	-4,633e-02	-2,280e-01	8,398e-02	724,8	0,557
	LPS:PoA	-3,377e-02	-1,737e-01	9,014e-02	700,0	0,65429

Continua



						Continuação
Glicogênio	Intercepto	-1,125e+01	-1,323e+01	-9,070e+00	700,0	< 0,001 **
	SexoM	9,204e-04	-4,456e-02	3,983e-02	533,1	0,95714
	HPS	-3,516e-04	-9,757e-02	8,943e-02	809,2	0,96286
	LPS	1,100e-02	-1,002e-01	9,695e-02	700,0	0,83143
	PMA	7,162e-03	-8,168e-02	1,067e-01	700,0	0,89143
	PoA	1,137e-02	-9,424e-02	1,070e-01	700,0	0,81143
	HPS:PMA	-7,971e-04	-1,454e-01	1,192e-01	783,0	0,96286
	LPS:PMA	-8,018e-03	-1,285e-01	1,390e-01	622,4	0,90571
	HPS:PoA	-4,279e-03	-1,478e-01	1,151e-01	700,0	0,92857
	LPS:PoA	2,156e-03	-1,300e-01	1,537e-01	700,0	0,99143
Proteína	Intercepto	-1,113e+01	-1,306e+01	-8,936e+00	700,0	< 0,001 **
	SexoM	-2,161e-02	-7,682e-02	2,474e-02	700,0	0,35143
	HPS	1,493e-02	-9,314e-02	1,136e-01	700,0	0,80286
	LPS	1,848e-02	-8,538e-02	1,242e-01	700,0	0,72571
	PMA	1,508e-01	4,316e-02	2,566e-01	700,0	0,00286 **
	PoA	3,450e-02	-6,787e-02	1,464e-01	700,0	0,54286
	HPS:PMA	2,087e-02	-1,410e-01	1,692e-01	700,0	0,78000
	LPS:PMA	-2,144e-02	-1,658e-01	1,208e-01	700,0	0,76571
	HPS:PoA	2,400e-03	-1,554e-01	1,436e-01	700,0	0,98571
	LPS:PoA	4,536e-03	-1,627e-01	1,391e-01	700,0	0,92857

Na análise em conjunto dos caracteres, as dietas EPS e HPS mostraram não ter efeito sobre qualquer um deles (Tabela 2.4; Figuras 2.4 e 2.5 – Apêndice III). Entretanto, quando VLA e o TLA são analisados de forma bivariada, observa-se um efeito significativo das populações Caj e PMA sobre a VLA (Tabela 2.8 – Apêndice III). Com relação aos conteúdos metabólicos, no modelo em conjunto (Tabela 2.4), PMA diferiu significativamente para triglicerídeo e proteína. Para glicogênio, o sexo mostrou efeito significativo, com os machos apresentando menores valores do que as fêmeas (Figura 2.5 – Apêndice III). O modelo trivariado, que analisou apenas os conjuntos de metabólitos, não mostrou diferenças significativas para nenhum dos fatores (Tabela 2.9 – Apêndice III). Covariâncias e correlações negativas e fracas foram encontradas entre TLA e glicogênio e entre triglicerídeo e glicogênio, e triglicerídeo e proteínas covariaram e se correlacionaram fraca e positivamente (Tabela 2.3).

**Tabela 2.3** Matriz de variância, covariância (abaixo da diagonal) e correlação (acima da diagonal) entre os caracteres analisados em *Drosophila willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*. Amarelo = maiores valores positivos de covariância/correlação. Cinza = maiores valores negativos de covariância/correlação (*trade-offs*).

	Variância	VLA	TLA	Triglicerídeo	Glicogênio	Proteína
<i>D. willistoni</i>						
VLA	2,4208	-	-0,0333	0,0276	-0,0268	-0,0141
TLA	4,6124	-0,1113	-	0,0133	0,0012	-0,0197
Triglicerídeo	0,5750	0,0325	0,0216	-	-0,0083	0,0021
Glicogênio	0,5744	-0,0316	0,0020	-0,0048	-	-0,0263
Proteína	0,5812	-0,0167	-0,0322	0,0012	-0,0152	-
<i>D. maculifrons</i>						
VLA	1,7318	-	0,0006	0,0236	-0,0495	0,0565
TLA	1,7191	0,0011	-	0,0375	-0,0615	-0,0392
Triglicerídeo	1,6046	0,0394	0,0623	-	-0,0650	0,1567
Glicogênio	1,6870	-0,0846	-0,1048	-0,1070	-	0,0557
Proteína	1,6873	0,0966	-0,0668	0,2579	0,0940	-
<i>D. ornatifrons</i>						
VLA	0,8225	-	-0,1380	0,0093	0,1298	-0,0641
TLA	0,9410	-0,1214	-	-0,0918	-0,1249	0,0384
Triglicerídeo	0,8963	0,0080	-0,0843	-	0,0836	0,0116
Glicogênio	1,0955	0,1232	-0,1268	0,0828	-	0,0086
Proteína	0,8398	-0,0533	0,0341	0,0101	0,0082	-

### 2.3.3 *D. ornatifrons*

Em *D. ornatifrons*, no modelo que analisou todos os caracteres em conjunto, a VLA mostrou ser afetada pelas dietas de HPS e LPS em relação à EPS (Tabela 2.5), sendo que a dieta HPS aumentou a viabilidade enquanto que LPS diminuiu (Figura 2.6 – Apêndice III). Também foi detectada diferença significativa entre as populações PMA e Caj, com efeito significativo de interação de PMA com a dieta de HPS, e entre os sexos (Tabela 2.5), sendo os machos menos viáveis que as fêmeas (Tabela 2.8 – Apêndice III). O TLA foi afetado pelas dietas, sendo que HPS diminuiu a duração do TLA enquanto LPS resultou em aumento (Tabela 2.5; Figura 2.6 – Apêndice III). A interação entre a dieta HPS e PMA foi significativa, indicando desenvolvimento mais rápido de indivíduos dessa população nesta dieta (Tabela 2.5; Figura 2.6 – Apêndice III). O modelo bivariado indicou diferença significativa no TLA na dieta de LPS e entre os sexos (Tabela 2.8 – Apêndice III). A VLA covariou e foi correlacionada negativamente com o TLA e positivamente com glicogênio, que consequentemente variaram em direções opostas. Os demais valores de covariância e correlação foram baixos (Tabela 2.3).

**Tabela 2.4** Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações sobre a viabilidade larva-adulto (VLA), o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA), e os conteúdos de triglicerídeo, glicogênio e proteínas em *Drosophila maculifrons*. IC = Intervalo de Confiança.

		Média posterior	IC 95% Inferior	IC 95% Superior	Amostras efetivas	pMCMC
VLA	Intercepto	-0,29130	-1,85118	1,48680	700,0	0,717
	SexoM	0,19035	-0,89741	1,17505	780,3	0,726
	HPS	0,20542	-1,31642	1,71342	700,0	0,769
	PMA	-0,17193	-1,67710	1,28101	700,0	0,806
	HPS:PMA	0,69789	-1,23292	2,66229	700,0	0,491
TLA	Intercepto	0,44143	-2,16028	2,87227	700,0	0,720
	SexoM	0,36291	-0,62151	1,34825	700,0	0,449
	HPS	-0,64641	-2,16751	0,81554	701,7	0,383
	PMA	-0,31773	-1,82680	1,21899	700,0	0,694
	HPS:PMA	1,24627	-0,87119	3,12650	598,0	0,229
Triglicerídeo	Intercepto	-0,68843	-2,70947	1,30035	700,0	0,520
	SexoM	0,10932	-0,49994	0,74970	700,0	0,714
	HPS	0,13964	-0,88079	0,93312	700,0	0,703
	PMA	1,71932	0,82175	2,63923	475,9	<0,001 **
	HPS:PMA	0,22127	-0,99689	1,35475	569,9	0,729
Glicogênio	Intercepto	0,65354	-1,67637	2,95561	700,0	0,586
	SexoM	-0,90370	-1,73813	-0,04346	700,0	0,040 *
	HPS	0,31824	-0,91291	1,78933	700,0	0,623
	PMA	0,43041	-0,78642	1,94102	700,0	0,540
	HPS:PMA	-1,03338	-2,82481	0,68741	700,0	0,240
Proteínas	Intercepto	-0,79270	-3,31153	1,09978	700,0	0,489
	SexoM	-0,24465	-1,11728	0,51597	700,0	0,523
	HPS	0,89220	-0,36364	1,82043	471,3	0,114
	PMA	1,91953	0,70569	3,06961	1006,5	<0,001 **
	HPS:PMA	-1,03571	-2,47629	0,66844	808,3	0,191

Com relação aos conjuntos metabólicos, o conteúdo de triglicerídeo foi reduzido pela dieta de HPS, com interação de PMA com esta dieta (Tabela 2.5; Figura 2.7 do Apêndice III). Glicogênio apenas diferiu entre as populações e entre os sexos (Tabela 2.5), com os machos apresentando valores menores que as fêmeas (Figura 2.7 – Apêndice III). Para o conteúdo de proteínas, a dieta HPS resultou em maiores níveis, com as populações diferindo entre si, e interação significativa entre PMA e esta dieta (Tabela 2.6; Figura 2.7 – Apêndice III). O modelo trivariado não mostrou variação significativa para os três conteúdos metabólicos (Tabela 2.9 – Apêndice III).

**Tabela 2.5** Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações sobre a viabilidade larva-adulto (VLA), o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA), e os conteúdos de triglicerídeo, glicogênio e proteínas em *Drosophila ornatifrons*. IC = Intervalo de Confiança.

		Média posterior	IC 95% Inferior	IC 95% Superior	Amostras efetivas	pMCMC
VLA	Intercepto	7,127e-02	-6,207e-01	6,587e-01	700,0	0,81714
	SexoM	-4,465e-01	-8,089e-01	-8,811e-02	700,0	0,02000 *
	HPS	1,090e+00	6,362e-01	1,539e+00	700,0	< 0,001 **
	LPS	-9,798e-01	-1,669e+00	-2,188e-01	700,0	0,00571 **
	PMA	-6,698e-01	-1,318e+00	-7,485e-02	700,0	0,03429 *
	HPS:PMA	-8,937e-01	-1,909e+00	-9,543e-02	700,0	0,04000 *
	LPS:PMA	6,776e+03	-1,751e+05	2,010e+05	700,0	0,94857
TLA	Intercepto	2,455e-01	-7,059e-01	1,243e+00	916,3	0,60000
	SexoM	1,335e-01	-2,381e-01	5,068e-01	700,0	0,45429
	HPS	-1,330e+00	-1,802e+00	-8,955e-01	700,0	< 0,001 **
	LPS	7,932e-01	5,162e-02	1,560e+00	700,0	0,04000 *
	PMA	-6,017e-02	-7,184e-01	5,220e-01	700,0	0,86000
	HPS:PMA	1,257e+00	3,849e-01	2,260e+00	700,0	0,01714 *
	LPS:PMA	1,282e+03	-2,068e+05	1,882e+05	565,4	0,97714
Triglicerídeo	Intercepto	3,452e-01	-7,144e-01	1,335e+00	700,0	0,48286
	SexoM	-3,572e-01	-8,380e-01	1,216e-01	700,0	0,15714
	HPS	-7,570e-01	-1,281e+00	-1,985e-01	700,0	0,00571 **
	LPS	1,067e-01	-8,920e-01	9,592e-01	700,0	0,82000
	PMA	-2,599e-01	-1,159e+00	4,893e-01	585,0	0,55714
	HPS:PMA	2,009e+00	7,773e-01	3,078e+00	700,0	< 0,001 **
	LPS:PMA	-8,762e+03	-2,052e+05	1,876e+05	700,0	0,92571
Glicogênio	Intercepto	5,979e-01	-4,349e-01	1,539e+00	700,0	0,20286
	SexoM	-6,059e-01	-1,015e+00	-2,045e-01	700,0	0,00857 **
	HPS	-1,352e-01	-6,573e-01	2,864e-01	700,0	0,54286
	LPS	4,999e-01	-2,838e-01	1,265e+00	700,0	0,21143
	PMA	-1,017e+00	-1,710e+00	-2,705e-01	783,2	0,01143 *
	HPS:PMA	-4,234e-01	-1,417e+00	5,423e-01	700,0	0,42286
	LPS:PMA	1,858e+03	-1,728e+05	2,114e+05	700,0	0,96571
Proteínas	Intercepto	-9,678e-01	-1,861e+00	-7,438e-02	700,0	0,03429 *
	SexoM	6,348e-02	-3,751e-01	5,058e-01	700,0	0,77429
	HPS	1,265e+00	7,119e-01	1,794e+00	700,0	<0,001 **
	LPS	6,442e-01	-2,176e-01	1,497e+00	700,0	0,14286
	PMA	1,550e+00	7,595e-01	2,326e+00	700,0	< 0,001 **
	HPS:PMA	-1,158e+00	-2,190e+00	5,943e-02	700,0	0,04286 *
	LPS:PMA	-8,531e+03	-1,962e+05	2,022e+05	700,0	0,98000

## 2.4 Discussão

Atualmente, ainda sabe-se pouco sobre a capacidade dos drosofilídeos neotropicais quanto à exploração de recursos. De uma forma geral, estas moscas utilizam matéria orgânica em decomposição, tais como frutos, flores, fungos e cladódios (CARSON, 1971; PEREIRA; VILELA; SENE, 1983) como sítios de alimentação, acasalamento e oviposição, se alimentando de fungos e bactérias envolvidas no processo (BEGON, 1982). Recentemente, Valadão et al. (2019) analisaram a comunidade de drosofilídeos neotropicais que podem ser obtidos a partir de frutos. Nesse trabalho, eles apontaram que, neste tipo de substrato apenas, *D. willistoni* é tão generalista quanto *D. melanogaster*, outra espécie generalista e associada a ambientes antrópicos, tal como *D. willistoni*. Segundo esses autores, *D. willistoni* foi registrada utilizando frutos de 41 espécies de plantas neotropicais, enquanto que *D. melanogaster* foi registrada em 42 espécies, ficando as duas atrás somente de *D. simulans* (82 espécies) e de *D. nebulosa* (57 espécies). Assim, como em *D. melanogaster*, espera-se que *D. willistoni* se alimente frequentemente de dietas ricas em açúcares. Já *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* mostraram-se menos maleáveis quanto a utilização de frutos, sendo a primeira apontada como mais generalista que *D. ornatifrons*, tendo sido registrada utilizando 25 espécies de plantas neotropicais como substrato, contra 14 de *D. ornatifrons*. Portanto, as duas se mostraram menos generalista que *D. willistoni* para este tipo de recurso. Porém, o trabalho de Goñi et al. (2012) demonstrou que *D. ornatifrons* apresenta uma capacidade mais ampla de exploração de recursos do que somente frutos (único substrato analisado por VALADÃO et al., 2019), uma vez que ela foi a espécie do gênero *Drosophila* mais abundante em uma coleta em um fragmento florestal do Uruguai, na qual esterco e carniça foram utilizados como iscas.

Com base no descrito acima e no que foi detectado no presente trabalho, adaptações ao ambiente e a história evolutiva das três espécies parecem ser importantes na resposta das características analisadas frente à pressão causada pelas diferentes dietas. *Drosophila willistoni* apresentou a maior viabilidade (VLA) entre as espécies analisadas (mediana de 47,5%, contra 6,7% de *D. maculifrons* e 16,7% de *D. ornatifrons*), com valores semelhantes em todas as dietas. Porém, estes valores foram inferiores aos encontrados para *D. melanogaster* (acima de 80%) nas mesmas dietas (MATZKIN et al., 2011; NAZARIO-YEPIZ; LACLETTE; MARKOW, 2017). Viabilidades semelhantes nas diferentes dietas indicam que, independente da qualidade nutricional, tanto *D. willistoni* quanto *D. melanogaster* conseguem se desenvolver similarmente até a emergência dos adultos. Esses resultados demonstram que estas espécies generalistas provavelmente possuem adaptações metabólicas para lidar com o excesso e/ou carência de macronutrientes importantes, tais como carboidratos e proteínas, durante o desenvolvimento larval. Porém, parece que esta capacidade

gera um custo. Por exemplo, redução da longevidade e da fecundidade foi observada em *D. melanogaster* quando submetida a uma dieta com o dobro de açúcar em relação à proteína (NG'OMA et al., 2018).

No presente trabalho foi detectado um aumento no tempo de desenvolvimento de *D. willistoni* na dieta com maior concentração de carboidratos e menor de proteínas (LPS), tal como já constatado em *D. melanogaster* (MATZKIN et al., 2011; NAZARIO-YEPIZ; LACLETTE; MARKOW, 2017). Tempo de desenvolvimento mais longo é considerado uma desvantagem, pois aumenta a exposição à dessecação, predação ou parasitismo (CHIPINDALE; CHU; ROSE, 1996; HOFFMANN; HARSHMAN, 1999; KRIJGER; PETERS; SEVENSTER, 2001), visto que as larvas têm pouca mobilidade, e as pupas nenhuma, para evitar substratos inapropriados. Para insetos em geral, particularmente moscas, o estágio larval é o principal período de limitação de recursos alimentares, em que as larvas competem por alimento e procuram ingerir o máximo de alimento no menor intervalo de tempo possível, antes da completa exaustão dos recursos (ULLYETT, 1950; BAKKER, 1961; LEVOT; BROWN; SHIPP, 1979). Reis (2016) observou alterações no tempo de desenvolvimento em dietas ricas em proteína e ricas em carboidrato, consistente com um modelo no qual o desenvolvimento mais rápido indica uma abundância de recursos disponíveis para o crescimento, e o desenvolvimento mais lento reflete a escassez de tais recursos, com a proteína representando um melhor recurso do que carboidratos.

Os resultados para *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, que são duas espécies relacionadas filogeneticamente (ROBE; VALENTE; LORETO, 2010; VAN DER LINDE et al. 2010; RUSSO et al. 2013) e que podem ser coletadas utilizando iscas padrão de *Drosophila*, isto é, banana fermentada (dos SANTOS; MACHADO; MATEUS, 2010), mostraram que as duas são mais semelhantes entre si do que com *D. willistoni* com relação as respostas ao desenvolvimento larval nas diferentes dietas, mas cada uma apresenta algumas particularidades. Para *D. maculifrons*, a alta concentração de carboidratos e baixa de proteínas na dieta LPS foi tão restritiva e/ou tóxica que as larvas não conseguiram completar sua metamorfose, e não houve emergência de adultos. Já para *D. ornatifrons*, esta dieta também parece ter sido muito estressante, tendo ela inclusive apresentado menor VLP que *D. maculifrons*. Porém, uma das suas populações (Caj) foi capaz de se desenvolver até a emergência de adultos, evidenciando diferenças na capacidade de exploração de recursos entre estas espécies. Assim, parece que *D. maculifrons* necessita de uma certa concentração de proteínas na dieta, e/ou tem um certo limite para o quanto de carboidratos ela pode ingerir, para que ela possa ser viável. Porém, deve haver um limite para a quantidade de proteína ingerida não afetar a viabilidade, pois tem sido observado que uma alta concentração de proteína pode reduzir a viabilidade em algumas espécies

de *Drosophila* (MAIR; PIPER; PARTRIDGE, 2005; SKORUPA et al., 2008). As viabilidades *D. maculifrons* frente às dietas HPS e EPS não foram diferentes, indicando que, quando o mínimo de proteína é fornecido na dieta, e/ou quando uma quantidade metabolizável de carboidratos é ingerida, parece não haver alteração na viabilidade. No caso de *D. ornatifrons*, a sua capacidade mais ampla de exploração de recursos descrita acima, poderia explicar o fato de uma de suas populações ter sido viável, mesmo que minimamente (mediana de 5%), em dieta rica em carboidrato e pobre em proteínas, evidenciando uma maior plasticidade na resposta.

Nossos resultados quanto a viabilidade, de uma forma geral, são semelhantes aos encontrados nos trabalhos de Matzkin et al. (2011) e Nazario-Yepiz; Laclette; Markow (2017). *Drosophila willistoni* apresentou padrão semelhante à *D. melanogaster*, e *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* foram semelhantes às espécies cactófilas *D. arizonae* e *D. mojavensis*, demonstrando que os resultados podem estar diretamente relacionados com os processos metabólicos subjacentes à adaptação a essas dietas. Isto, por um lado, ajuda a corroborar o generalismo de *D. willistoni*, como já mostrado por Valadão et al. (2019), e por outro, pode ser um indicativo de que *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* devem possuir ecologias similares às espécies cactófilas, não necessariamente na especificidade no uso de recursos, mas sim por serem mais acostumadas a recursos na natureza contendo menores concentrações de carboidratos e maiores concentrações de proteínas.

Com relação aos efeitos das dietas sobre os conteúdos metabólicos, para *D. willistoni*, apenas glicogênio respondeu ao aumento de carboidrato ingerido, sendo este metabólito encontrado em maiores níveis em indivíduos alimentados com LPS. Esse resultado é o comumente esperado já que o excedente de glicose ingerido derivado de carboidratos da dieta é rapidamente convertido em glicogênio, um polissacarídeo de reserva de energia de curto prazo, ou em triglicerídeos para necessidades futuras de energia (SALTIEL; KAHN, 2001; CHNG; HIETAKANGAS; LEMAITRE, 2017; MATTILA; HIETAKANGAS, 2017; YAMADA et al., 2018). O glicogênio é um polissacarídeo que atua como um tampão para manter os níveis do monossacarídeo glicose, que pode ser liberado rapidamente, o que é importante em atividade extrema e repentina (NELSON; COX, 2014). No entanto, o excesso desse polissacarídeo, por meio de uma maior ingestão de glicose, pode levar à obesidade e problemas relacionados (BAKER; THUMMEL, 2007; MUSSELMAN et al., 2011; NA et al., 2013). Nossos resultados corroboram estes fatos, uma vez que as moscas emergidas da dieta LPS (maior concentração de carboidratos) apresentaram maior peso seco. Tem sido demonstrado que maiores níveis de hiperglicemia, glicogênio e também triglicerídeo, os quais são relacionados à uma dieta rica em açúcar, resultam em obesidade, diabetes, disfunções cardíacas em *D. melanogaster* (BAKER; THUMMEL, 2007; FUKUCHI et al., 2004; MUSSELMAN et al., 2011;

NA et al., 2013). Para glicogênio, triglicerídeo e peso corporal em *D. melanogaster*, foi encontrado um grande número de alelos que variavam, tanto no nível da sequência de DNA, quanto no nível de expressão gênica, resultando em variação natural entre 40 linhagens selvagens desta espécie (JUMBO-LUCIONI et al., 2010). Não foi observada, no presente trabalho, uma relação significativa em *D. willistoni* do aumento de carboidrato/diminuição de proteína das dietas com aumento ou diminuição nos níveis de triglicerídeo e proteínas. Este resultado talvez tenha ocorrido porque o curto período de alimentação larval, e a utilização de indivíduos recém emergidos na quantificação dos conteúdos metabólicos, não foi suficiente para que a dieta possa ter influenciado os conteúdos desses metabólitos, o que possivelmente não ocorre com a posterior alimentação dos adultos após a emergência. Matzkin et al. (2009) observaram, em *D. willistoni*, que ocorre um aumento nos conteúdos de triglicerídeo e glicogênio, e diminuição no de proteínas totais, na comparação dos adultos recém emergidos (0 dias) e depois de 8 dias de alimentação em um meio padrão de *Drosophila* (banana-*Opuntia*).

Em *D. maculifrons*, não foi possível observar diferenças nos efeitos das dietas de HPS e EPS sobre os conteúdos metabólicos. Estes resultados podem ser devido ao número amostral pequeno, já que a viabilidade desta espécie nas duas dietas foi muito baixa. Proteínas e triglicerídeo apresentaram covariância e correlação positivas nesta espécie, indicando que podem variar proporcionalmente, apesar de ambos os compostos não estarem relacionados uma via metabólica direta. Matzkin et al. (2011) observaram uma redução geral de glicogênio e triglicerídeo como resposta a uma dieta pobre em carboidratos. Porém, nossos dados não demonstraram uma relação clara entre níveis altos ou baixos da relação carboidrato/proteína das dietas e as concentrações de todos os três metabólitos, triglicerídeo, glicogênio e proteína, principalmente em *D. maculifrons*. Em *D. melanogaster*, Reis (2016) mostraram que numa dieta rica em carboidratos as larvas apresentaram triglicerídeos elevados, desenvolveram-se mais lentamente em pupas menores e, como adultos, exibiram mudanças na mortalidade associada à idade. Por outro lado, nenhum desses efeitos foi observado quando foi utilizada uma quantidade quadruplicada de lipídios na dieta. Já em uma dieta rica em proteínas, as larvas não acumularam triglicerídeos extras e se desenvolveram mais rapidamente, sem alterações de tamanho, quando comparadas aos controles alimentados com uma dieta normal. Essas descobertas enfatizam a necessidade de dietas equilibradas para desenvolvimento, crescimento e longevidade ideais. Da mesma forma, dietas em humanos com menores quantidades de carboidratos têm demonstrado reduzir os níveis de triglicerídeo e glicogênio (ADAM-PERROT; CLIFTON; BROUNS, 2006). Algumas populações humanas responderam a aumentos repentinos de carboidratos



na dieta, desenvolvendo distúrbios metabólicos como obesidade e diabetes tipo 2 (SCHULZ et al., 2006).

Em *D. ornatifrons*, a variação de carboidratos e proteínas da dieta tiveram um efeito significativo nos níveis de triglicerídeo e proteínas totais, sendo que a dieta HPS foi a principal responsável por estas diferenças, resultando numa redução no conteúdo de triglicerídeo e aumento no de proteínas totais. De fato, dietas pobres em açúcares e ricas em proteína têm sido associadas à diminuição dos níveis de triglicerídeo (MATZKIN et al., 2011). Triglicerídeo é uma classe de lipídeos utilizada pela maioria dos animais como reserva de energia de longo prazo, e em *Drosophila*, desempenha nos estágios larval e adulto um importante reservatório essencial para sobreviver à desnutrição (GRÖNKE et al., 2003; 2007; GUTIERREZ et al., 2006 ; BI et al., 2012). No entanto, sua função metabólica não se limita ao armazenamento de energia, sendo que as porções de ácidos graxos armazenadas na forma de triglicerídeos também podem servir como blocos de construção para lipídios estruturais da membrana ou moléculas de sinalização (HEIER; KÜHNLEIN, 2018). Estas principais funções biológicas do triglicerídeo foram altamente conservadas durante a evolução e são semelhantes em *Drosophila* e outros metazoários. Isso torna moscas do gênero *Drosophila* um modelo cada vez mais popular para estudar a fisiologia geral do metabolismo de triglicerídeo (BAKER; THUMMEL, 2007; OWUSU-ANSAH; PERRIMON, 2014; MUSSELMAN; KÜHNLEIN, 2018; HEIER; KÜHNLEIN, 2018). Ainda em *Drosophila*, o acúmulo e o catabolismo dos estoques de triglicerídeo são essenciais para oogênese e embriogênese bem-sucedidas (BUSZCZAK et al., 2002; GRÖNKE et al., 2005). Os embriões são mantidos com estoques maternos de triglicerídeo, que são praticamente esgotados durante a embriogênese (CARVALHO et al., 2012; GUAN et al., 2013; TENNESSEN et al., 2014). Essa fase catabólica é seguida por um acúmulo maciço desse metabólito durante o crescimento larval, que cessa nos estágios pós-alimentação da metamorfose (CARVALHO et al., 2012; GUAN et al., 2013). O corpo gorduroso serve como um tecido dinâmico chave, que controla o armazenamento de energia e utilização para atender às demandas da mosca durante desenvolvimento. Este tecido pode absorver os ácidos graxos, proteínas ou carboidratos da dieta e convertê-los em triglicerídeos, cujos produtos degradados através da lipólise são transportados para vários tecidos para apoiar o crescimento e a sobrevivência, em resposta às demandas de energia (LAW; WELLS, 1989; ARRESE; SOULAGES, 2010).

Correlações e covariâncias negativas entre componentes do valor adaptativo (denominadas de *trade-off*) correspondem ao tipo mais conhecido de correlação entre caracteres de história de vida (STEARNS, 1989; 1992; ROFF, 1992; 2007; PRASAD; JOSHI, 2003; HUGHES; LEIPS, 2017). Estes componentes são comumente integrados por meio de vários mecanismos de desenvolvimento,

fisiológicos e genéticos, por desequilíbrio de ligação ou pleiotropia, resultando em covariâncias e correlações positivas ou negativas entre caracteres de história de vida (STEARNS, 1989; 1992; ZERA; HARSHMAN, 2001; PRASAD; JOSHI, 2003; FLATT; TU; TATAR, 2005; ROFF, 2007; ROFF; FAIRBAIRN 2007; FLATT; HEYLAND, 2011; FLATT et al., 2013; HUGHES; LEIPS, 2017; FLATT, 2020). As correlações genéticas entre os componentes do valor adaptativo medem o grau em que duas características da história de vida são afetadas por um ou vários *loci*, como resultado da pleiotropia e/ou do desequilíbrio de ligação entre alelos que afetam a característica (STEARNS, 1992; CONNER; HARTL, 2004; ROFF, 2007; HUGHES; LEIPS, 2017). Alguns possíveis *trade-offs* foram detectados no presente trabalho, como por exemplo, o tempo de desenvolvimento com a viabilidade em *D. willistoni*, o tempo de desenvolvimento com os conteúdos de glicogênio e triglicerídeo em *D. maculifrons*, e o tempo de desenvolvimento com a viabilidade e com o conteúdo de glicogênio em *D. ornatifrons*. Em insetos, o tempo de desenvolvimento tem demonstrado uma variação inversamente proporcional com os níveis de glicogênio e triglicerídeo armazenados no corpo gorduroso, uma vez que tanto o glicogênio como triglicerídeo têm importância como reservas de energia durante o processo de metamorfose (CHURCH; ROBERTSON, 1966; MIRTH; RIDDIFORD, 2007; ARRESE; SOULAGES, 2010; HEIER; KÜHNLEIN, 2018). Assim, os indivíduos com maiores reservas desses dois metabólitos tendem a reduzir o tempo de desenvolvimento.

Correlações entre o conteúdo de glicogênio e triglicerídeo foram observadas em *D. melanogaster* (MATZKIN et al., 2011; DJAWDAN et al., 1998). Segundo Djawdan et al. (1998), a forte correlação entre os conteúdos deste metabólitos demonstrou que as moscas responderam à seleção para resistência à fome através de um aumento geneticamente determinado no armazenamento de lipídios e carboidratos, o que pressupõem a existência de herdabilidade desses caracteres para responder à seleção. Por outro lado, Matzkin et al. (2009) observaram falta de correlação entre glicogênio e triglicerídeos para 12 espécies filogeneticamente distantes de *Drosophila*. Embora esses conjuntos metabólicos possam estar sob controle semelhante, esse controle é evolutivamente plástico, permitindo que as perturbações e seus respectivos controles correspondam às necessidades nutricionais e/metabólicas de uma espécie.

Em *D. ornatifrons*, glicogênio foi correlacionado positivamente com a VLA, o que é esperado, visto que maiores quantidades desse metabólito implicam em energia o suficiente para concluir o processo de metamorfose e eclodir na forma adulta (GÁLIKOVÁ et al., 2015; MATSUDA et al., 2015; YAMADA et al., 2019). Ainda, fêmeas apresentaram mais glicogênio que os machos nas dietas, o que pode estar relacionado à questões reprodutivas. Por exemplo, para as fêmeas, durante as

fases posteriores da oogênese, grandes quantidades de carboidratos são absorvidas pelos oócitos ovarianos e armazenadas principalmente como glicogênio (GUTZEIT et al., 1994; MATZKIN et al., 2011). Por exemplo, fêmeas de *Drosophila* expostas à dieta rica em proteína apresentam maior fecundidade (ZAJITSCHKEK et al., 2016).

Um aspecto importante, que foi evidenciado pelos nossos resultados, é a presença de diferenças populacionais, em algum grau, quanto a alguns caracteres avaliados. Diferenças interpopulacionais para viabilidade e tempo de desenvolvimento foram observadas para as três espécies analisadas. Estas foram mais evidentes para *D. ornatifrons*, enquanto que para *D. willistoni* e *D. maculifrons* elas foram detectadas somente nas análises bivariadas. A população de Cajuru/SP foi a maior responsável pelas diferenças em *D. ornatifrons*, apresentando um possível *trade-off* entre viabilidade e tempo de desenvolvimento, de acordo com a variação da concentração de carboidratos e diminuição de proteínas nas dietas. Um padrão semelhante foi observado para esta população da espécie *D. maculifrons*, porém num menor grau de variação. Diferenças populacionais também foram encontradas para os conteúdos de proteínas totais das três espécies analisadas, além de diferenças quanto ao conteúdo de triglicerídeo em *D. maculifrons* e de glicogênio em *D. ornatifrons*. Alterações no conteúdo de proteínas solúveis podem refletir em alterações na massa corporal geral e também em compostos proteicos tais como hormônios e enzimas presentes no corpo do organismo (NELSON; COX, 2014), o que está de acordo com os resultados obtidos para os pesos secos.

Estas diferenças populacionais em resposta às dietas, encontradas principalmente para as espécies *D. maculifrons* e *D. ornatifrons*, podem estar relacionadas à presença de variabilidade genética populacional para as rotas metabólicas envolvidas, e/ou por ocorrência de adaptação diferencial aos ambientes de cada população, e/ou ainda por interação genótipo/ambiente. Já foi demonstrado em *D. melanogaster* que características quantitativas, tais como expectativa de vida e fecundidade, possuem variação genética substancial e herdável, com interação entre o genótipo e ambiente na resposta à diferentes dietas, evoluindo rapidamente em resposta às pressões seletivas (NG'OMA et al., 2018). As populações brasileiras de *D. maculifrons*, apesar de estarem estruturadas, apresentam uma diversidade genética menor (CENZI DE RÉ et al., 2014; SILVA; MACHADO; MATEUS, 2015) que a observada para *D. ornatifrons* (GUSTANI et al., 2015). Isso pode ter implicações diretas em como populações destas espécies podem responder à diferentes recursos alimentares. Embora as populações de *D. maculifrons* tenham apresentado respostas diferentes às dietas em algumas das características aqui analisadas, nenhuma das populações desta espécie aqui testadas, coletadas de populações ambientadas em condições climáticas distintas, (uma da Floresta Ombrófila Mista, PMA, e outra da Floresta Estacional Semidecidual, Caj) conseguiu metabolizar a

dieta com níveis altos de açúcares (LPS), fato que foi observado para *D. ornatifrons*. Ainda, é possível que o ambiente das populações de Cajuru/SP possa ter influenciado a capacidade de resposta das duas espécies, já que padrões semelhantes nas resposta à dietas foram observados para as mesmas. Sabe-se que existem diferenças nos ambientes abióticos que essas espécies ocorrem, podendo ser um fator importante na explicação dos resultados obtidos. Por exemplo, os habitats de *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* incluem ambientes de mata e florestas, que são locais com umidade relativamente alta e temperaturas amenas. Já *D. willistoni*, apesar de ser encontrada em ambientes não antropizados, também habita cidades e áreas de mata aberta, locais que passam por uma maior variação de temperatura e umidade, por exemplo (da CUNHA; DOBSZHANSKY, 1954; da CUNHA et al., 1959; DOBZHANSKY; POWELL, 1975; GOTTSCHALK et al., 2007; SANTOS; VALENTE, 1990; VALENTE; RUSZCZYK; dos SANTOS, 1993).

Assim, podemos concluir que variações nas concentrações de macronutrientes, presentes nas dietas das espécies neotropicais analisadas no presente trabalho, exerceram pressões diferenciais sobre as diversas características avaliadas, demonstrando que a história evolutiva e adaptações diferenciais aos ambientes são importantes para definir a amplitude de resposta que as espécies podem apresentar.

## 2.5 Referências Bibliográficas

- ADAM-PERROT, A., CLIFTON, P., BROUNS, F. (2006). Low-carbohydrate diet: nutritional and physiological aspects. *Obes Rev.* **7**: 49–58.
- ANDERSEN, L.H., KRISTENSEN, T.N., LOESCHCKE, V., TOFT, S. MAYNTZ, D. (2010). Protein and carbohydrate composition of larval food affects tolerance to thermal stress and desiccation in adult *Drosophila melanogaster*. *Insect Physiol.* **56**: 336-40. doi10.1016 / j.jinsphys.2009.11.006
- ARRESE, E.L., SOULAGES, J. L. (2010). Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual review of entomology*, **55**: 207–225.
- AYALA, F.J., POWELL, J.R. (1972). Enzyme variability in the *Drosophila willistoni* group. VI. Levels of polymorphism and the physiological function of enzymes. *Biochem Genet.* **7**: 331–345.
- BÄCHLI, G., 2020. Taxodros, the database on taxonomy of Drosophilidae. Disponível em: <http://www.taxodros.uzh.ch>. Acessado em: 16 fev. 2020.
- BAKER, K.D., THUMMEL, C.S., (2007). Diabetic larvae and obese flies emerging studies of metabolism in *Drosophila*. *Cell Metab.* **6**: 257–266.
- BAKKER, K. (1961). An analysis of factors which determine the success in competition for food among larvae of *Drosophila melanogaster*. *Archives Neerlandaises de Zoologie* **14**: 200-281.

- BEGON, M. (1982). Yeasts and *Drosophila*. In: ASHBURNER, M., CARSON, H., THOMPSON, J.N. (Eds.), **Genetics and biology of *Drosophila***. New York: Academic Press, p.345–384.
- BI, J., XIANG, Y., CHEN, H., LIU, Z., GRÖNKE, S., KÜHNLEIN, R.P., HUANG, X. (2012). Opposite and redundant roles of the two *Drosophila perilipins* in lipid mobilization. *J. Cell Sci.* **125**: 3568–3577.
- BRAKE, I., BÄCHLI, G. (2008). *Drosophilidae* (Diptera). World catalogue of insects. v. 9. Apollo Books, Stenstrup, 412 pp.
- BURLA, H., CUNHA, A.B. DA, CORDEIRO, A.R., DOBZHANSKY, T., MALOGOLOWKIN, C., PAVAN, C. (1949). The *willistoni* group of sibling species of *Drosophila*. *Evolution* **3**: 300–314.
- BUSZCZAK, M., LU, X., SEGRAVES, W.A., CHANG, T.Y., COOLEY, L. (2002). Mutations in the midway gene disrupt a *Drosophila* acyl coenzyme A: diacylglycerol acyltransferase. *Genetics* **160**: 1511–1518.
- CARSON, H.L. (1965). Chromosomal morphism in geographically widespread species of *Drosophila*. In: BAKER, H.G., STEBBINS, G.L. (Eds.), **The Genetics of Colonizing Species: Proceedings of the First International Union of Biological Sciences Symposia on General Biology**. New York: Academic Press, p. 503–531.
- CARSON, H.L. (1971). The ecology of *Drosophila* breeding sites. Harold L. Lyon Arboretum. Lecture, Uni. Hawaii, **2**: 1-28.
- CARVALHO, M., SAMPAIO, J. L., PALM, W., BRANKATSCHK, M., EATON, S., & SHEVCHENKO, A. (2012). Effects of diet and development on the *Drosophila* lipidome. *Mol. Syst. Biol.* **8**: 600–617. doi:10.1038/msb.2012.29
- CAVASINI, R., BUSCHINI, M.L.T., MACHADO, L.P.B., MATEUS, R.P. (2014). Comparison of *Drosophilidae* (Diptera) assemblages from two highland Araucaria Forest fragments, with and without environmental conservation policies. *Braz. J. Biol.*, **74**: 761-768.
- CENZI DE RÉ, F.C., GUSTANI, E.C., OLIVEIRA, A.P.F., MACHADO, LP.B., MATEUS, R.P., LORETO, E.L.S., ROBE, L.J. (2014). Brazilian populations of *Drosophila maculifrons* (Diptera, *Drosophilidae*): low diversity levels and signals of a population expansion after the Last Glacial Maximum. *Biol. J. Linn. Soc.* **112**: 55-66.
- CHAPMAN, T., PARTRIDGE, L. (1996). Female fitness in *Drosophila melanogaster*: An interaction between the effect of nutrition and of encounter rate with males. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **263**: 755-759.
- CHATHAM, J.C., SEYMOUR, A-M.L. (2002). Cardiac carbohydrate metabolism in Zucker diabetic fatty rats. *Cardiovasc Res.* **55**: 104–112.
- CHIPPINDALE, A., CHU, T.J.F., ROSE, M.R. (1996). Complex trade-offs and the evolution of starvation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, **50**: 753-766.
- CHNG, W.A., HIETAKANGAS, V., LEMAITRE, B. (2017). Physiological adaptations to sugar Intake: new paradigms from *Drosophila melanogaster*. *Trends Endocrinol. Metab.* **28**: 131-142.

- CHURCH, R.B.; ROBERTSON, F.W. (1966). A biochemical study of the growth of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Zoology* **162**: 337-351.
- CONNER, J.K., HARTL, D.L., (2004). A Primer of Ecological Genetics. Sunderland: Sinauer Associates.
- COOPER, T.M., et al. (2004). Effect of caloric restriction on life span of the housefly, *Musca domestica*. *FASEB J.* **18**: 591–1593.
- CORE TEAM, R. (2019). R: A language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing.
- da CUNHA, A.B., DOBSZANSKI, T. (1954). A further study of chromosomal polymorphism of *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. *Evolution* **8**: 119-134.
- da CUNHA, A.B., DOBZHANSKY, T., PAVLOVSKY, O., SPASSKY, B. (1959). Genetics of natural populations. XXVII. Supplementary data on the chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. *Evolution* **13**: 389-404.
- DEARING, M.D., FOLEY, W.J., MCLEAN, S. (2005). The influence of plant secondary metabolites on the nutritional ecology of herbivorous terrestrial vertebrates. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **36**: 169–189.
- DJAWDAN, M., CHIPINDALE, A.K., ROSE, M.R., BRADLEY, T.J. (1998). Metabolic reserves and evolved stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Physiological Zoology* **71**: 584–594.
- DOBZHANSKY, T., POWELL, J.R. (1975). The willistoni group of sibling species of *Drosophila*. In: King, R. C. (ed). *Handbook of Genetics*, **Plenum Publishing Corporation**, New York, v. 3, p. 589-622.
- DÖGE, J.S., VALENTE, V.L.S., HOFMANN, P.R.P. (2008). Drosophilids (Diptera) from an Atlantic Forest Area in Santa Catarina, Southern Brazil. *Rev Bras Entomol.* **52**: 615–624.
- dos SANTOS, K.; MACHADO, L.P.B.; MATEUS, R.P. (2010). Sampling two species of the *Drosophila guarani* group in a fragment of Araucaria Forest: testing different types of baits, fermentation time, and period of the day. *Dros. Inf. Serv.* **93**: 185- 188.
- EHRMAN, L., POWELL, J.R. (1982). The *Drosophila willistoni* species group. In: ASHBURNER, M.; H. L. CARSON; J. N. THOMPSON, JR. **The Genetics and Biology of Drosophila**. 3. ed. New York: Academic Press, p. 193–225.
- FLATT, T. (2020). Life-History and the Genetics of Fitness Components in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **214**: 3-48.
- FLATT, T., HEYLAND, A. (2011). Mechanisms of Life History Evolution. The Genetics and Physiology of Life History Traits and Trade-Offs. Oxford University Press, Oxford, UK.
- FLATT, T. TU, M.P., TATAR, M. (2005). Hormonal pleiotropy and the juvenile hormone regulation of *Drosophila* development and life history. *Bioessays*. **27**: 999-1010.
- FLATT, T., AMDAM, G.V., KIRKWOOD, T.B., OMHOLT, S.W. (2013). Life-history evolution and the polyphenic regulation of somatic maintenance and survival. *Q Rev Biol.* **88**:185-218.

- FREIRE-MAIA, N., PAVAN, C. (1949). Introdução ao estudo da *Drosófila*. *Cultus* **1**: 3–66.
- FUKUCHI, S., HAMAGUCHI, K., SEIKE, M., HIMENO, K., SAKATA, T., YOSHIMATSU, H. (2004). Role of fatty acid composition in the development of metabolic disorders in sucrose-induced obese rats. *Exp. Biol. Med.* **229**: 486–493.
- GÁLIKOVÁ, M., DIESNER, M., KLEPSATEL, P., HEHLERT, P., XU, Y., BICKMEYER, I., PREDEL, R., KÜHNLEIN, R. P. (2015). Energy homeostasis control in *Drosophila* adipokinetic hormone mutants. *Genetics* **201**: 665–683.
- GOÑI, B., REMEDIOS, M., GONZÁLEZ-VAINER, P., MARTÍNEZ, M., VILELA, C.R. (2012). Species of *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) attracted to dung and carrion baited pitfall traps in the Uruguayan Eastern Serranías. *Zoologia*, **29**: 308–317.
- GOTTSCHALK, M.S., DE TONI, D.C., VALENTE, V.L.S., HOFMANN, P.R.P. (2007). Changes in Brazilian Drosophilidae (Diptera) assemblages across an urbanisation gradient. *Neotr. Ent.* **36**: 848–862.
- GRÖNKE, S., BELLER, M., FELLERT, S., RAMAKRISHNAN, H., JÄCKLE, H., KÜHNLEIN, R.P. (2003). Control of fat storage by a *Drosophila* PAT domain protein. *Curr. Biol.* **13**: 603–606.
- GRÖNKE, S., MILDNER, A., FELLERT, S., TENNAGELS, N., PETRY S., GÜNTER, M., JÄCKLE, H., KÜHNLEIN, R.P. (2005). Brummer lipase is an evolutionary conserved fat storage regulator in *Drosophila*. *Cell Metab.* **1**: 323–330.
- GRÖNKE, S., MÜLLER, G., HIRSCH, J., FELLERT, S., ANDREOU, A., HAASE, T., JÄCKLE, H., KÜHNLEIN, R.P. (2007). Dual lipolytic control of body fat storage and mobilization in *Drosophila*. *PLoS Biol.* **5**: e137.
- GUAN, X.L., CESTRA, G., SHUI, G., KUHS, A., SCHITTENHELM, R.B., HAFEN, E., VAN DER GOOT, F.G., ROBINETT, C.C., GATTI, M., GONZALEZ-GAITAN, M., WENK, M.R. (2013). Biochemical membrane lipidomics during *Drosophila* development. *Dev. Cell.* **24**: 98–111.
- GUSTANI, E.C., OLIVEIRA, A.P.F., SANTOS, M.H., MACHADO, L.P.B., MATEUS, R.P. (2015). Demographic Structure and Evolutionary History of *Drosophila ornatifrons* Diptera, Drosophilidae) from Atlantic Forest of Southern Brazil. *Zool. Sc.* **32**: 141–150.
- GUTIERREZ, E., WIGGINS, D., FIELDING, B., GOULD, A. P. (2006). Specialized hepatocyte-like cells regulate *Drosophila* lipid metabolism. *Nature* **445**: 275–280.
- GUTZEIT, H.O., ZISSLER, D., GRAU, V., LIPHARDT, M., HEINRICH, U.R. (1994). Glycogen stores in mature ovarian follicles and young embryos of *Drosophila*: ultrastructural changes and some biochemical correlates. *Eur J Cell Biol.* **63**: 52–60.
- HADFIELD, J.D. (2010). MCMC methods for multi-response Generalised Linear Mixed Models: the MCM Cglmm R package. *Journal of statistical software* **33**: 1–22.
- HAMBY, R.I., ZONERICH, S., SHERMAN, L. (1974). Diabetic Cardiomyopathy. *JAMA* **229**: 1749–1754.
- HEIER, C., KÜHNLEIN, R.P. (2018). Triacylglycerol Metabolism in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **210**: 1163–1184.

- HOCHMÜLLER, C.J.C., LOPES-DA-SILVA, M., VALENTE, V.L.S., SCHMITZ, H.J. (2010). The *Drosophilid* fauna of the transition between the Pampa and Atlantic Forest biomes in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil: first records. *Papéis Avulsos de Zoologia* **50**: 285-295.
- HOFFMANN, A.A, HARSHMAN, L.G. (1999). Desiccation and starvation resistance in *Drosophila*: patterns of variation at the species, population and intrapopulation levels. *Heredity* **83**: 637-43.
- HOFFMANN, A.A., PARSONS, P.A. (1991). **Evolutionary Genetics and Environmental Stress**. Oxford: University Press, 284 p.
- HUGHES, K.A., LEIPS, J. (2017). Pleiotropy, constraint, and modularity in the evolution of life histories: insights from genomic analyses. *Ann N Y Acad Sci.* **1389**: 76-91.
- HUSS, J. M., KELLY, D.P. (2005). Mitochondrial energy metabolism in heart failure: a question of balance. *The Journal of Clinical Investigation* **115**: 547–555.
- JENSEN, K., MCCLURE, C., PRIEST, N.K., HUNT, J. (2015). Sex-specific effects of protein and carbohydrate intake on reproduction but not lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Aging cell*, **14**: 605–615.
- JUMBO-LUCIONI, P., AYROLES, J.F., CHAMBERS, M.M., JORDAN, K.W., LEIPS, J., MACKAY, T.F.C., DE LUCA, M. (2010). Systems genetics analysis of body weight and energy metabolism traits in *Drosophila melanogaster*. *BMC Genomics* **11**: 297.
- KOHYAMA-KOGANEYA, A., KIM, Y.J., MIURA, M., HIRABAYASHI, Y. (2008). A *Drosophila* orphan G protein-coupled receptor BOSS functions as a glucose-responding receptor: loss of boss causes abnormal energy metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**: 15328–33.
- KRIJGER, C.L., PETERS, Y.C., SEVENSTER, J.G. (2001). Competitive ability of neotropical *Drosophila* predicted from larval development times. *Oikos* **92**: 325-332.
- LAW, J.H., WELLS, M.A. (1989). Insects as biochemical models. *J. Biol. Chem.* **264**: 16335–38.
- LEE, K. P., SIMPSON, S.J., CLISSOLD, F.J., BROOKS, R., BALLARD, J.W.O., TAYLOR, P.W., SORAN, N., RAUBENHEIMER, D. (2008). Lifespan and reproduction in *Drosophila*: new insights from nutritional geometry. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**: 2498–503.
- LEVOT, G.W., BROWN, K.R., SHIPP, E. (1979). Larval growth of some calliphorid and sarcophagid Diptera. *Bulletin of Entomological Research* **69**: 469-475.
- MACHADO, L.P.B., SILVA, D.C., SIMÃO, D.P., MATEUS, R.P. (2012). Spatial variation of genetic diversity in *Drosophila* species from two different South America environments. In “Genetic Variation in Animals” Ed by M Caliskan, Intech, Rijeka, pp 45–62.
- MAIR, W., PIPER, M.D.W., PARTRIDGE, L. (2005). Calories do not explain extension of life span by Dietary restriction in *Drosophila*. *PLoS Biol.* **3**: 1305-1311.
- MALIK, V.S., POPKIN, B.M., BRAY, G.A., DESPRÉS, J.P., HU, F.B. (2010) Sugar-Sweetened Beverages, Obesity, Type 2 Diabetes Mellitus, and Cardiovascular Disease Risk. *Circulation* **121**: 1356–1364.



- MARKOW, T.A., O'GRADY, P.M. (2007). *Drosophila* biology in the genomic age. *Genetics* **177**: 1269–1276.
- MATEUS, R.P., BUSCHINI, M.L.T., SENE, F.M. (2006). The *Drosophila* community in xerophytic vegetations of the upper Parana-Paraguay river basin. *Braz. J. Biol.* **66**: 719-729.
- MATEUS, R.P., MACHADO, L.P.B., SIMÃO-SILVA, D.P. (2018). *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) survey in an - island of xerophytic vegetation within the Atlantic Forest biome, with emphasis on the repleta species group. *St Neotrop Fauna Environ* **53**: 1-10.
- MATSUDA, H., YAMADA, T., YOSHIDA, M., NISHIMURA, T. (2015). Flies without trehalose. *J. Biol. Chem.* **290**: 1244-1255.
- MATTILA, J., HIETAKAN, V. (2017). Regulation of Carbohydrate Energy Metabolism in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **207**: 1231-1253;
- MATZKIN, L.M., MUTSAKA, K., JOHNSON, S., MARKOW, T.A. (2009). Metabolic pools differ among ecologically diverse *Drosophila* species. *J Insect Physiol*, **55**: 1145–50.
- MATZKIN, L.M., JOHNSON, S., PAIGHT, C., BOZINOVIC, G., MARKOW, T.A. (2011). Dietary Protein and Sugar Differentially Affect Development and Metabolic Pools in Ecologically Diverse *Drosophila*. *J. Nutr.* **141**: 1127-1133.
- MATZKIN, L.M., JOHNSON, S., PAIGHT, C., MARKOW, T.A. (2013). Preadult Parental Diet Affects Offspring Development and Metabolism in *Drosophila melanogaster*. *PLoS ONE* **8**: e59530.
- MEDEIROS, H.F., KLACZKO, L.B. (2004). How many species of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) remain to be described in the forests of São Paulo, Brazil? Species lists of three forest remnants. *Biota Neotropica* **4**: 1–12.
- MELO, D., GARCIA, G., HUBBE, A., ASSIS, A.P., MARROIG, G. (2016). EvolQG - An R package for evolutionary quantitative genetics. *F1000Research* **4**: 1-12.
- MIRTH, C.K., RIDDIFORD, L.M. (2007). Size assessment and growth control: how adult size is determined in insects. *Bio Essays* **29**: 344–55.
- MUSSELMAN, L.P., KÜHNLEIN, R.P. (2018). *Drosophila* as a model to study obesity and metabolic disease. *J. Exp. Biol.* **221**: jeb163881.
- MUSSELMAN, L.P., FINK, J.L., NARZINSKI, K., RAMACHANDRAN, P.V., HATHIRAMANI, S.S., CAGAN, R.L., BARANSKI, T.J. (2011). A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type *Drosophila*. *Dis Model Mech.* **4**: 842–849.
- NA, J., MUSSELMAN, L.P., PENDSE, J., BARANSKI, T.J., BODMER, R., OCORR, K., CAGAN, R. (2013). A *Drosophila* Model of High Sugar diet-Induced Cardiomyopathy. *PLoS Genet.* **9**: e1003175.
- NAZARIO-YEPIZ, N.O, LACLETTE, M.R.L., MARKOW, T.A. (2017). *Drosophila* Species as Models for Nutritional Studies: Development, Metabolic Pools on Diet with Contrasting Relative Sugar: Protein Ratios. *Journal of Nutritional Biology* **1**: 101-107.

- NELSON, D.L.; COX, M.M. (2014). **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed.
- NG'OMA, E., FIDELIS, W., MIDDLETON, K.M., KING, E.G. (2018). The evolutionary potential of diet-dependent effects on lifespan and fecundity in a multi-parental population of *Drosophila melanogaster*. *Heredity* **122**: 582 – 594.
- OWUSU-ANSAH, E., PERRIMON, N., 2014. Modeling metabolic homeostasis and nutrient sensing in *Drosophila*: implications for aging and metabolic diseases. *Dis. Model. Mech.* **7**: 343–350
- PENARIOL, L.V., MADI-RAVAZZI, L. 2013. Edge-interior differences in the species richness and abundance of drosophilids in a semideciduous forest fragment. *SpringerPlus* **2**: 114.
- PEREIRA, M.A.Q.R., VILELA, C.R., SENE, F.M. (1983). Notes on breeding and feeding sites of some species of the *repleta* group of the Genus *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae). *Ciênc. Cult. São Paulo*, **35**: 1313-1319.
- POÇAS, G.M., CROSBIE, A.E., MIRTH, C.K. (2020). When does diet matter? The roles of larval and adult nutrition in regulating adult size traits in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, *In Press*, Disponível desde 27/03/2020. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2020.104051>.
- PRASAD, N.G., JOSHI, A. (2003). What have two decades of laboratory life-history evolution studies on *Drosophila melanogaster* taught us? *Journal of Genetics* **82**: 45-76.
- REIS, T. (2016). Effects of Synthetic Diet Enriched in Specific Nutrients on *Drosophila* Development, Body Fat, and Lifespan. *PLoS ONE* **11**: e0146758.
- ROBE, L.J., VALENTE, V.L.S., LORETO, E.L.S. (2010). Phylogenetic relationships and macro-evolutionary patterns within the *Drosophila tripunctata* “radiation” (Diptera: Drosophilidae). *Genetica* **138**: 725-735.
- RODRIGUES, B., CAM, M.C., MCNEILL, J.H. 1998. Metabolic disturbances in diabetic cardiomyopathy. *Molecular and Cellular Biochemistry* **180**: 53–57.
- ROFF, D.A., (1992). *The Evolution of Life Histories - Theory and Analysis*. Chapman and Hall, New York.
- ROFF, D.A. (2007). Contributions of genomics to life-history theory. *Nat Rev Genet.* **8**: 116-125.
- ROFF, D.A., FAIRBAIRN, D.J. (2007). The evolution of trade-offs: where are we? *J Evol Biol.* **20**: 433-47.
- ROHDE, C., VALENTE, V.L.S. (2012). Three decades of studies on chromosomal polymorphism of *Drosophila willistoni* and description of fifty different rearrangements. *Genet. Mol. Biol.* **35**: 966–979.
- RUSSO, C.A.M., MELLO, B., FRAZÃO, A., VOLOCH, C.M. (2013). Phylogenetic analysis and a time tree for a large drosophilid data set (Diptera: Drosophilidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* **169**: 765-775.

- SALTIEL, A.R. KAHN, C.R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* **414**: 799-806.
- SALZANO, F. M. (1955). Chromosomal polymorphism in two species of the *guarani* group of *Drosophila*. *Chromosoma* **7**: 39-50.
- SANTOS, R.A., VALENTE, V.L.S. (1990). On the occurrence of *Drosophila paulistorum* Dobzhansky e Pavan (Diptera, Drosophilidae) in an urban environment: Ecological and cytological observations. *Evol. Biológica*. **4**: 253-268.
- SCHULZ, L. O., BENNETT, P.H., RAVUSSIN, E., KIDD, J.R., KIDD, K.K., ESPARZA, J., VALENCIA, M.E. (2006). Effects of traditional and western environments on prevalence of type 2 diabetes in Pima indians in Mexico and the U.S. *Diabetes Care*. **29**: 1866–71.
- SILVA, D.C., MACHADO, L.P.B., MATEUS, R.P. (2015). Migration rate and genetic diversity of two *Drosophila maculifrons* (Duda, 1927) populations from Highland Araucaria Forest Fragments in Southern Brazil. *Braz. J. Biol.* **75**: 254-255.
- SISODIA, S., SINGH, B.N. (2012). Experimental Evidence for Nutrition Regulated Stress Resistance in *Drosophila ananassae*. *PLoS ONE* **7**: e46131.
- SKORUPA, D.A., DERVISEFENDIC, A., ZWIENER, J., PLETCHER, S.D. (2008). Dietary composition specifies consumption, obesity, and lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Aging Cell*. **7**: 478–490,
- SPERLICH, D., PFRIEM, P. (1986). Chromosomal polymorphism in natural and experimental populations. In Ashburner, M., Carson, H.L., Thompson, N. **The Genetics and Biology of *Drosophila***. 3 ed. New York: Academic Press, p. 257–309.
- STANLEY, W.C., CHANDLER, M.P. (2002). Energy Metabolism in the Normal and Failing Heart: Potential for Therapeutic Interventions. *Heart Failure Reviews* **7**: 115–130.
- STEARNS, S.C. (1989). Trade-offs in life-history evolution. *Funct. Ecol.* **3**: 259–268.
- STEARNS, S.C. (1992). *The Evolution of Life Histories*. Oxford: Oxford University Press.
- TENNESSEN, J.M., BERTAGNOLLI, N.M., EVANS, J., SIEBER, M.H., COX, J., THUMMEL, C.S. (2014). Coordinated metabolic transitions during *Drosophila* embryogenesis and the onset of aerobic glycolysis. *G3 (Bethesda)* **4**: 839–850.
- TIDON, R. (2006). Relationships between drosophilids (Diptera, Drosophilidae) and the environment in two contrasting tropical vegetations. *Biol J Linn Soc Lond*, **87**: 233–247.
- TRAVA, B.M. **Morfometria da asa e do edeago de duas espécies de *Drosophila* Endêmicas da América do Sul**. (2014). Dissertação (Mestrado em Biologia Evolutiva) – UEPG/UNICENTRO, Guarapuava/PR, 2014.
- ULLYETT, G.C. (1950). Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **234**: 77-174.

- VAL, F.C., VILELA, M.D., MARQUES, C.R. (1981). Drosophilidae of the Neotropical Region. In Ashburner, M., Carson, H.L., Thompson, N. **The Genetics and Biology of *Drosophila***. 3 ed. New York: Academic Press, p. 123–168.
- VALADÃO, H., PROENÇA, C.E.B., KUHLMANN, M.P., HARRIS, S.A., TIDON, R. (2019). Fruit-breeding drosophilids (Diptera) in the Neotropics: playing the field and specialising in generalism? *Ecological Entomology* **44**: 721-737.
- VALENTE, V.L.S.; ARAÚJO, A.M. (1986). Chromosomal polymorphism, climatic factors and variation in population size of *Drosophila willistoni* in Southern Brazil. *Heredity* **57**: 149-160.
- VALENTE, V.L.S., RUSZCZYK, A., dos SANTOS, R.A. (1993). Chromosomal polymorphism in urban *Drosophila willistoni*. *Rev. Bras. Genet.* **16**: 307-319.
- VALTONEN, T.M., KANGASSALO, K., PÖLKKI, M., RANTALA, M.J. (2012). Transgenerational effects of parental larval diet on offspring development time, adult body size and pathogen resistance in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One* **7**:e31611.
- VAN DER LINDE, K., HOULE, D., SPICER, G.S., STEPPAN, S.J. (2010). A supermatrix-based molecular phylogeny of the family Drosophilidae. *Genet. Res., Camb.* **92**: 25–38.
- WISNESKI, J.A., GERTZ, E.W., NEESE, R.A., MAYR, M. (1987). Myocardial metabolism of free fatty acids. Studies with <sup>14</sup>C-labeled substrates in humans. *The Journal of Clinical Investigation* **79**: 359–366.
- YAMADA, T., HABARA, O., KUBO, H., NISHIMURA, T. (2018). Fat body glycogen serves as a metabolic safeguard for the maintenance of sugar levels in *Drosophila*. *Development* **145**: dev158865.
- YAMADA, T., OKIKO, H., YUKA, Y., MATSUSHITA, R., KUBO, H., et al. (2019). The role of glycogen in development and adult fitness in *Drosophila*. *Development* **146**: dev176149.
- ZAJITSCHKEK, F., ZAJITSCHKEK, S.R.K., CANTON, C., GEORGOLOPOULOS, G., FRIBERG, U., MAKLAKOV, A.A. (2016). Evolution under dietary restriction increases male reproductive performance without survival cost. *Proc R Soc B* **283**: 20152726.
- ZAJITSCHKEK, F., ZAJITSCHKEK, S., MANIER, M. (2017). High-protein paternal diet confers an advantage to sons in sperm competition. *Biol Lett.* **13**: 1-5
- ZERA, A.J., HARSHMAN, L.G. (2001). The physiology of life history trade-offs in animals. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **32**: 95–126.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise populacional dos caracteres de história de vida e metabólicos das espécies *D. willistoni*, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* desenvolvidas em meio padrão, revelou variação para a maioria dos parâmetros avaliados, a exceção foi viabilidade em *D. maculifrons* e *D. willistoni*, e tempo de desenvolvimento em *D. willistoni*. Para peso seco e metabólitos, *D. maculifrons* e *D. ornatifrons* apresentaram o mesmo perfil de variação populacional e as únicas diferenças interespecíficas ocorreram para peso seco e triglicerídeo; em *D. willistoni* o padrão populacional foi oposto (com exceção para triglicerídeo) e significativamente diferente (exceção para glicogênio) das outras duas. Estes resultados refletem vias adaptativas distintas sujeitas às condições ambientais para espécies com diferentes capacidades de exploração de habitats.

Na análise utilizando dietas com variação nas concentrações de carboidratos e proteínas, *Drosophila willistoni* foi viável nas três dietas testadas, indicando uma capacidade de desenvolvimento semelhante independente da qualidade nutricional, característica comum em espécies generalistas. Por outro lado, *D. maculifrons* foi inviável, e *D. ornatifrons* foi praticamente inviável, em dieta que possui concentração maior de carboidrato e menor de proteína (LPS), o que sugere uma adaptação maior para a utilização de recurso mais proteicos na natureza. O tempo de desenvolvimento de *D. willistoni* aumentou na dieta LPS, não variou em *D. maculifrons*, e *D. ornatifrons* teve aumento no tempo de desenvolvimento quanto maior foi a concentração de carboidrato na dieta. Em *D. willistoni*, apenas glicogênio respondeu ao aumento de carboidrato na dieta, em *D. maculifrons* o conteúdo dos três metabólitos não mostrou relação, e em *D. ornatifrons* os níveis de triglicerídeo e proteína foram mais evidentemente alterados. Variações interpopulacionais foram observadas para vários caracteres nas três espécies, além de *trade-offs* entre viabilidade e tempo de desenvolvimento (*D. willistoni* e *D. ornatifrons*), tempo de desenvolvimento e conteúdo de glicogênio (*D. maculifrons* e *D. ornatifrons*) e entre os conteúdos de glicogênio e triglicerídeo (*D. maculifrons*). Correlações positivas entre viabilidade e glicogênio (*D. ornatifrons*) e entre triglicerídeo e proteínas totais (*D. maculifrons*) também foram detectadas. Assim, foi evidenciado que as variações nas concentrações de macronutrientes nas dietas testadas exerceram pressões diferenciais sobre as características avaliadas, demonstrando novamente que a história evolutiva e adaptações diferenciais aos ambientes são importantes para definir a amplitude de resposta que as espécies podem apresentar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, A. M.; VALENTE, V. L. S. Observações sobre alguns Lepidópteros e Drosofilídeos do Parque to Turvo, RS. **Ciência e Cultura**, v. 33, p. 1485-1490, 1981.
- AYRES J. S., SCHNEIDER, D. S., The role of anorexia in resistance and tolerance to infections in *Drosophila*. **PLoS Biol.**, v. 7, n. 7, 2009.
- BÄCHLI, G., 2020. Taxodros, the database on taxonomy of Drosophilidae. Disponível em: <[http://www.taxodros.uzh.ch/search/prt\\_rawfile.php?prt=SPECIES-LIST\\_GR\\_SR](http://www.taxodros.uzh.ch/search/prt_rawfile.php?prt=SPECIES-LIST_GR_SR)>. Acessado em: 12 fev. 2020.
- BAHDER, B. W., BAHDER, L. D., HAUSER, M., BEERS, E., WALSH, D. B. Relative abundance and phenology of *Drosophila* Fallén, 1815 (Diptera: Drosophilidae) species in south-central Washington State. **The Pan-Pacific Entomologist**. v. 92, n. 2, p. 92-99, 2016.
- BASSO DA SILVA, L.; VALENTE, V. L. S. Body size and mating success in *Drosophila willistoni* are uncorrelated under laboratory conditions. **J. Genet.**, v. 80, p. 77-81, 2001.
- BECHER, P. G et al. Yeast, not fruit volatiles mediate *Drosophila melanogaster* attraction, oviposition and development. **Behavioural ecology**, v. 26, n. 4, p. 822-828, 2012.
- BEGON, M. Yeasts and *Drosophila*. In: ASHBURNER, M., CARSON, H.L., THOMPSON JR. **The Genetics and Biology of Drosophila** , v. 3B, Academic Press, Nova York, 1982. p. 345-384.
- BROOKS, D. R.; MCLENNAN, D. A. **Phylogeny, ecology, and behavior: a research program in comparative biology**. Chicago: University of Chicago Press, 1991.
- CAPINERA, L. **Handbook of Vegetable Pests**. 1ª ed. Texas: Gulf Professional Publishing, 729 p., 2001.
- CAVASINI, R., et al. Comparison of Drosophilidae (Diptera) assemblages from two highland Araucaria Forest fragments, with and without environmental conservation policies. **Braz. J. Biol.**, v. 74, p. 761-768, 2014.
- CENZI DE RÉ, F. C., et al. Brazilian populations of *Drosophila maculifrons* (Diptera, Drosophilidae): low diversity levels and signals of a population expansion after the Last Glacial Maximum. **Biol. J. Linn. Soc.**, v. 112, p. 55-66, 2014.
- CHEN, K. F.; CROWTHER, D. C. Functional genomics in *Drosophila* models of human disease. **Briefings in Functional Genomics**, v. 11, p. 405–415, 2012.
- CLARK, P. U., et al. The Last Glacial Maximum. **Science**, v. 325, p. 710-714, 2009.
- DA CUNHA, A. B., et al. Genetics of natural populations. XXVII. Supplementary data on the chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. **Evolution**, v. 13, p. 389-404, 1959.
- DA CUNHA, A. B.; DOBSZANSKI. A futher study of chromossomal polymorphism of *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. **Evolution**. v. 8, p. 119-134, 1954.
- DE TONI, D. C.; GOTTSCHALK, M. S.; CORDEIRO, J.; HOFMANN, P. P. R. & VALENTE, V. L. S. 2007. Study of the Drosophilidae (Diptera) communities on atlantic forest islands of Santa Catarina state, Brazil. **Neotropical Entomology** 36(3):356-375..

- DOBZHANSKY, T.; POWELL, J. R. The willistoni group of sibling species of *Drosophila*. In: King, R. C. (ed). *Handbook of Genetics*, **Plenum Publishing Corporation**, New York, v. 3, p. 589-622, 1975.
- DOS SANTOS, K.; MACHADO, L. P. B.; MATEUS, R.P. Sampling two species of the *Drosophila guarani* group in a fragment of Araucaria Forest: testing different types of baits, fermentation time, and period of the day. *Dros. Inf. Serv.*, v. 93, p. 185- 188, 2010.
- EHRMAN, L.; J. R. POWELL. The *Drosophila willistoni* species group. In: ASHBURNER, M.; H. L. CARSON; J. N. THOMPSON, JR. **The Genetics and Biology of *Drosophila***. 3. ed. New York: Academic Press, 1982. p. 193–225.
- FELLOUS, S., LAZZARO, B. P. Larval food quality affects adult (but not larval) immune gene expression independent of effects on general condition. *Mol. Ecol.*, v. 19, p. 1462–1468, 2010.
- FELSENSTEIN, J. Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist*, v. 125, p. 1–15, 1985.
- FREIRE-MAIA, N.; Pavan C. Introdução ao estudo da Drosófila. *Cultus*, v. 1, p. 3- 66, 1949.
- FRICKE, C., et al. Adult male nutrition and reproductive success in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, v. 62, p. 3170–3177, 2008.
- FROTA-PESSOA, O. Revision of the tripunctata group of *Drosophila* with description of fifteen new species (Drosophilidae, Diptera). *Arquivos do Museu Paranaense*, v. 10, p. 253-304, 1954.
- GANTER, P.F. Yeast and invertebrate associations. In: Rosa, C.A., Gábor, P. **The Yeast Handbook – Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts**. 2006, p. 303–370.
- GOÑI, B., et al. Species of *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) attracted to dung and carrion baited pitfall traps in the Uruguayan Eastern Serranías. *Zoologia*, v. 29, p. 308-317, 2012.
- GOTTSCHALK, M. S., et al. Changes in Brazilian Drosophilidae (Diptera) assemblages across an urbanisation gradient. *Neotr. Ent.*, v. 36, p. 848-862, 2007.
- GOTTSCHALK, M. S.; HOFMANN, P. R. P.; VALENTE, V. L. S. Diptera, Drosophilidae: historical occurrence in Brazil. *Check List*, v. 4, p. 485-518, 2008.
- GRAHAM, P.; PICK, L. Chapter Thirteen - *Drosophila* as a Model for Diabetes and Diseases of Insulin Resistance. *Current Topics in Developmental Biology*, v. 121, p. 397-419, 2017.
- GUSTANI, E. C., et al. Demographic Structure and Evolutionary History of *Drosophila ornatifrons* (Diptera, Drosophilidae) from Atlantic Forest of Southern Brazil. *Zool. Sc.*, v. 32, p. 141-150, 2015.
- HARVEY, P. H.; PAGEL, M. D. **The comparative method in evolutionary biology**. Oxford: Oxford University Press, 1991.
- HOCHMÜLLER, C. J.; et al.(2010) The drosophilid fauna (Diptera, Drosophilidae) of the transition between the Pampa and Atlantic Forest Biomes in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil: first records. *Pap Avulso Zool*, v. 50, p. 285-295, 2010.
- HOFFMANN, A. A.; PARSONS, P. A. **Evolutionary Genetics and Environmental Stress**. Oxford: University Press, 284 p. 1991.

- JAENIKE, J., MARKOW, T. A. Comparative elemental stoichiometry of ecologically diverse *Drosophila*. **Funct. Ecol.**, v. 17, p. 115-20, 2003.
- KIRCHER, H. W. Chemical composition of cacti and its relationship to Sonoran desert *Drosophila*. In: BARKER, J. S. F.; STARMER, W. T. **Ecological genetics and evolution: the cactus-yeast-*Drosophila* model system**. Sydney, Australia: Academic Press, 1982. p. 143–158.
- KIRCHER, H. W.; AL-AZAWI, B. Longevity of seven species of cactophilic *Drosophila* and *D. melanogaster* on carbohydrates. **J. Insect Physiol.**, v. 31, p. 165- 169, 1985.
- KOLSS, M. et al; Life-history consequences of adaptation to larval nutritional stress in *Drosophila*. **Evolution**, v. 63, n. 9, p. 2389-401, set. 2009.
- LAGIOU, P. et al. Low carbohydrate-high protein diet and mortality in a cohort of Swedish women. **J. Intern. Med.** v. 261, p. 366–374, 2007.
- LAYALLE, S., E. et al. Smooth, a hnRNP encoding gene, controls axonal navigation in *Drosophila*. **Genes Cells**, v. 10, p. 119–125, 2005.
- LESSING, D.; BONINI, N. M. Maintaining the brain: insight into human neurodegeneration from *Drosophila melanogaster* mutants. **Nat Rev Genet.**, v. 10, n. 6, p. 359-70, jun. 2009.
- MARKOW T. A., O'GRADY P. M. ***Drosophila: A Guide of Species Identification and Use***. London: Academic Press, 2006.
- MARKOW T. A., O'GRADY P. M. Evolutionary genetics of reproductive behavior in *Drosophila*: connecting the dots. **Annu. Rev. Genet.** v. 39, p. 263–291, 2005.
- MARKOW T. A., O'GRADY P. M., O'GRADY P. Reproductive ecology of *Drosophila*. **Funct. Ecol.** v. 22, p. 747–75, 2008.
- MARKOW, T. A., et al. Elemental stoichiometry of *Drosophila* and their hosts. **Funct. Ecol.**, v. 13, p. 78-84, 1999.
- MARKOW, T. A.; O'GRADY, P. M. *Drosophila* biology in the genomic age. **Genetics**. v. 177, p. 1269–1276, 2007.
- MATEUS, R. P.; BUSCHINI, M. L. T.; SENE, F. M. The *Drosophila* community in xerophytic vegetations of the upper Parana-Paraguay river basin. **Braz. J. Biol.**, v. 66, p. 719-729, 2006.
- MATZKIN, L. M., et al. Dietary Protein and Sugar Differentially Affect Development and Metabolic Pools in Ecologically Diverse *Drosophila*. **J. Nutr.**, v. 141, p. 1127-1133, 2011.
- MATZKIN, L. M.; MUTSAKA, K.; JOHNSON, S., MARKOW, T. A. Metabolic pools differ among ecologically diverse *Drosophila* species. **J Insect Physiol**, v. 55, p. 1145–50, 2009.
- MUSSELMAN, L. P.; FINK, J. L.; NARZINSKI, K.; et al. A high-sugar Dieta produces obesity and insulin resistance in wild-type *Drosophila*. **Dis Model Mech**, v. 4, n. 6, p. 842–849, 2011.
- O'GRADY, P. M.; DESALLE, R. Phylogeny of the Genus *Drosophila*. **Genetics**. v. 209, n. 1, p. 1-25, 2018.
- ORMEROD, K.G. *Drosophila* development, physiology, behavior, and lifespan are influenced by altered dietary composition. **Fly**, v. 11, n. 3, p. 153-170, 2017.



- PANDEY, U. B.; NICHOLS, C. D. Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery. **Pharmacological Reviews** v. 63, p. 411–436, 2011.
- PIGLIUCCI, M. **Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture**. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2001.
- PIPER, M. D. W. et al. Dieta, metabolism and lifespan in *Drosophila*. **Exp. Gerontol.** v. 40, p. 857–862, 2005.
- PIPER, M. D. W., PARTRIDGE L. Dietary restriction in *Drosophila*: delayed aging or experimental artefact? **PLoS Genet.** v. 3, n. 4, 2007.
- POPPE, J.L., VALENTE, V.L.S., SCHMITZ, H.J. Population Dynamics of Drosophilids in the Pampa Biome in Response to Temperature. **Neotropical Entomology** v. 42, n. 3, p. 269-77, 2013.
- POWELL. J. R. **Progress and Prospects in Evolutionary Biology: The Drosophila model**. Oxford: Univ. Press, 562p. 1997.
- RAFAEL, V., VELA, D. *Drosophila* distribution in Ecuador. **Dros. Inf. Serv.**, v. 83, p. 85-88, 2000.
- REED, L. K., et al. Genotype-by-Dieta Interactions Drive Metabolic Phenotype Variation in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**, v. 185, p. 1009-1019, 2010.
- REGNER, L. P., VALENTE, V. L. S. *Drosophila willistoni* mating activity - urbanization effects and a search for its chromosomal basis. **Evol. Biológica**, v. 7, p. 327-349, 1993.
- ROBE, L. J. et al. Molecular phylogeny of the subgenus *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) with an emphasis on Neotropical species and groups: a nuclear versus mitochondrial gene approach. **Mol. Phylogenet. Evol.**, v. 36, p. 623-640, 2005.
- ROBE, L. J.; CORDEIRO, J.; LORETO, E. L. S.; VALENTE, V. L. S. Taxonomic boundaries, phylogenetic relationships and biogeography of the *Drosophila willistoni* subgroup (Diptera: Drosophilidae). **Genetica**, v. 138, p. 601–617, 2010.
- ROBE, L. J.; LORETO, E. L. S.; VALENTE, V. L. S. Radiation of the “*Drosophila*” subgenus (Drosophilidae, Diptera) in the Neotropics. **J. Zool. Syst. Evol. Res.**, v. 48, p. 310-321, 2010a.
- ROBE, L. J.; VALENTE, V. L. S.; LORETO, E. L. S. Phylogenetic relationships and macro-evolutionary patterns within the *Drosophila tripunctata* “radiation” (Diptera: Drosophilidae). **Genetica**, v. 138, p. 725-735, 2010b.
- ROHDE, C.; GARCIA, A. C. L.; VALIATI, V. H.; VALENTE, V. L. S. Chromosomal evolution of sibling species of the *Drosophila willistoni* group. I. Chromosomal arm IIR (Muller’s element B). **Genetica**, v. 126, p. 77–88, 2006.
- RUSSO, C. A M., et al. Phylogenetic analysis and a time tree for a large drosophilid data set (Diptera: Drosophilidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 4, p. 765-775, 2013.
- RUSSO, C.A., TAKEZAKI, N., NEI, M. Molecular phylogeny and divergence times of drosophilid species. **Mol Biol Evol.** v. 12, n. 3, p. 391-404, 1995.

- SAAVEDRA, C. C. R., et al. Isoenzymatic polymorphisms in urban populations of *Drosophila willistoni*. **Rev. Chil. Hist. Nat.**, v. 74, p. 47-53, 2001.
- SALZANO, F. M. Chromosomal polymorphism in two species of the *guarani* group of *Drosophila*. **Chromosoma**, v. 7, p. 39-50, 1955.
- SANTOS, R. A.; VALENTE, V. L. S. On the occurrence of *Drosophila paulistorum* Dobzhansky e Pavan (Diptera, Drosophilidae) in an urban environment: Ecological and cytological observations. **Evol. Biológica.**, v. 4, p. 253-268, 1990.
- SENE, F.M. et al. Preliminary data on the geographical distribution of *Drosophila* species within morphoclimatic domains of Brazil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 33, p. 315-326, 1980.
- SILVA, D. C.; MACHADO, L. P. B.; MATEUS, R. P. Migration rate and genetic diversity of two *Drosophila maculifrons* (Duda, 1927) populations from Highland Araucaria Forest Fragments in Southern Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 75, p. 254-255, 2015.
- SILVERTOWN, J.; FRANCO, M.; HARPER, J. L. **Plant life histories: ecology, phylogeny and evolution**. New York: Cambridge University Press, 1997.
- SKORUPA, D.A.; DERVISEFENDIC, A.; ZWIENER, J., PLETCHER, S. D. Dietary composition specifies consumption, obesity, and lifespan in *Drosophila melanogaster*. **Aging Cell**, v. 7, n. 4, p. 478-490, 2008.
- STARMER, W. T., et al. Adaptations of *Drosophila* and yeasts: their interactions with the volatile 2-propanol in the cactus-microorganism-*Drosophila* model system. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 39, p. 69-77, 1986.
- STARMER, W.T., LACHANCE, M., PHAFF, H.J., HEED, W.B. The biogeography of yeasts associated with decaying cactus tissue in North America, the Caribbean, and northern Venezuela. **Evol. Biol.**, v. 24, p. 253-296, 1990.
- Tamura K, Subramanian S, Kumar S. Temporal Patterns of Fruit Fly (*Drosophila*) Evolution Revealed by Mutation Clocks. 2004. *Molecular Biology and Evolution* v. **21**, n. **1**:36-44.
- TELEMAN, A. A.; RATZENBÖCK, I.; OLDHAM, S. *Drosophila*: A Model for Understanding Obesity and Diabetic Complications. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 120, n. 04, p. 184-185, 2012.
- TIDON, R. Relationships between drosophilids (Diptera, Drosophilidae) and the environment in two contrasting tropical vegetations. **Biol J Linn Soc Lond**, v. 87, p. 233-247, 2006.
- TIDON-SKLORZ, R.; et al. The genus *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) in the Serra do Cipó, state of Minas Gerais, Brazil. **Rev. Bras. Entomol.**, v. 38, p. 627-637, 1994.
- TIDON-SKLORZ, R.; SENE, F. M. *Drosophila*. In: BRANDÃO, C.R.F.; CANCELLO, E.M. **Invertebrados terrestres. Biodiversidade do Estado de São Paulo. Síntese do Conhecimento ao Final do Século XX**, FAPESP, São Paulo, 1999. p. 247-261.
- TRAVA, B. M. **Morfometria da asa e do edeago de duas espécies de *Drosophila* Endêmicas da América do Sul**. 2014, Dissertação (Mestrado em Biologia Evolutiva) – UEPG/UNICENTRO, Guarapuava/PR, 2014.

- UNCKLESS, R. L.; ROTTSCHAEFERE, S. M.; LAZZARO, P. B. A Genome-Wide Association Study for Nutritional Indices in *Drosophila*. **G3: GENES, GENOMES, GENETICS**, v. 5, n. 3, p. 417-425, mar. 2015.
- VAL, F. C.; VILELA, M. D.; MARQUES, C. R. Drosophilidae of the Neotropical Region. In ASHBURNER, M., CARSON, H. L.; THOMPSON, N. **The Genetics and Biology of *Drosophila***. 3 ed. New York: Academic Press, 1981. p. 123–168.
- VALADÃO, H. et al. Fruit-breeding drosophilids (Diptera) in the Neotropics: playing the field and specialising in generalism? **Ecological Entomology**, v. 44, n. 6, p. 721-737, 2019.
- VALENTE, V. L. S.; RUSZCZYK, A.; DOS SANTOS, R. A. Chromosomal polymorphism in urban *Drosophila willistoni*. **Rev. Bras. Genet.**, v. 16, n. 2, p. 307-319, 1993.
- VALENTE, V.L.S.; ARAÚJO, A.M. Chromosomal polymorphism, climatic factors and variation in population size of *Drosophila willistoni* in Southern Brazil. **Heredity**. v. 57, p. 149-160, 1986b.
- VALIATI, V. H., VALENTE, V. L. S. Observations on ecological parameters of urban populations of *Drosophila paulistorum* Dobzhansky e Pavan (Diptera, Drosophilidae). **Rev. Bras. Ent.**, v. 40, n. 2, p. 225-231, 1996.
- VALTONEN, T. M., et al. Transgenerational Effects of Parental Larval Diet on Offspring Development Time, Adult Body Size and Pathogen Resistance in *Drosophila melanogaster*. **PLoS One**. v. 7, n. 2, 2012.
- VAN DER LINDE, K. , G. J. STECK , K. HIBBARD , J. S. BIRDSLEY , L. M. ALONSO & D. HOULE. First records of *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae), a pest species on commercial fruits from Panama and the United States of America. **The Florida Entomologist**. v. 89, n. 3, p. 402–404, 2006.
- VAN DER LINDE, K.; HOULE, D.; SPICER, G. S.; STEPPAN, S. J. A supermatrix-based molecular phylogeny of the family Drosophilidae. **Genet. Res., Camb.**, v. 92, p. 25–38, 2010.
- VASS, E., NAPPI, A. J., The effects of Dietary yeast on the cellular immune response of *Drosophila melanogaster* against the larval parasitoid, *Leptopilina boulardi*. **J. Parasitol.**, v. 84, p. 870–872, 1998.
- VIJENDRAVARMA, R. K.; NARASIMHA, S.; KAWECKI, T. J. Predatory cannibalism in *Drosophila melanogaster* larvae. **Nature Communications**, v. 4, n. 1789, 2013
- VILELA, C. R.; BÄCHLI, G. Taxonomics studies on Neotropical species of seven genera of Drosophilidae (Diptera). **Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft**, v. 63, p. 1-332, jan. 1990.
- VILELA, C. R.; MORI, L. The genus *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) in the Serra do Cipó: further notes. **Rev. Bras. Entomol.**, v. 43, p. 319-328, 1997.
- WHEELER, M. R. The Drosophilidae: a taxonomic overview. In: ASHBURNER, M., CARSON, H.L., THOMPSON, J.N. **The Genetics and Biology of *Drosophila***. Orlando: Academic Press, p.1–97, 1982.
- YOTOKO, K. S. C.. et al. A molecular study of the Systematics of the *Drosophila tripunctata* group and the *tripunctata* radiation. **Mol. Phylogenet. Evol.**, v. 28, p. 614-619, 2003.

ZANINI, R. ; DEPRÁ, M.; VALENTE, V. L. S. On the geographic distribution of the *Drosophila willistoni* group (Diptera, Drosophilidae) – updated distribution of alagitans and bocainensis subgroups. **Drosophila Information Service**, v. 98, p. 25-27, 2015b.

ZANINI, R. ; DEPRÁ, M.; VALENTE, V. L. S. On the geographic distribution of the *Drosophila willistoni* group (Diptera, Drosophilidae) – updated geographic distribution of the Neotropical willistoni subgroup. **Drosophila Information Service**, v. 98, p. 39-43, 2015c.

ZANINI, R.; DEPRA, M.; VALENTE, V. L. S. Can sibling species of the *Drosophila willistoni* subgroup be recognized through combined microscopy techniques. **Rev. Bras. entomol.**, v. 59, n. 4, p. 323-331, 2015a.

ZANINI, R.; DEPRÁ, M.; VALENTE, V. L. S. Ultrastructural characterization of the pre adult stages of *Drosophila willistoni* species group (Diptera, Drosophilidae). **Trends in Entomology**, v. 12, p. 43-50, 2016.

## APÊNDICE I

### Receita do meio de cultura padrão de banana (DPB)

Em uma panela, colocar a pedra banana e a água nas proporções na tabela abaixo, conforme o volume desejado da receita. Depois de levantar fervura, adicionar o fermento biológico na quantidade correspondente ao volume da receita, conforme a tabela abaixo.

	Volume da receita				
	0,5 L	1,0 L	1,5 L	2,0 L	3,0 L
<b>Banana</b>	130 g	260 g	390 g	520 g	780 g
<b>Água</b>	375 mL	750 mL	1125 mL	1500 mL	2250 mL
<b>Fermento biológico</b>	8,5 g	17 g	25,5 g	34,0 g	51,0 g

Depois de adicionado o fermento biológico e o meio já ter fervido uma vez, acrescenta-se o ágar diluído em água, conforme o volume da receita.

	Volume da receita				
	0,5 L	1,0 L	1,5 L	2,0 L	3,0 L
<b>Água</b>	62,5 mL	125,0 mL	187,5 mL	250,0 mL	375,0 mL
<b>Ágar</b>	5,5 g	11,0 g	16,5 g	22,0 g	33,0 g

Deixar ferver no fogo alto até levantar fervura por pelo menos mais uma vez. O meio deve apresentar aspecto homogêneo e consistência levemente espessa. Após retirar do fogo e resfriar, acrescentar o nipagin conforme a seguir.

	Volume da receita				
	0,5 L	1,0 L	1,5 L	2,0 L	3,0 L
<b>Nipagin</b>	5,5 mL	11,0 mL	16,5 mL	22,0 mL	33,0 mL

#### Receita do Nipagin:

- 100 g de pó de nipagin
- 20 mL de ácido fosfórico
- 1 L de álcool 90%

Diluir o ácido fosfórico no álcool e em seguida dissolver o pó de nipagin na solução.

## APÊNDICE II

### Análises do conteúdos metabólicos

#### Preparação das amostras

1. Coloque 5 moscas em um tubo de 1,5 mL.
2. Adicione 300 uL de Tampão Fosfato 1X (0,025M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7,4) e triture bem.
3. Adicione 700 uL de Tampão Fosfato 1X e misture usando vórtex.
4. Centrifugue por 2 minutos a 12.000 rpm.
5. Remova 800 uL do sobrenadante e coloque em um novo tubo de 1,5 mL etiquetado.

#### Ensaio para Glicogênio

1. Ligue o espectrofotômetro de placas e programe para 445 nm.
2. Se as amostras estiverem congeladas, descongele-as e agite no vórtex.
3. Descongele e agite no vórtex os padrões de glicogênio: 25 ug/mL, 50 ug/mL, 75 ug/mL, 100 ug/mL e 125 ug/mL.
4. Adicione 200 uL do reagente em cada poço, em triplicata para cada padrão e para cada amostra.
5. Adicione 40 uL do padrão ou da amostra em cada poço das tréplicas, tampe a placa e incube a 37°C por 3 horas.
6. Se for necessário, centrifugue a placa antes da leitura.
7. Leia a placa a 445 nm.

#### Ensaio para Triglicerídeos

1. Ligue o espectrofotômetro de placas e programe para 500 nm.
2. Se as amostras estiverem congeladas, descongele-as e agite no vórtex.
3. Descongele e agite no vórtex os padrões de triglicerídeos: 20 ug/mL, 50 ug/mL, 80 ug/mL, 120 ug/mL, 180 ug/mL, 250 ug/mL e 300 ug/mL.
4. Adicione 200 uL do reagente em cada poço, em triplicata para cada padrão e para cada amostra.
5. Adicione 40 uL do padrão ou da amostra em cada poço das tréplicas, tampe a placa e incube a 37°C por 30 minutos.
6. Auto-agite a placa por 5 segundos antes da leitura (no próprio espectrofotômetro).
7. Leia a placa a 500 nm.

#### Ensaio para Proteínas

1. Ligue o espectrofotômetro de placas e programe para 562 nm.
2. Se as amostras estiverem congeladas, descongele-as e agite no vórtex.
3. Descongele e agite no vórtex os padrões de proteínas: 50 ug/mL, 100 ug/mL, 200 ug/mL, 400 ug/mL, 800 ug/mL e 1000 ug/mL.

4. Adicione 200 uL do reagente em cada poço, em triplicata para cada padrão e para cada amostra.
5. Adicione 20 uL do padrão ou da amostra em cada poço das réplicas, tampe a placa e incube a 37°C por 30 minutos.
6. Auto-agite a placa por 5 segundos antes da leitura (no próprio espectrofotômetro).
7. Leia a placa a 562 nm.

### Glicogênio

#### - Padrões de Glicogênio:

- **OBSERVAÇÃO IMPORTANTE: As quantidades abaixo são pequenas, portanto a pesagem requer um cuidado extra para garantir exatidão nos pesos.**
- Glicogênio de fígado bovino, tipo IX (Sigma G0885-5G)
  - 25 ug/mL = 0,00625 g em 250 mL de Tampão Fosfato 1X
  - 50 ug/mL = 0,0125 g em 250 mL de Tampão Fosfato 1X
  - 75 ug/mL = 0,01875 g em 250 mL de Tampão Fosfato 1X
  - 100 ug/mL = 0,025 g em 250 mL de Tampão Fosfato 1X
  - 125 ug/mL = 0,03125 g em 250 mL de Tampão Fosfato 1X
- Adicionar 250 mL de Tampão Fosfato 1X à frascos já etiquetados de acordo com o peso padrão acima, adicionar o glicogênio pesado acima e agitar por 5 minutos.
- Separar a solução padrão em alíquotas de 1,5 mL em tubos e congelar à -20° C.
- Assegurar-se de descongelar e agitar em vórtex antes de usar os padrões.

#### - Reagente para Glicogênio

- PGO enzyme preparation (Sigma P-7119)
- Amyloglucosidase (Sigma A1602-25mg)
- O-Dianisidine reagente (Sigma D2679-1VL)
  - Dissolver uma cápsula de PGO em 100 mL de água ultrapura (puxar cuidadosamente as duas partes da cápsula e colocar o pó na água). Misturar gentilmente com uma barra durante 5 minutos até dissolver e depois cobrir o frasco com papel alumínio
  - Adicionar 3,4 uL de amyloglucosidase
  - Adicionar 1,6 mL de O-Dianisidine (reconstituído em 1 mL de água ultrapura)
  - Misturar bem e guardar na geladeira a 4° C.

### Triglicerídeos

#### - Padrões de Triglicerídeos:

- **OBSERVAÇÃO IMPORTANTE: As quantidades abaixo são pequenas, portanto a pesagem requer um cuidado extra para garantir exatidão nos pesos.**
- Padrão de triglicerídeos Gold Analisa (Ref. 459 – MS 80022230062)
  - 20 ug/mL = 10 uL do padrão em 990 uL de Tampão Fosfato 1X
  - 50 ug/mL = 25 uL em 975 uL de Tampão Fosfato 1X
  - 80 ug/mL = 40 uL em 960 uL de Tampão Fosfato 1X
  - 120 ug/mL = 60 uL em 940 uL de Tampão Fosfato 1X
  - 180 ug/mL = 90 uL em 910 uL de Tampão Fosfato 1X
  - 250 ug/mL = 125 uL em 875 uL de Tampão Fosfato 1X
  - 300 ug/mL = 150 uL em 850 uL de Tampão Fosfato 1X
- Adicionar as quantidade descritas acima em tubos de 1,5 mL etiquetados de acordo com a concentração, e completar o volume necessário descrito acima. Agitar o suficiente para homogeneizar a solução.

- Congelar os tubos à -20° C.
- Assegurar-se de descongelar e agitar em vórtex antes de usar os padrões.
- Reagente para Triglicerídeos (Ref. 459 – MS 80022230062)
  - Reagente pronto fornecido no kit de quantificação da Gold Analisa (Ref. 459 – MS 80022230062)
    - Guardar na geladeira a 4° C.

### Proteínas

- **Padrões de Proteínas:**
  - **OBSERVAÇÃO IMPORTANTE: As quantidades abaixo são pequenas, portanto a pesagem requer um cuidado extra para garantir exatidão nos pesos.**
  - Albumina bovina (Sigma A2153)
    - 50 ug/mL = 0,0025 g em 50 mL de Tampão Fosfato 1X
    - 100 ug/mL = 0,005 g em 50 mL de Tampão Fosfato 1X
    - 200 ug/mL = 0,01 g em 50 mL de Tampão Fosfato 1X
    - 400 ug/mL = 0,02 g em 50 mL de Tampão Fosfato 1X
    - 800 ug/mL = 0,04 g em 50 mL de Tampão Fosfato 1X
    - 1000 ug/mL = 0,05 g em 50 mL de Tampão Fosfato 1X
  - Adicionar 50 mL de Tampão Fosfato 1X à tubos falcon já etiquetados de acordo com o peso padrão acima
  - Adicionar a quantidade apropriada de albumina bovina ao tubo e dissolver no vórtex.
  - Guardar em geladeira a 4° C.
- **Reagente para Proteínas**
  - Preparar uma solução de CuSO<sub>4</sub> a 4% (4 g de CuSO<sub>4</sub> em 100 mL de água ultrapura)
  - Em um frasco de 100 mL, adicionar 50 mL de Ácido Bicínico (Sigma B9643).
  - Adicionar 1 mL da solução de CuSO<sub>4</sub> a 4% e agitar para dissolver.
  - Guardar em geladeira a 4° C.



## APÊNDICE III

**Tabela 2.6** Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações (Caj, PMA e PoA) sobre a viabilidade larva-adulto (VLA) e o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA) em *Drosophila willistoni*.

	Média	IC 95%	IC 95%	Amostras	pMCMC	
	posterior	Inferior	Superior	efetivas		
	Intercepto	240.6809	230.4988	251.5565	1700	< 6e-04 ***
VLA	Caj	-229.4192	-239.1419	-217.4716	1700	< 6e-04 ***
	PMA	-228.6892	-239.6785	-218.1781	1700	< 6e-04 ***
	PoA	-229.8061	-241.0829	-219.0341	1700	< 6e-04 ***
	HPS	0.3340	-2.1373	2.6985	1396	0.77412
	LPS	1.1028	-1.3041	3.5876	1700	0.35176
	SexoM	-2.5847	-3.7051	-1.5092	1994	< 6e-04 ***
	PMA:HPS	-2.5137	-5.7561	0.8039	1700	0.14000
	PoA:HPS	-1.5151	-4.6054	2.2249	1549	0.38235
	PMA:LPS	-2.4189	-5.7374	0.9951	1700	0.17529
	PoA:LPS	-2.7615	-6.4868	0.4394	1700	0.11412
TLA	Caj	12.6900	-1.0667	25.6404	1700	0.08118
	PMA	1.2215	-13.0838	15.2451	1700	0.85294
	HPS	-7.2976	-20.2395	6.2669	1827	0.28353
	LPS	-14.3492	-27.6237	-1.2515	1295	0.03882 *
	SexoM	9.2250	2.8909	15.3852	1693	0.00235 **
	PMA:HPS	1.9821	-17.2122	22.4476	1700	0.86235
	PoA:HPS	-3.1508	-20.4236	17.5817	1499	0.72706
	PMA:LPS	23.6123	4.2067	43.6724	1700	0.02706 *
PoA:LPS	28.6243	8.8214	46.6215	1337	0.00235 **	

**Tabela 2.7** Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações (Caj, PMA e PoA) sobre as concentrações de triglicerídeo, glicogênio e proteínas totais em *Drosophila willistoni*.

		Média posterior	IC 95% Inferior	IC 95% Superior	Amostras efetivas	pMCMC
	Intercepto	1.565e-01	7.997e-02	2.275e-01	1000	<0.001 ***
Triglicerídeo	EPS	-6.399e-02	-1.679e-01	5.085e-02	1000	0.268
	HPS	-6.836e-02	-1.759e-01	3.943e-02	1105	0.230
	LPS	-5.277e-02	-1.623e-01	5.455e-02	1095	0.344
	SexoM	-1.741e-02	-8.368e-02	4.511e-02	1000	0.622
	PMA	3.448e-02	-5.210e-02	1.083e-01	1000	0.402
	PoA	2.943e-02	-5.590e-02	1.038e-01	1000	0.494
Glicogênio	EPS	-1.382e-01	-2.470e-01	-3.557e-02	1261	0.024 *
	HPS	-1.410e-01	-2.489e-01	-3.813e-02	1000	0.014 *
	LPS	-1.307e-01	-2.352e-01	-3.017e-02	1000	0.012 *
	SexoM	5.645e-05	-6.264e-02	6.432e-02	1000	0.986
	PMA	1.497e-01	7.895e-02	2.226e-01	1000	<0.001 ***
	PoA	8.414e-03	-7.021e-02	8.661e-02	1000	0.842
Proteínas Totais	EPS	-1.416e-02	-8.363e-02	6.539e-02	1000	0.732
	HPS	9.764e-03	-6.489e-02	9.263e-02	1055	0.800
	SexoM	-1.982e-02	-7.838e-02	4.973e-02	1000	0.564
	PMA	1.843e-03	-8.401e-02	8.131e-02	1308	0.956
	PoA	3.681e-02	-3.954e-02	1.193e-01	1000	0.338

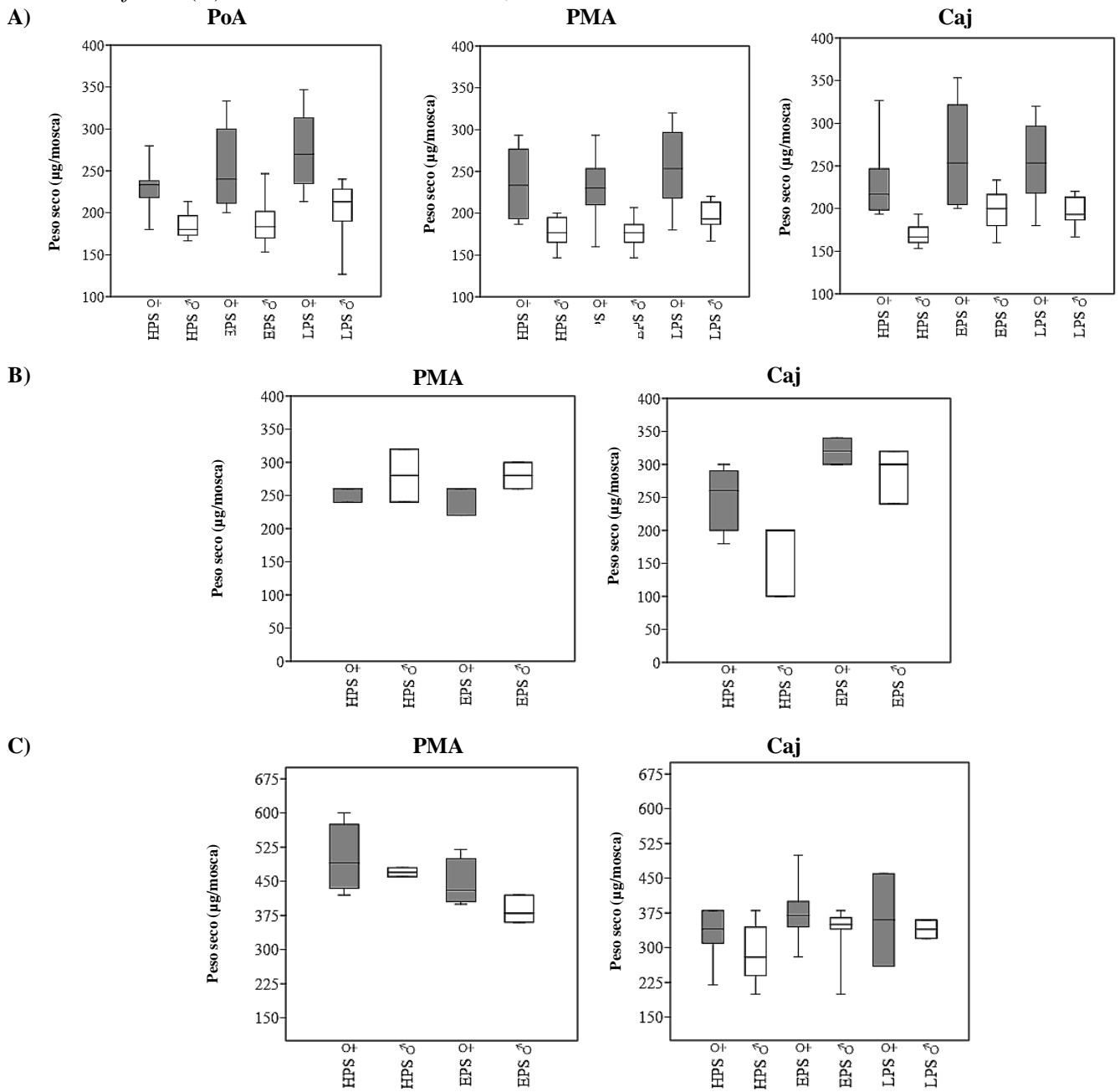
**Tabela 2.8** Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações (Caj e PMA) sobre a viabilidade larva-adulto (VLA) e o tempo de desenvolvimento larva-adulto (TLA) em *Drosophila maculifrons* e *Drosophila ornatifrons*.

		Média posterior	IC 95% Inferior	IC 95% Superior	Amostras efetivas	pMCMC		
<i>D. maculifrons</i>	VLA	Intercepto	189.5454	99.0209	278.5758	1700	<6e-04 ***	
		Caj	-188.4519	-276.5778	-97.3525	1700	<6e-04 ***	
		PMA	-188.8507	-277.5120	-98.7449	1700	<6e-04 ***	
		HPS	0.6089	-0.2786	1.5486	1700	0.193	
		SexoM	0.2968	-0.4100	0.9174	1700	0.359	
		PMA:HPS	-0.1985	-1.4082	1.2460	1700	0.769	
	TLA	Caj	-2.7671.	-115.0312	118.6549	1914	0.965	
		HPS	92.0231	-34.1059	203.9673	1826	0.133	
		SexoM	5.7240	-78.2664	85.6787	1700	0.881	
		PMA:LPS	26.7610	-150.2166	187.8817	1986	0.768	
	<i>D. ornatifrons</i>	VLA	Intercepto	276.27451	198.74237	357.89115	1700	< 6e-04 ***
			Caj	-271.18061	-352.44586	-193.85127	1700	< 6e-04 ***
			PMA	-274.53427	-355.58641	-197.38230	1700	< 6e-04 ***
			HPS	3.54121	2.31551	4.72372	1700	< 6e-04 ***
LPS			-3.50021	-4.66252	-2.35638	1700	< 6e-04 ***	
SexoM			-0.79511	-1.49572	-0.04654	1700	0.02588*	
PMA:HPS		-3.47360	-5.01458	-1.77419	1700	< 6e-04 ***		
TLA		Caj	137.86404	40.81932	247.20630	1700	0.00824 **,.	
		HPS	-78.99496	-182.03492	18.88050	1700	0.14118	
		LPS	-173.10475	-278.07028	-68.95483	1700	0.00235 **	
	SexoM	3.51280	-63.10242	69.28718	1700	0.00235 **		
PMA:HPS	68.93632	-66.19383	216.85018	1700	0.34118			

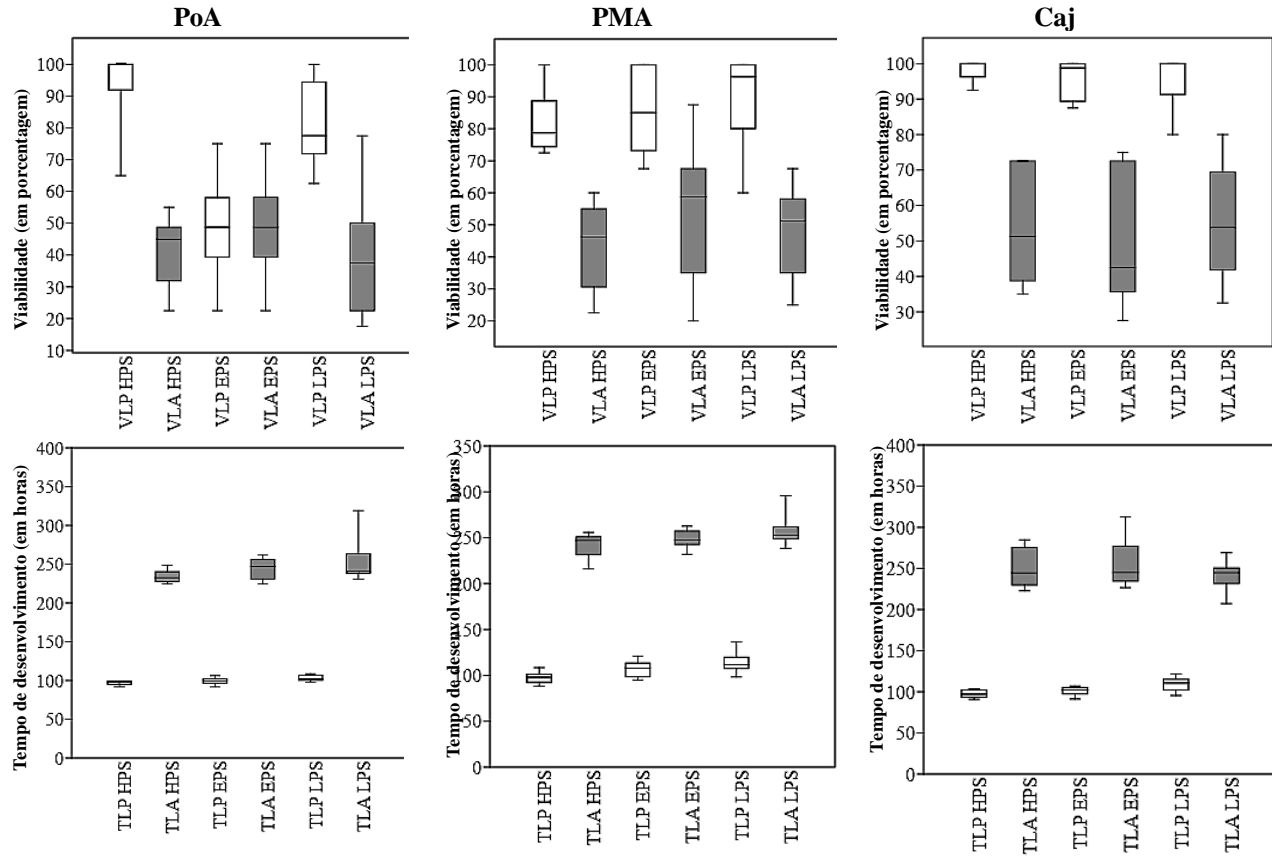
**Tabela 2.9** Modelo linear misto dos efeitos das dietas HPS, EPS e LPS, do sexo e das populações (Caj e PMA) sobre as concentrações de triglicerídeo, glicogênio e proteínas totais em *Drosophila maculifrons* e *Drosophila ornatifrons*.

		Média posterior	IC 95% Inferior	IC 95% Superior	Amostras efetivas	pMCMC	
<i>D. maculifrons</i>	Triglicerídeo	Intercepto	0.1630902	-0.6646829	0.9344065	714.5	0.680
		HPS	0.1069294	-0.3726862	0.6588406	898.2	0.666
		SexoM	0.0412231	-0.5060617	0.5443980	1000.0	0.894
		PMA	0.2370448	-0.5559634	1.1014801	1000.0	0.552
		Caj	-0.0873090	-1.0205045	0.8197924	1000.0	0.842
	Glicogênio	Intercepto	-0.1478430	-1.3062131	0.8772963	1000.0	0.812
		HPS	-0.0234881	-0.5786857	0.4546892	1000.0	0.970
		SexoM	0.0007668	-0.4843273	0.4698737	1000.0	0.996
		PMA	0.0077564	-0.7551032	0.7898452	1000.0	0.996
		Caj	0.0195877	-0.8106502	0.9410715	1000.0	0.980
	Proterínas Totais	Intercepto	-0.0972306	-1.2207600	1.0098862	1000.0	0.850
		HPS	0.0416161	-0.5626919	0.5198236	1274.0	0.870
		SexoM	0.0313979	-0.4670022	0.5357456	1000.0	0.914
		PMA	0.1217208	-0.7109476	0.9018020	1151.3	0.762
		Caj	0.0132050	-1.0156653	0.9462269	1139.8	0.998
<i>D. ornatifrons</i>	Triglicerídeo	Intercepto	1.698e-01	2.063e-02	3.065e-01	1000.0	0.03*
		HPS	-2.089e-03	-1.855e-01	1.473e-01	1000.0	0.954
		LPS	3.827e-02	-2.618e-01	3.107e-01	1000.0	0.784
		SexoM	-3.268e-02	-1.815e-01	1.250e-01	877.3	0.674
		PMA	3.915e-02	-1.480e-01	2.247e-01	1000.0	0.672
	Glicogênio	Intercepto	-1.441e-01	-3.488e-01	6.239e-02	1000.0	0.148
		HPS	-1.244e-03	-1.370e-01	1.538e-01	1000.0	0.976
		LPS	-6.063e-05	-2.507e-01	2.783e-01	1000.0	0.970
		SexoM	-1.031e-02	-1.609e-01	1.356e-01	1347.7	0.912
		PMA	-7.041e-03	-1.867e-01	1.639e-01	1000.0	0.946
	Proterínas Totais	Intercepto	-5.066e-02	-2.612e-01	1.471e-01	1000.0	0.632
		HPS	6.386e-02	-9.291e-02	2.336e-01	1000.0	0.396
		LPS	4.481e-02	-2.157e-01	3.334e-01	1000.0	0.758
		SexoM	-1.376e-02	-1.848e-01	1.350e-01	1000.0	0.870
		PMA	8.431e-02	-1.148e-01	2.608e-01	1000.0	0.352

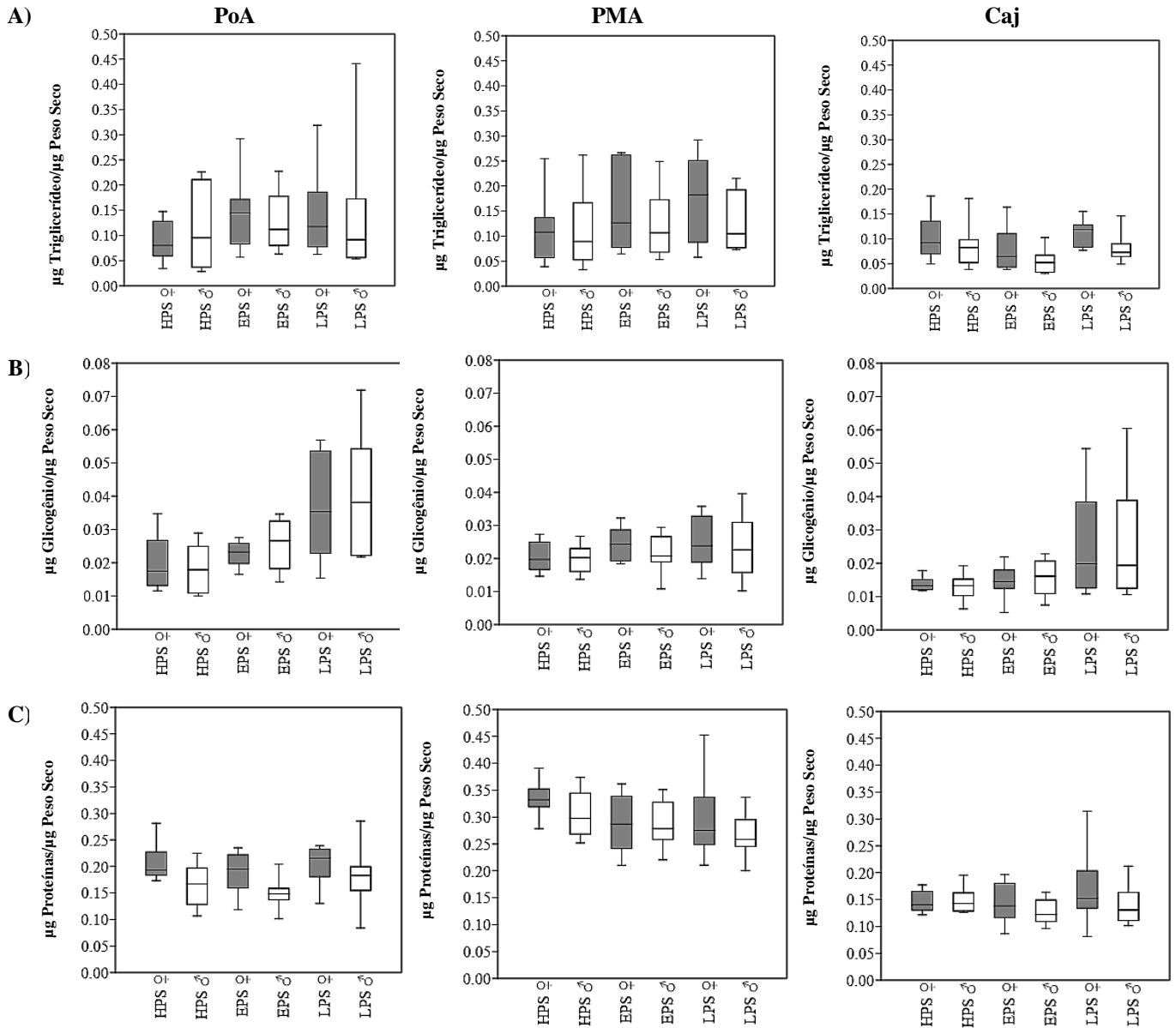
**Figura 2.1** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) do peso seco ( $\mu\text{g}$ ) de machos e fêmeas das populações (PoA, PMA, Caj) de *Drosophila willistoni* (A), *D. maculifrons* (B) e *D. ornatifrons* (C) submetidas às dietas HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.



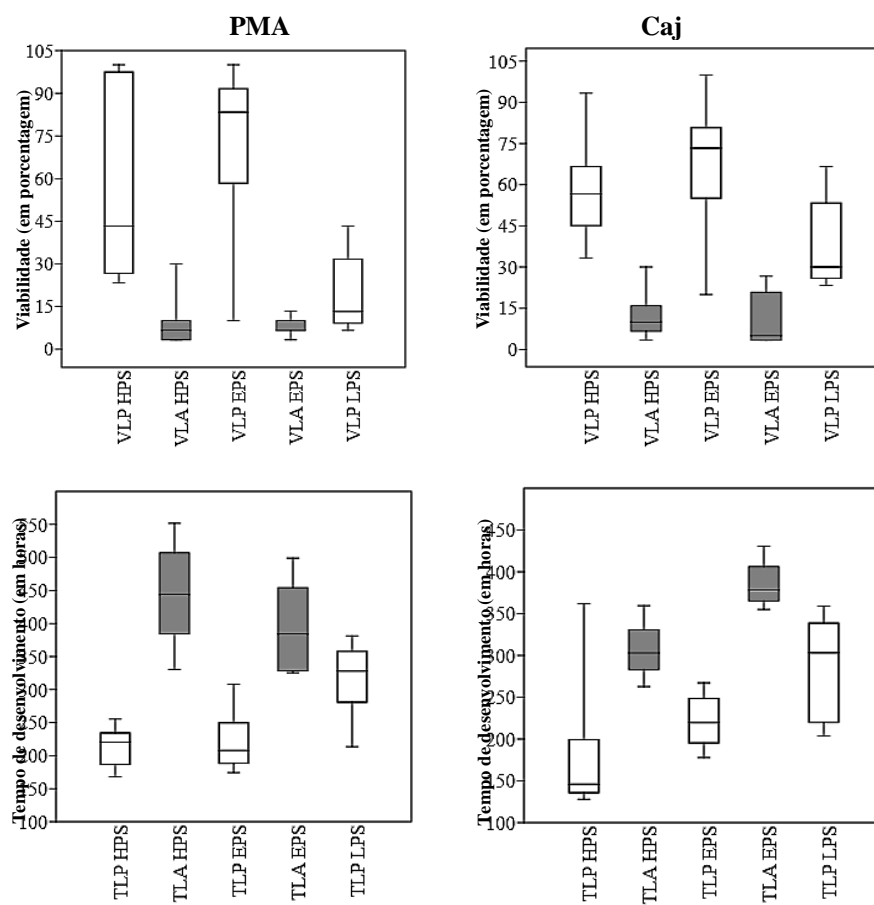
**Figura 2.2** Boxplot (mediana, quartis e valores mínimos e máximos) das viabilidades (%) larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA), e dos tempos de desenvolvimento (em horas) larva-pupa (TLP) e larva-adulto (TLA) das populações de *Drosophila willistoni* submetidas às dietas HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.



**Figura 2.3** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das concentrações de triglicerídeo (A), glicogênio (B) e proteínas totais (C), por peso seco ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ ), de machos e fêmeas de populações (PoA, PMA e Caj) de *Drosophila willistoni*, submetidas às dietas de HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.

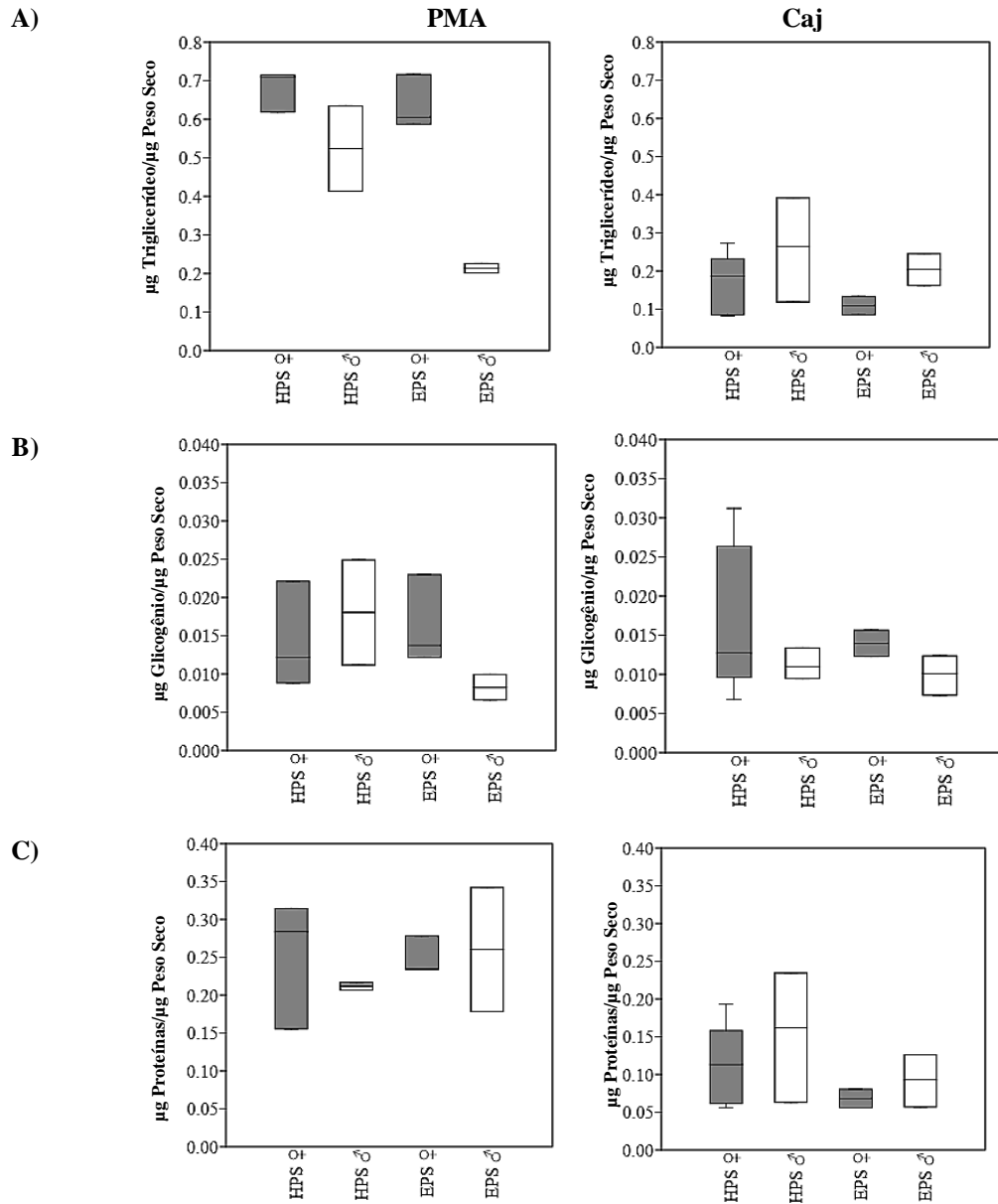


**Figura 2.4** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das viabilidades (%) larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA), e dos tempos de desenvolvimento (em horas) das populações de *Drosophila maculifrons* (PMA e Caj) submetidas às dietas HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.

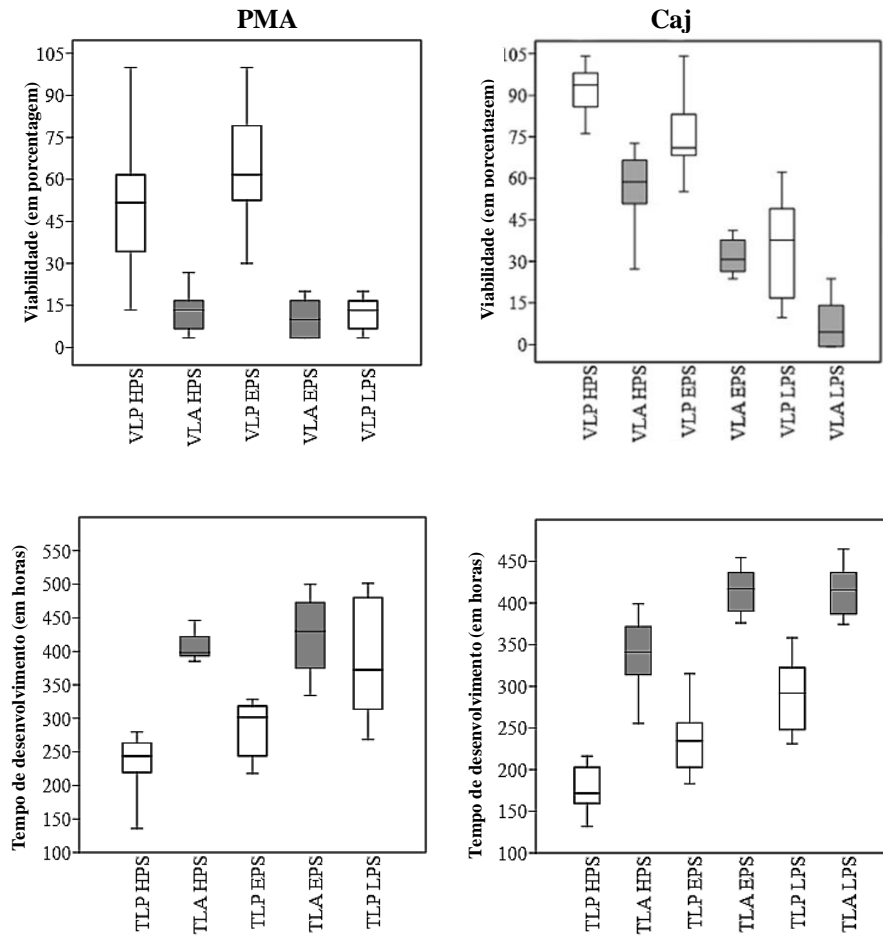




**Figura 2.5** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das concentrações de triglicerídeo (A), glicogênio (B) e proteínas totais (C), por peso seco ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ ), de machos e fêmeas de populações (PMA e Caj) de *Drosophila maculifrons* submetidas às dietas de HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.



**Figura 2.6** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das viabilidades (%) larva-pupa (VLP) e larva-adulto (VLA), e dos tempos de desenvolvimento (em horas) das populações de *Drosophila ornatifrons* (PMA e Caj) submetidas às dietas HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval..



**Figura 2.7** Boxplot (medianas, quartis e valores mínimos e máximos) das concentrações de triglicerídeo (A), glicogênio (B) e proteínas totais (C), por peso seco ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$ ), de machos e fêmeas de populações (PMA e Caj) de *Drosophila ornatifrons* submetidas às dietas de HPS, EPS e LPS durante o desenvolvimento larval.

