

MARCELO COSTA

**PADRÕES DE ASSIMETRIA AO LONGO DA DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA
DE *Drosophila antonietae* TINDON-SKLORZ & SENE**

Dissertação apresentada a Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador:
Prof. Dr. Maurício Osvaldo Moura

CURITIBA

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

*Vamos voltar...
ao tempo em que nada nos dividia,
havia motivo pra tudo e tudo era motivo pra mais...
era perfeita simetria,
éramos duas metades iguais...*

Perfeita simetria – Humberto Gessinger

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Mauricio Osvaldo Moura, pela orientação e pelas conversas, e principalmente por exceder ao papel de orientador, sempre me auxiliando quando necessário.

Ao Prof. Dr. Rogério Pincela Mateus, da Universidade Estadual do Centro Oeste - UNICENTRO, pelo auxílio na coleta e identificação, como também pela disponibilização de seu laboratório para a criação das drosophilas.

À coordenação e os professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná - UFPR.

A Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO, pela utilização da estrutura física para realização do projeto.

Aos meus colegas da turma de 2006 do programa de Pós-graduação em Entomologia.

Aos amigos e Professores do Núcleo de Pesquisa Ambientais da Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO.

Ao apoio fundamental de meus pais, Miguel e Zali, como também do meu irmão, Adriano, os quais sempre me incentivaram.

A minha noiva, Marta, simplesmente por tudo....

A banca examinadora, pelas críticas e sugestões, as quais foram de grande valia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fornecimento da bolsa de estudo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	5
LISTA DE FIGURAS.....	7
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1 – INTRODUÇÃO.....	11
2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	20
2.1 – Coletas.....	20
2.2 - Aquisição dos dados.....	21
2.3 - Morfometria geométrica.....	22
2.4 - Assimetria no tamanho da asa.....	27
2.5 - Assimetria na forma da asa.....	29
2.6 - Localização do efeito.....	32
3 – RESULTADOS.....	33
3.1 - Assimetria no tamanho da asa.....	33
3.2 - Assimetria na forma da asa.....	34
3.3 - Localização do efeito.....	35
4 – DISCUSSÃO.....	37
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
TABELAS.....	50
FIGURAS.....	63

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Localidades de coleta, coordenadas geográficas e posição das populações em relação a distribuição geográfica.....50
- Tabela 2:** Número de machos e fêmeas de *Drosophila antonietae* identificados em cada população.....51
- Tabela 3:** Análise de variância (ANOVA mista) do tamanho do centróide da asa *Drosophila antonietae* em cada população amostrada.....52
- Tabela 4:** Análise de variância da diferença entre o lado direito e esquerdo (D-E) entre as populações amostradas de *Drosophila antonietae*.....53
- Tabela 5:** Tamanho amostral (com réplicas), média da diferença do lado direito e esquerdo em milímetros (\pm SE, erro padrão) e testes de normalidade Shapiro-Wilk (W), Obliquidade (S) e Curtose (K).....54
- Tabela 6:** Tamanho amostral (com réplicas), média da diferença do lado direito e esquerdo em milímetros (\pm SE, erro padrão) e testes de normalidade Shapiro-Wilk (W), Obliquidade (S) e Curtose (K), após a correção dos dados para assimetria direcional.....55
- Tabela 7:** Análise de variância mista de Procrustes nas populações de *Drosophila antonietae* amostradas.....56
- Tabela 8 :** Análise de variância do índice de Assimetria Flutuante AF18* entre as populações de *D. antonietae*. O índice AF18 (sensu Palmer & Strobeck 2003) é calculado com a seguinte expressão: $AF18 = \sqrt{\sum(X_{y_{iR}} - X_{y_{iL}})^2}$57
- Tabela 9:** Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Itirapina. Todos os valores foram

multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.....58

Tabela 10: Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Serrana. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.....59

Tabela 11: Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Cantagalo. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.....60

Tabela 12: Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Guarapuava. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.....61

Tabela 13: Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Santiago. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.....62

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Mapa com as localidades onde *Drosophila antonietae* foi coletada. **SE** – Serrana/SP; **IT** – Itirapina/SP; **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.....63
- Figura 2** – Edeago de um macho de *Drosophila antonietae*.....64
- Figura 3** – Imagem da asa de *Drosophila antonietae* mostrando a posição dos 12 marcos anatômicos utilizados nesta dissertação.....64
- Figura 4** – Média da assimetria (círculos) e desvio padrão (barras verticais) do tamanho do centróide nas populações de *Drosophila antonietae*. **IT** – Itirapina/SP; **SE** – Serrana/SP, **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.. **IT** – Itirapina/SP; **SE** – Serrana/SP, **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.....65
- Figura 5** – Distribuição da diferença entre o lado direito e esquerdo D – E (mm) para cada população analisada.....66
- Figura 6** – Distribuição da diferença entre o lado direito e esquerdo D – E (mm) para cada população analisada, após correção pela assimetria direcional.....67
- Figura 7** – Média da assimetria (círculos) e desvio padrão (barras verticais) do tamanho do centróide nas populações de *Drosophila antonietae* após a correção para assimetria direcional. **IT** – Itirapina/SP; **SE** – Serrana/SP, **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.....68
- Figura 8** – Média do índice de assimetria flutuante ($AF18 = \sqrt{\sum(XY_{iR} - XY_{iL})^2}$), representada pelos círculos, com o desvio padrão, representado pelas barras verticais, da forma da asa das populações de *D. antonietae*. **SE** – Serrana/SP, **IT** – Itirapina/SP; **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.....69

Figura 9 – Componente de variância do efeito lado para cada marco anatômico da ANOVA de Procrustes das população de *Drosophila antonietae*. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.....70

Figura 10 – Componente de variância do efeito indivíduo para cada marco anatômico da ANOVA de Procrustes das população de *Drosophila antonietae*. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.....71

Figura 11 – Componente de variância do efeito interação lado x indivíduo para cada marco anatômico da ANOVA de Procrustes das população de *Drosophila antonietae*. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.72

Figura 12 – Componente de variância do efeito erro para cada marco anatômico da ANOVA de Procrustes das população de *Drosophila antonietae*. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.....73

RESUMO

Padrões de assimetria ao longo da distribuição geográfica de *Drosophila antonietae* Tindon-Sklors & Sene

Ao longo da distribuição geográfica de uma espécie, a dinâmica das populações muda do centro para a periferia. Trabalhos demonstram que as populações periféricas apresentam maior nível de assimetria que as populações do centro, no entanto, outros trabalhos demonstram que algumas espécies não respondem, em níveis de assimetria, a um gradiente geográfico. Sendo assim, esse estudo tem como objetivo analisar a assimetria em *Drosophila antonietae* ao longo de sua distribuição geográfica. Especificamente foram testados quais tipos de assimetria estão presentes nas populações de *D. antonietae* e se existe uma diferença na resposta, em termos de assimetria, entre populações do centro e da periferia. Para isso, a assimetria da forma e do tamanho da asa foram analisadas dentro do contexto da morfometria geométrica, em cinco populações de *D. antonietae*: Serrana-SP, Itirapina-SP, Guarapuava-PR, Cantagalo-PR e Santiago-RS. Os resultados, demonstram que *D. antonietae* apresenta diferentes tipos de assimetria ao longo de sua distribuição geográfica. Todas as populações apresentaram assimetria flutuante e direcional, entretanto, as populações de Serrana e Santiago demonstraram uma possível antissimetria. No entanto, as populações do centro e da periferia, não apresentaram diferença no nível de assimetria como encontrado em outros trabalhos. Esse resultado possivelmente está relacionado com o desenvolvimento de *D. antonietae* em associação com o cactus *C. hildmannianus*, como também devida a fragmentação das populações ao longo da distribuição geográfica.

Palavras-Chave: Diptera, Morfometria geométrica, Método de Procrustes, Hipótese centro-periferia

ABSTRACT

Asymmetry patterns along the geographic distribution of *Drosophila antonietae* Tindon-Sklors & Sene

Along the geographical distribution of a species, the dynamics of populations change from the centre to the periphery. Some research results demonstrated that peripheral populations have higher level of asymmetry than center populations. However, other studies showed that some species do not respond, in levels of asymmetry, to a geographical gradient. Therefore this study aims to analyze the asymmetry in *Drosophila antonietae* along their geographical distribution. Specifically we asked: which types of asymmetry are present in populations of *D. antonietae* and if is there a difference in response, in terms of asymmetry, between populations from the center and periphery. Therefore, the asymmetry of the shape and size of the wing was analyzed within the framework of geometric morphometry in five populations of *D. antonietae*: Serrana-SP, Itirapina-SP, Guarapuava-PR, Cantagalo-PR and Santiago-RS. The results showed that *D. antonietae* have different types of asymmetry along their geographical distribution. All population demonstrated fluctuating and directional asymmetry but the populations of Serrana and Santiago also demonstrated a possible antisimetry. Regarding geographical variation on asimetry levels, the individuals of the centre and the periphery, did not show differences. This result could be related to the development of *D. antonietae* in association with the cacti *C. hildmannianus* or also due to fragmentation of populations along the geographic distribution.

Keywords: Diptera, Geometric Morphometrics, Procrustes Methods, centre-periphery hypothesis

1 – INTRODUÇÃO

Em geral, a distribuição geográfica é um produto tanto de fatores históricos quanto ecológicos. Em uma visão histórica, os organismos estão presentes nas áreas devido a restrições filogenéticas impostas pelo mecanismo de especiação, ou seja, a área utilizada seria uma característica considerada como sendo um produto histórico (Jablonski, 1987). Por outro lado, em uma visão ecológica, a distribuição da espécie seria produto das interações entre o meio ambiente e as populações, podendo ser delimitada por fatores ecológicos como clima e competição com outras espécies, os quais impedem a ampliação da área ocupada (Hoffmann *et al.*, 2003; Ayrinhac *et al.*, 2004).

Normalmente, ao longo da distribuição geográfica uma espécie se confronta com diferentes ambientes e climas, o que pode vir a refletir em diferentes níveis de pressões e estresse. Essas diferenças ambientais, ao longo da distribuição geográfica, podem afetar características genéticas e fenotípicas (Alves e Bélo, 2002; Hoffmann *et al.*, 2003). Considerando-se as variações intraespecíficas, estas respostas a fatores espacialmente delimitados podem gerar discontinuidades fenotípicas ou genéticas ao longo da distribuição.

As análises de modelos morfológicos do desenvolvimento demonstram a interação de um conjunto de diferentes componentes do corpo para produzir uma estrutura funcional sob determinadas condições. No entanto, esta estabilidade pode ser quebrada durante o desenvolvimento, sendo que o resultado se dará no fenótipo produzido (Hosken *et al.*, 2000; Juste *et al.*, 2001). A instabilidade no desenvolvimento tem sido atribuída a vários grupos de estressores como: variações nutricionais, temperatura, densidade da população, substâncias

poluentes e fragmentação de habitat (Moller & Swaddle, 1997, Lens *et al.*, 1999).

Considerando que o fenótipo é onde o resultado da perturbação será observado, a presença destas alterações indicaria que o organismo está sob a pressão de algum tipo de estressor. Neste contexto vários marcadores morfológicos (tamanho e forma das asas), histológicos (lesões em tecidos) e mesmo reprodutivos tem sido usados (índices gonadossomáticos).

Dentre os marcadores morfológicos o padrão de simetria de estruturas bilaterais dos organismos tem sido extensivamente utilizado (Moller & Swaddle, 1997). A idéia, para utilizar este marcador, é de que os dois lados estão sob controle da mesma via genética durante o desenvolvimento e então, qualquer assimetria deveria ser produto de distúrbios locais que quebrariam a homogeneidade do desenvolvimento (Hosken *et al.*, 2000).

A assimetria de um organismo pode ser descrita pela freqüência da distribuição da diferença entre os lados direito e esquerdo. No geral, três tipos principais de assimetria bilateral têm sido descritas, sendo essas a assimetria flutuante (AF), assimetria direcional (AD) e antissimetria (Palmer 1994; Kark, 2001; Palmer & Strobeck, 2003). A assimetria flutuante é um modelo de variação onde os desvios da simetria (diferença entre o lado esquerdo e direito) são distribuídos próximos a uma média zero (Leamy *et al.*, 2001, Juste *et al.*, 2001), sendo aleatórios e não direcionais (Kark, 2001, Palmer & Strobeck, 2003). No entanto, os desvios podem ser distribuídos em uma direção preferencial o que produz os outros dois tipos de assimetria: a assimetria direcional e a antissimetria. A assimetria direcional demonstra a tendência para o desenvolvimento excessivo de um lado específico em relação ao outro apresentando uma distribuição média diferente de zero. Já a antissimetria ocorre quando um lado é usualmente maior

que o outro, contudo, em casos extremos de antissimetria, a população demonstra uma distribuição bimodal da diferença entre o lado esquerdo menos o direito (Kark, 2001; Palmer, 1994), embora, menores graus de assimetria podem apresentar uma distribuição aparentemente unimodal, com um único pico muito amplo, determinada por uma distribuição platicúrtica (Palmer & Strobeck, 1992).

No entanto, mais de um tipo de assimetria pode ocorrer em traços morfológicos em uma mesma população, dessa forma, os três tipos de assimetria não podem ser considerados isoladamente (Palmer & Strobeck, 1992, Kark, 2001). Essa combinação de diferentes tipos de assimetria faz com que a distribuição da diferença entre o lado direito e esquerdo possa assumir várias formas. Assim, uma distribuição enviesada para um lado, pode ser o resultado de uma combinação de antissimetria e assimetria direcional para o mesmo traço na população (Palmer & Strobeck, 2003). Um outro tipo de distribuição da diferença $D - E$ denominada leptocurtose, é caracterizada por um pico estreito e uma longa cauda que pode ser derivado de várias causas. A primeira possibilidade é a combinação de indivíduos que apresentam assimetria flutuante e antissimetria, esse tipo de combinação é denominada leptocurtose do tipo I. A segunda é a combinação de indivíduos que apresentam alto níveis de assimetria com indivíduos que apresentam baixo nível de assimetria, esse tipo de combinação é denominado leptocurtose do tipo II. Por último, a distribuição tipo leptocurtose pode ocorrer por um efeito alométrico durante o desenvolvimento, o que depende do grau de tempo em que o corpo desenvolve simetria bilateral na ontogenia. Esse tipo de distribuição é denominada leptocurtose do tipo III (Palmer & Strobeck, 1992). Portanto, a ausência de normalidade da distribuição $D - E$ pode ser atribuída a combinações de assimetrias, sendo importante a análise dessa

distribuição para informar os tipos de assimetria que ocorrem em um determinado caractere na população.

Entre os três tipos de assimetria, a assimetria flutuante (AF) tem sido considerada uma medida da instabilidade no desenvolvimento (Palmer, 1994; Klingenberg & McIntyre, 1998; Leamy *et al.*, 2001), ou seja, da incapacidade dos organismos de responder efetivamente a fontes de estresse. Em geral, níveis altos de AF são associados com rompimentos genéticos originados pelo meio e com uma pequena capacidade dos indivíduos de atuar, durante seu desenvolvimento, contra os mecanismos desencadeados pelos fatores de estresse (Juste *et al.*, 2001). Agentes produtores de estresse como poluentes, toxinas, aumento da carga patogênica, endocruzamento excessivo e desenvolvimento em ambientes de bordas podem produzir altos níveis de assimetria flutuante (Gangestad & Thonnhill, 1999). Outros fatores que podem afetar a simetria são a restrição alimentar e o estresse climático, principalmente durante a ontogenia (Hosken *et al.*, 2000).

A assimetria flutuante é uma variação aleatória, que imaginava-se completamente relacionada ao ambiente (Palmer, 1994) e que no entanto, possui uma base genética ainda desconhecida mas com herdabilidades próximas a zero, 0,026 (Fuller & Houle, 2002; Leamy & Klingenberg, 2005). Diferente da Assimetria Flutuante, as outras duas formas de assimetria são causadas em parte por componentes genéticos e em parte por componentes relacionados ao ambiente (Palmer & Strobeck, 2003, Van Dongem, 1998) dificultando relacioná-las claramente com a instabilidade do desenvolvimento, e portanto, de seu uso como indicadores (Palmer & Strobeck, 1992). No entanto, Graham *et al.* (1998 *apud* Kark, 2001) baseados em simulações e evidências empíricas, sugeriram que os

três tipos de assimetria são relacionados e há um contínuo entre esses tipos. Desta forma, a transição de assimetria flutuante para assimetria direcional ou antissimetria pode refletir uma instabilidade severa no desenvolvimento. Esse resultado pode implicar que a assimetria direcional, a antissimetria e a assimetria flutuante, podem refletir a resposta ao estresse no desenvolvimento de caracteres bilaterais. No entanto, essa relação ainda não está bem esclarecida.

A relação entre assimetria flutuante e mecanismos produtores de estresse também não está solidificada, aliás, com uma série de resultados conflitantes. No entanto, com relação a distribuição geográfica dos organismos, experimentos de laboratório sugerem que um estresse severo, o qual é esperado nos limites da distribuição geográfica, pode causar um aumento no nível de AF (Lens, 1999). No geral, a medida que se analisa uma espécie em relação a sua distribuição geográfica, a dinâmica das populações tende a mudar do centro para a periferia da distribuição (Brown, Stevens & Kaufmann, 1996; Kark, 2004).

Testando essa hipótese, Kark (2001) estudou 11 populações de uma espécie do perdiz *Alectoris chuckar* (Potts, 1988) ao longo da distribuição geográfica em Israel obtendo como resultado um aumento da proporção de indivíduos assimétricos do centro para a periferia, como também, uma tendência das populações periféricas apresentarem um maior nível de assimetria direcional e antissimetria. Esse resultado demonstra a mudança na magnitude e no modelo de assimetria do centro para a periferia, e em adição evidencia que as mudanças entre os três tipos de assimetria podem ocorrer em um carácter morfológico ao longo da distribuição de uma espécie. Dessa forma, esse trabalho tem como resultado principal que a mudança na expressão da assimetria direcional e antissimetria nas populações da periferia podem refletir um aumento do estresse

no ambiente e conseqüentemente um aumento da instabilidade no desenvolvimento, corroborando a hipótese que o nível de estresse no desenvolvimento é maior na periferia do que no centro da distribuição geográfica.

Embora existam estudos em que a assimetria varia do centro para a periferia em algumas espécies, outras não demonstram essa característica. Neste sentido, Kark *et al* (2004), analisou a assimetria, ao longo da distribuição geográfica, de duas espécies de borboletas do gênero *Euchloe* spp., em Israel. Os resultados desse estudo demonstraram que o nível de assimetria não diferiu do centro para a periferia, contrariando o modelo apresentado por pássaros no mesmo gradiente geográfico. A questão levantada foi de que a distribuição geográfica dessas duas espécies são limitadas pela distribuição de suas plantas hospedeiras e não por variáveis climáticas. Dessa forma, esse estudo demonstrou que o conhecimento das características da história de vida e os fatores que limitam a distribuição geográfica das espécies são importantes para o entendimento da relação entre a variação espacial e a instabilidade do desenvolvimento.

Outra situação que pode resultar em um aumento do nível de assimetria flutuante é a fragmentação do habitat natural dos organismos. Nesse contexto, Lens (1999) analisou o efeito da fragmentação do habitat natural em sete espécies de pássaros restritos a floresta de Taita Hills no Sudeste do Kenia. Ele comparou os níveis de assimetria desses pássaros coletados atualmente em fragmentos dessa floresta, com espécimes de museu coletados a mais de cinquenta anos, antes da fragmentação da floresta. Os resultados de seu trabalho demonstraram um aumento no nível de assimetria flutuante decorrente do nível de fragmentação das florestas, dando a idéia de que a fragmentação do habitat

natural pode ocasionar um estresse nesses organismos, afetando o seu desenvolvimento, reforçando a hipótese que o do nível de assimetria flutuante de uma população pode ser utilizado como um indicador de estresse ambiental.

As questões acima destacam as idéias de que as espécies lidam com níveis diferentes de estresse, ao longo da sua distribuição geográfica e que é possível avaliar tais variações através de análises de assimetria. Existem muitas formas de analisar a assimetria de uma espécie (Palmer, 1994; Lens *et al.*, 1999; Palmer & Strobeck, 2003). Estudos de assimetria em morfometria convencional utilizam medidas lineares ou discretas das estruturas, as quais são comparadas parte a parte, no entanto, a informação geométrica sobre a forma geralmente é perdida (Monterio & Reis, 1999). Entretanto, uma nova técnica baseada no Método de Procrustes vem sendo utilizada para estudos de assimetria flutuante (Klingenberg & McIntyre, 1998). O Método de Procrustes está baseado nos conceitos de Morfometria Geométrica, onde uma estrutura é analisada através de uma configuração de marcos anatômico (Monteiro & Reis, 1999). Assim, o estudo da forma geométrica é realizado através de um mapeamento dos pontos distribuídos ao longo dessa estrutura e, portanto, é considerado uma ferramenta mais robusta para estimar índices de instabilidade no desenvolvimento (Palmer & Strobeck, 2003).

No gênero *Drosophila*, existem evidências fortes de variação geográfica latitudinal em vários marcadores morfológicos quantitativos como tamanho do corpo, tamanho e forma das asas (Gilchrist *et al.* 2001; Hoffman e Shirriffs, 2002; Griffith *et al.*, 2005), além de caracteres bionômicos (James & Partridge, 1998). No entanto a maioria dos estudos foi realizada com espécies cosmopolitas e ainda existe muita pouca informação disponível sobre espécies com distribuição restrita

por habitats (Griffith *et al.*, 2005). Sendo assim, um bom modelo de estudo é dado pela espécie cactofílica *Drosophila antonietae* Tindon-Sklorz & Sene, 2001, a qual é endêmica da América do Sul, ocorrendo na Região Sudeste e Sul do Brasil e ao norte da Borda Leste do Chaco Argentino. A presença de *D. antonietae* está associada com ilhas de ocorrência do cactus *Cereus hildmannianus* K. Schum. (Mateus & Sene, 2003), o que produz uma distribuição geográfica fragmentada.

Apesar da distância geográfica entre essas populações e a pequena capacidade de dispersão de *D. antonietae* (Mateus, 2001; Mateus & Sene, 2006), ainda há dúvida sobre o isolamento dessas populações. Nesse contexto, Mateus & Sene, (2006), utilizando isoenzimas como marcadores moleculares analisaram 11 populações de *D. antonietae* ao longo da distribuição geográfica. Os resultados demonstraram que as populações apresentam alto nível de variabilidade genética e uma moderada diversidade genética entre as populações, levantando a hipótese que há um moderado nível de fluxo gênico e deriva genética nessas populações. No entanto, nesse mesmo trabalho, esses autores levantam a hipótese de outros dois possíveis processos para explicar essa moderada diferenciação. O primeiro é um curto período de diferenciação e/ou manutenção de polimorfismo ancestral e o segundo é a ação da seleção natural, como também a possibilidade de uma combinação entre esses processos. Dessa forma, ainda não está totalmente esclarecido a dinâmica entre as populações de *D. antonietae* ao longo da distribuição geográfica.

Dessa forma, dada a característica de *D. antonietae* apresentar suas populações fragmentadas em ilhas de ocorrência do cactus *Cereus hildmannianus*, esta dissertação tem como objetivo geral avaliar a assimetria em *D. antonietae* ao longo de sua distribuição geográfica. Especificamente serão

testados quais os tipos de assimetria estão presentes nas populações de *D. antonietae* e se existe uma diferença na resposta, em termos de assimetria, entre populações do centro e da periferia.

2 – MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Coletas

Para analisar a assimetria flutuante em *D. antonietae*, foram coletados indivíduos de 5 populações nas seguintes localidades: Itirapina-SP, Serrana-SP, Cantagalo-PR, Guarapuava-PR e Santiago-RS (Tabela 1, Figura 1). As localidades de Itirapina-SP e Serrana-SP representam as populações da borda norte da distribuição geográfica de *D. antonietae*, enquanto as localidades de Cantagalo-PR, Guarapuava-PR representam as populações do centro da distribuição geográfica e por conseguinte, a localidade de Santiago-RS representa a população da borda sul da distribuição geográfica.

Em cada localidade os indivíduos adultos foram coletados em áreas de ocorrência de vegetação xerofítica. As coletas foram realizadas utilizando armadilhas do tipo Ferreira (1978) utilizando como isca pedaços de banana e laranja misturados com fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*). As armadilhas foram colocadas próximas aos cactos *Cereus hildmannianus*, a uma altura média de 1,5 metros, sendo deixadas no local durante três dias (Sene *et al.*, 1981). Após este período, os Drosophilidae foram coletados e colocados em tubos contendo meio de cultura (quirera/agar) e transportadas ao laboratório.

No laboratório as moscas foram anestesiadas em gás carbônico (CO₂) e triadas. As características diagnósticas no grupo repleta são relacionadas com o edeago dos machos (Tindon-Sklorz & Sene, 2001). Assim foram feitos dois procedimentos para a separação de *D. antonietae*: o primeiro consistiu na triagem dos machos pela análise da forma do edeago, que fica evertido após a anestesia (Figura 2) e a segunda, a criação individualizada de todas as fêmeas do grupo

repleta para obtenção de F1. Então, os machos oriundos desta geração indicaram qual fêmea era da espécie *D. antonietae*.

Muitas fêmeas provenientes do campo não realizaram a postura em laboratório, não sendo possível, dessa forma, a identificação em nível específico. Portanto, o número de fêmeas identificadas foi reduzido (Tabela 2) e por esse motivo, na análise de assimetria flutuante, foram utilizados somente os machos de *D. antonietae*.

2.2 - Aquisição dos dados

Como marcador morfológico foram utilizadas as asas direita e esquerda dos machos de *D. antonietae*. A escolha deste marcador foi feita devido à identificação clara de marcos homólogos representados pelas, pela boa compreensão do padrão de desenvolvimento (Hoffman & Shirriffs, 2002; Griffiths *et al.*, 2005).

Após a coleta e identificação dos espécimes de *D. antonietae*, as asas foram retiradas e montadas entre lâmina e lamínula usando glicerina para produzir lâminas semi-permantes. Estas asas foram então digitalizadas através de um sistema de captura de imagem (utilizando uma câmera Sony) acoplado a um microscópio estereoscópico, sendo as imagens capturadas em um aumento de 15X.

Após a captura das imagens, foram colocados doze marcos anatômicos do tipo I na região dorsal das asas (Figura 3) usando o programa TPSDig 2.04 (Rohlf, 2006). Segundo Monteiro & Reis (1999) o marco anatômico do tipo I é definido como um ponto no espaço onde três estruturas se encontram, ou seja, uma justaposição de tecidos, o que no caso das asas de *D. antonietae*

corresponde as interseções das veias, como descrito a seguir: Marco 1 – interseção entre as veias Costa e humeral; Marco 2 - interseção entre as veias Costa e Rádio₂₊₃; Marco 3 – interseção entre as veias Costa e Rádio₄₊₅; Marco 4 – interseção entre as veias Costa e Media₁₊₂; Marco 5 – interseção entre as veias Costa e Media₃+Cubital₁; Marco 6 – interseção entre as veias Media₃+Cubital₁ e mediana; Marco 7 – interseção entre as veias Media₁₊₂ e mediana; Marco 8 – interseção entre as veias Média₁₊₂ e rádio-mediana; Marco 9 – interseção entre as veias Rádio₄₊₅ e rádio-mediana; Marco 10 – interseção entre as veias Rádio₂₊₃ e Rádio₄₊₅ ou bifurcação da veia Setor Radial; Marco 11 – Bifurcação da veia Média; Marco 12 – interseção entre as veias Média₃+Cubital₁ e Anal₁. Dessa forma, cada marco anatômico corresponde a uma coordenada xy num plano cartesiano, sendo que, cada asa é representada por uma matriz com 12 coordenadas xy, correspondente aos doze marcos anatômicos. Para medir o efeito do erro durante o processo marcação, os pontos foram marcados, em cada asa, três vezes pela mesma pessoa em dias diferentes.

2.3 - Morfometria geométrica

No arcabouço teórico desenvolvido para a morfometria geométrica a forma é definida como todas as propriedades de uma configuração de pontos que não se alteram por efeitos de tamanho, posição e sentido (Monteiro & Reis, 1999). A variável da forma nas asas foi obtida através do Método de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes (Klingenberg & McIntyre, 1998; Monteiro & Reis, 1999). O método de Procrustes consiste basicamente em quatro etapas: Na primeira etapa a configuração de marcos anatômicos de um lado do corpo é refletida. Na segunda etapa as configurações das asas esquerdas e direitas são

superpostas, eliminando dessa forma, o efeito indesejável de posição. Na terceira etapa, o tamanho do centróide de cada configuração é proporcionado para 1, eliminando assim o efeito indesejável do tamanho. Por último, as configurações superpostas e proporcionadas, são rotacionadas de modo que os marcos anatômicos correspondentes se ajustem pela menor distância quadrada possível, retirando dessa maneira o efeito indesejável da orientação nas coordenadas.

Para realizar a primeira etapa a configuração de marcos anatômicos de um lado do corpo deve ser refletida. Isso é realizado mudando o sinal de todas as coordenadas x das configurações de marcos anatômicos de um dos lados do corpo (Klingenberg & McIntyre, 1998). No presente trabalho as asas de *D. antonietae* do lado esquerdo foram refletidas. Após as configurações das asas esquerdas terem sido refletidas, as configurações de todas as asas, direitas e esquerdas, foram reunidas em uma única matriz de dados para cada população. Essa matriz geral, contendo as configurações das asas do lado direito e esquerdo e as réplicas em cada população, foi utilizada nas etapas subseqüentes.

A superposição das configurações, conhecida como translação, pode ser realizada deslocando o centróide (ponto médio) de cada configuração para a origem do sistema de eixos cartesiano. A nova posição das configurações nos eixos cartesianos pode ser obtida por

$$\mathbf{X}_t = (\mathbf{I} - \mathbf{P}) \mathbf{X}_i \quad (1)$$

onde \mathbf{I} é a matriz identidade de ordem $p \times p$, e \mathbf{P} é a matriz de ordem $p \times p$ com todos os elementos igual a $1/p$ e \mathbf{X}_i é a matriz de coordenadas originais de cada configuração de marcos anatômicos, onde as linhas representam os marcos

anatômicos e as colunas as coordenadas x e y para cada marco (Monteiro & Reis, 1999). Como o processo de translação centra as configurações na origem dos eixos, o efeito da posição, antes presente entre essas configurações, é eliminado.

A etapa da proporcionalização consiste em padronizar o tamanho de todas as configurações. O tamanho no contexto da morfometria geométrica é estimado pelo tamanho do centróide de uma configuração de marcos. O centróide é caracterizado como o ponto médio ou centro de massa de uma configuração de marcos, ele é dado pela média das coordenadas nos eixos x e y. Dessa forma, o tamanho do centróide é obtido calculando a raiz quadrada da soma das distâncias quadradas de um grupo de pontos até o seu centróide (Klingenberg & McIntyre, 1998; Monteiro e Reis, 1999), sendo representado pela seguinte equação:

$$\|\mathbf{V}_c\| = \sqrt{(d_1)^2 + (d_2)^2 + \dots + (d_p)^2} \quad (2)$$

Onde, \mathbf{V}_c é módulo do comprimento do vetor centróide, d_p é a distância do marco anatômico até o centróide. Em uma notação matricial, o cálculo do tamanho do centróide pode ser realizado da seguinte forma:

$$s_i = \sqrt{\text{tr}[(\mathbf{I} - \mathbf{P}) \mathbf{X}_i \mathbf{X}_i^T (\mathbf{I} - \mathbf{P})]} \quad (3)$$

A notação *tr* representa o traço da matriz, que é dado pela soma dos elementos da diagonal. A utilização do tamanho do centróide como variável de tamanho padrão em todas as análises geométricas é justificada pelo fato do tamanho do centróide ser a única variável de tamanho que não se correlaciona com a forma, portanto sem dependência alométrica (Monteiro & Reis, 1999).

A proporcionalização das configurações é realizada igualando o tamanho do centróide de cada configuração a 1 (Monteiro & Reis, 1999). Isso pode ser realizado dividindo o valor de cada coordenada pelo tamanho do centróide s_i , conforme apresentado pela seguinte notação

$$\mathbf{X}_{itp} = (\mathbf{I} - \mathbf{P}) \mathbf{X}_i / s_i \quad (4)$$

Dessa forma, todas as configurações estão centradas na origem e possuem o centróide com o tamanho 1, sem o efeito de posição e tamanho.

Por fim, a rotação tem como finalidade remover o efeito de orientação das coordenadas, de maneira que os marcos correspondentes das configurações apresentem a menor distância possível entre eles. A rotação é realizada variando o ângulo das configurações em relação a um referencial, de forma a minimizar a soma das distâncias quadradas entre os marcos correspondentes das configurações (Monteiro & Reis, 1999). O melhor ângulo de rotação pode ser realizado obtendo a matriz de rotação \mathbf{H} pelo método dos quadrados mínimos ortogonal, segundo a fórmula

$$\mathbf{H} = \mathbf{V}\mathbf{S}\mathbf{U}^T \quad (5)$$

onde \mathbf{V} e \mathbf{U} são matrizes ortogonais de rotação $k \times k$, onde k é o número de dimensões onde os marcos foram coletados, obtidas pelo valor singular

$$\mathbf{X}_1^T \mathbf{X}_2 = \mathbf{U} \mathbf{\Sigma} \mathbf{V}^T \quad (6)$$

onde \mathbf{X}_1 e \mathbf{X}_2 são matrizes de coordenadas de marco anatômicos e a matriz \mathbf{S} é uma matriz identidade obtida da matriz Σ através da chamada *função sinal*. Esta função transforma a matriz Σ na matriz identidade \mathbf{S} , preservando o sinal dos elementos da diagonal (Monteiro & Reis, 1999).

A menor soma possível das distâncias quadradas entre as coordenadas correspondentes de cada configuração é obtida rotacionando a configuração \mathbf{X}_{itp} , que corresponde a matriz translada e proporcionada, através da seguinte fórmula

$$\mathbf{X}_{itpr} = \mathbf{X}_{itp} \mathbf{H} \quad (7)$$

O produto da matriz translada e proporcionada \mathbf{X}_{itp} pela matriz de rotação \mathbf{H} , faz com que todos os marcos no plano cartesiano sofram uma rotação com o mesmo ângulo θ (Nicola, 2002).

O ajuste generalizado de Procrustes é realizado utilizado como referencial a configuração média, denominada configuração de consenso. Dessa forma, cada espécime da amostra é superposto com a configuração de consenso de modo a minimizar a distancia quadrada entre os marcos das configurações. O cálculo da configuração média ou consenso pode ser realizada da seguinte maneira: uma configuração da amostra é escolhida arbitrariamente para inicialmente ser a configuração de referencia. Todas as configurações da amostra são superpostas nesta primeira configuração. Calcula-se uma média para as coordenadas resultantes desta primeira superposição e o mesmo processo é repetido utilizando a média como referencia. Uma nova média é calculada e o processo é repetido até que haja a convergência para um valor único (Monteiro & Reis, 1999).

Dessa forma, as configurações finais das espécies alinhadas \mathbf{X}_{itpr}

constituem um grupo de variáveis que dizem respeito somente a forma das estruturas dessas espécies, pois os efeitos de posição, tamanho e orientação foram retirados através da superposição, proporcionalização e rotação das configurações (Monteiro & Reis, 1999). Desta maneira, a assimetria da forma pode ser medida como o desvio do alinhamento entre as configurações do lado esquerdo e direito (Klingenberg & McIntyre, 1998).

As análises do Método de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes foram realizadas através do programa TPSRelw 1.45 (Rohlf, 2007).

2.4 - Assimetria no tamanho da asa

Inicialmente o valor do tamanho do centróide de cada espécime foi transformado de pixels para milímetros. Para isso uma lâmina de microscopia milimetrada foi fotografada na mesma escala as asas, proporcionando, dessa maneira, avaliar quantos pixels correspondiam a um milímetro. Posteriormente todas os indivíduos tiveram os valores em pixels de seus centróides divididos pelo valor em pixels correspondente a um milímetro, sendo dessa forma realizada a conversão de pixels para milímetros.

Os procedimentos para a análise da assimetria no tamanho da asa foram desenvolvidos segundo as metodologias de Palmer (1994), Klingenberg & McIntyre (1998) e Palmer & Strobeck, (2003). Para analisar a assimetria no tamanho da asa em *D. antonietae*, para cada população foi realizado um teste de Análise de Variância Mista - ANOVA mista (Palmer, 1994; Klingenberg & McIntyre, 1998; Palmer & Strobeck, 2003), onde o tamanho do centróide foi tratado como uma variável dependente, o lado do corpo como um efeito fixo e os indivíduos como um efeito aleatório. Dessa forma, o efeito do indivíduo consiste

em variação individual de tamanho, o efeito do lado corresponde a assimetria direcional (onde um lado é significativamente maior que o outro); o termo da interação entre lado e indivíduo é a medida de assimetria flutuante (a variação aleatória na diferença entre os lados direito e esquerdo entre os indivíduos) e o resíduo, que é a variabilidade entre as réplicas, é tratado como a medida do erro (Klingenberg & McIntyre, 1998). Para se obter o valor de F para o efeito do lado e dos indivíduos, foi utilizado como denominador a interação entre lado X indivíduo, e para o valor de F da interação lado X indivíduo foi utilizado como denominador a medida do erro (Palmer, 1994; Klingenberg & McIntyre, 1998). Foi calculada a contribuição dos efeitos indivíduo, interação lado X indivíduo e erro, para a variação total no tamanho da asa. Como o efeito lado foi tratado como uma variável fixa, sua contribuição para a variação no tamanho da asa não foi calculada, porque foi observado que uma variável fixa não gera uma variação verdadeira (Schneider *et al.*, 2003).

Em cada população, a antissimetria foi averiguada através da observação dos histogramas da distribuição da diferença do lado direito e esquerdo. Para avaliar uma possível combinação entre os tipos de assimetria, foram realizados os teste de normalidade Shapiro-Wilk, como também o teste para curtose e obliquidade para a distribuição da diferença entre o centróide do lado direito e esquerdo (D-E).

Para analisar se existe diferença na magnitude da assimetria, entre as populações, foi feita uma ANOVA de um fator utilizando a diferença entre o lado direito e esquerdo como variável dependente e população como variável preditora.

A diferença entre o lado direito e esquerdo (D - E), pode ser fortemente

influenciado pela assimetria direcional (Palmer 1994), dessa forma, uma correção para a assimetria direcional pode ser realizada, subtraindo a metade da média da diferença D-E para o lado que apresenta o maior tendência de assimetria, e somando a metade da média da diferença D-E para o lado que apresenta a menor tendência de assimetria, e após isso, calcula-se novamente a diferença entre os lados. No caso de *D. antonietae*, a assimetria direcional tende para o lado esquerdo (Tabela 5), dessa forma, a correção para a assimetria direcional para cada população foi realizada através da seguinte equação:

$$D-E_{\text{corrigido DA}} = (D + \frac{1}{2} x) - (E - \frac{1}{2} x) \quad (8)$$

onde, D é o tamanho do centróide direito, E é o tamanho do centróide esquerdo e x é a média da diferença entre o centróide direito e o esquerdo (D-E).

2.5 - Assimetria na forma da asa

Para analisar a assimetria nas populações as configurações das espécies alinhadas foram utilizadas em uma ANOVA de Procrustes (Klingenberg & McIntyre, 1998; Palmer & Strobeck, 2003), onde o lado do corpo foi tratado como um efeito fixo e os indivíduos como um efeito aleatório. Dessa forma, o efeito do indivíduo consiste em variação individual da forma, o efeito do lado corresponde à assimetria direcional (onde um lado é significativamente maior que o outro), o termo da interação entre lado X indivíduo é a medida de assimetria flutuante (a variação aleatória na diferença entre os lados direito e esquerdo entre os indivíduos) e o resíduo, que é a variabilidade entre as réplicas, é tratado como a medida do erro (Klingenberg & McIntyre, 1998). Neste caso, se a interação lado X

indivíduo for significativo indica que a assimetria flutuante é maior do que se espera por acaso (erro) e dessa forma a análise da assimetria pode prosseguir (Schneider *et al.*, 2003). Para se obter o valor de F para o efeito do lado e dos indivíduos, foi utilizado como denominador a interação entre lado X indivíduo, e para o valor de F da interação lado X indivíduo foi utilizado como denominador a medida do erro (Palmer, 1994; Klingenberg & McIntyre, 1998). Como realizado na análise do tamanho da asa, também foi calculado a contribuição dos efeitos indivíduo, interação lado X indivíduo e erro, para a variação total na forma da asa. Como o efeito lado foi tratado como uma variável fixa, sua contribuição para a variação na forma da asa não foi calculada.

Na ANOVA de Procrustes a soma dos quadrados é calculada adicionando os quadrados de todas as coordenadas x e y , e os graus de liberdades são obtidos pela multiplicação dos graus de liberdade de cada fator pelo total de número de dimensões do espaço forma (Klingenberg & McIntyre, 1998; Schneider *et al.*, 2003). Dessa forma, em cada população, os dados das configurações foram organizados em uma matriz. As configurações das asas foram refletidas e uma Análise pelo Método de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes foi realizada. Dessa maneira, as coordenadas das espécies alinhadas obtidas pelo Método de Procrustes foram utilizadas para realização da ANOVA de Procrustes. Sendo assim, para cada coordenada x e y foi realizada separadamente uma ANOVA de dois fatores (Palmer, 1994; Palmer & Strobeck, 2003), sendo o lado do corpo tratado como um efeito fixo e os indivíduos como um efeito aleatório. Posteriormente foram somados os quadrados de cada um dos efeitos (Lado, indivíduo, interação do lado X indivíduo e erro) através das coordenadas x e y de todos os marcos anatômicos. O resultante dessa soma é a

soma dos quadrados de Procrustes, utilizados na ANOVA de Procrustes (Klingenberg & McIntyre, 1998). Para calcular os graus de liberdade da ANOVA de Procrustes, multiplica-se os graus de liberdade de cada efeito pelo número total de dimensões, que é dado pela seguinte fórmula:

$$pk - k - k(k-1) \quad (9)$$

Onde: p é o número de marcos anatômicos da configuração e k é o número de dimensões em que os dados foram coletados (Monteiro & Reis, 1999). No caso das asas de *D. antonietae*, foram utilizados 12 marcos anatômicos e os dados foram coletados em 2 dimensões, dessa forma, $p = 12$ e $k = 2$, e o número de dimensões do espaço forma é 20.

Para avaliar a antissimetria na forma da asa, foram feitos de gráficos de dispersão para a diferença entre os lados direito e esquerdo para cada marco. Nesses gráficos, foi observado se houve a formação de agrupamentos de pontos. A formação de agrupamento de pontos nessa distribuição, seria o equivalente a distribuição bimodal da diferenças entre D-E e sugere, conseqüentemente, a presença de antissimetria (Klingenberg & McIntyre, 1998; Klingenberg et al., 1998)

Para verificar a variação na assimetria flutuante entre essas populações, o índice individual de assimetria flutuante AF18 (Palmer & Strobeck, 2003) foi utilizado em uma ANOVA de um fator tendo como variável resposta o valor do índice de AF18 e variável preditora a população. Para calcular o índice de assimetria flutuante para marcos anatômicos AF18 realiza-se a subtração das coordenadas x e y da configuração alinhada pelo método de Procrustes do lado

esquerdo das correspondentes coordenadas do lado direito, soma as diferenças ao quadrado e calcula a raiz quadrada da soma resultante (Klingenberg & McIntyre, 1998). O índice de AF18 pode ser definido pela seguinte equação:

$$AF18 = \sqrt{\sum(XY_{iR} - XY_{iL})^2} \quad (10)$$

onde XY_{iR} são as coordenadas x e y para o marco i da asa direita, XY_{iL} São as coordenadas x e y para o marco i da asa esquerda, e $\sum(XY_{iR} - XY_{iL})^2$ é o somatório das diferenças entre todas coordenadas correspondentes de uma configuração de marcos (Palmer & Strobeck, 2003).

2.6 - Localização do Efeito

Para analisar o quanto da variação da forma é atribuída a cada marco anatômico, o quadrado médio de Procrustes para cada efeito foi decomposto para cada marco (Klingenberg & McIntyre, 1998). Para isso foram somados os quadrados médios das coordenadas x e y para cada marco e posteriormente, os componentes de variância para cada marco foram calculados em cada um dos efeitos da ANOVA de acordo com a média dos quadrados esperados segundo Palmer & Strobeck, (2003).

3 – RESULTADOS

3.1 - Assimetria no tamanho da asa

Todos os efeitos na ANOVA para o tamanho do centróide foram significativos em todas as populações (Tabela 3). A diferença entre o lado direito e esquerdo foi significativa, o que indica a presença de assimetria flutuante nas populações de *D. antonietae*. Também foi observada uma diferença significativa entre os indivíduos, o que representa uma variação individual do tamanho, sendo que esse efeito contribui com grande parte da variância total em todas as populações (Tabela 3). Da mesma forma, o efeito da interação lado X indivíduo no tamanho do centróide foi significativo, demonstrando que todas as populações apresentam assimetria flutuante. Esse efeito explica uma pequena parte da variação total, no entanto em todas as populações, essa variação é maior que a variação explicada pelo erro.

Os resultados da ANOVA para diferença entre o lado direito e esquerdo demonstraram que há uma diferença na resposta entre as populações de *D. antonietae* (Tabela 4). No entanto, quando testes a posteriori foram realizados, foi observado que as populações de Itirapina, Serrana, Cantagalo e Santiago não apresentam diferenças significativas no tamanho da asas entre elas. Entretanto, a população de Guarapuava, diferiu significativamente das demais populações, exceto pela população de Serrana (Figura 4). O menor nível de assimetria foi demonstrado pela população de Guarapuava (Tabela 5), enquanto para as demais populações as médias do tamanho não diferiram .

Os dados da diferença D-E não seguem uma distribuição normal (Tabela 5), sugerindo a presença de antissimetria. No entanto, a observação dos

histogramas da diferença entre os lados, não demonstra a presença desse tipo de assimetria (figura 5). Sendo assim, a não normalidade dos dados pode ter sido causada pela combinação de assimetria direcional e assimetria flutuante, já que todas as populações apresentaram esse tipo de assimetria (Tabela 3). A análise da obliquidade foi significativa para Santiago e a análise da curtose foi significativa para as populações de Serrana e Guarapuava (Tabela 5), sugerindo a possibilidade de uma combinação de diferentes tipos de assimetria nessas populações.

Dessa forma, a correção para assimetria direcional foi realizada e a normalidade dos dados foi novamente analisada. Mesmo após a correção pela assimetria direcional, as populações de Serrana e Santiago continuaram não apresentando normalidade nos dados (Tabela 6), esse resultado sugere que ambas populações apresenta também antissimetria, no entanto a distribuição da diferença D – E após a correção, não demonstra a tendência para antissimetria (Figura 6). Para avaliar a diferença na resposta em termos de assimetria entre as populações, foi realizada uma ANOVA tendo como variável resposta a diferença D-E corrigida para assimetria direcional e a população como variável preditora. Os resultados demonstraram que as populações não diferem mais do que o esperado por acaso ($F=0,08$; $P<0,988$; $GL=4;592$) (Figura 7).

3.2 - Assimetria na forma da asa

Em relação a forma da asa, todos os efeitos na ANOVA foram significativos em todas as populações (Tabelas 7). Novamente, como descrito na análise do tamanho da asa, todas as populações apresentaram diferenças significativas entre o lado direito e esquerdo, sugerindo a presença de assimetria direcional

nessas populações. A variação na forma da asa entre os indivíduos também foi significativa, e apesar de contribuir em grande parte da variação total (Tabela 7), é menor que a variação demonstrada para o efeito do indivíduo no tamanho do centróide. Em todas as populações o efeito da interação lado X indivíduo também foi significativo, o que demonstra a presença de assimetria flutuante na forma das asas nessas populações. A variação para o efeito da interação lado X indivíduo na forma da asa foi maior que a variação no tamanho do centróide em todas as populações, entretanto, a variação do erro também foi maior, aproximando-se da variação da interação lado X indivíduo (Tabela 7).

Em relação as populações, apesar da assimetria flutuante da forma aparentemente apresentar uma variação clinal (Figura 8), os resultados da ANOVA demonstraram que a assimetria flutuante não difere entre as populações de *D. antonietae* (Tabela 8), exceto pelas populações de Serrana e Santiago, que diferiram significativamente entre si.

Na análise dos gráficos de dispersão da diferença D-E para cada marco, demonstrou que todas as populações apresentaram uma distribuição normal.

3.3 - Localização do Efeito

Nenhum marco anatômico em especial demonstrou uma grande variação em todos os efeitos, não havendo dessa forma, um efeito “pinóquio” (*sensu* Klingenberg *et al.*, 1998) muito pronunciado. Na realidade, em cada efeito um grupo de marcos se destacou, em termos de maior variação em algumas populações (Tabelas 9, 10, 11, 12 e 13). No entanto, essa variação não foi constante entre os efeitos e entre as populações, sendo dessa forma mais informativo uma análise da variação de cada marco através de cada um dos

efeitos da ANOVA.

Dessa forma, quando a variação dos marcos anatômicos foi analisada, notou-se que para cada efeito da ANOVA um certo grupo de marcos apresentou uma maior variação entre as populações. A maior variação, em relação ao efeito do lado, é atribuída aos marcos 2, 4, 6 e 11. No entanto a variação desses marcos difere entre as populações. O marco 2 apresentou a maior variação para as populações de Itirapina, Serrana, Guarapuava e Santiago, enquanto que na população de Cantagalo, o marco 11 foi o marco com a maior variação (Figura 9). Quando é analisada a variação dos marcos para o efeito do indivíduo, nota-se que os marcos 2, 5, 6 e 7 são os marcos que demonstram a maior variação para esse efeito em todas as populações. No entanto, na população de Cantagalo, os marcos 6 e 7 não variam muito em relação aos outros marcos (Figura 10). Em relação ao efeito da interação lado x indivíduo, que corresponde a assimetria flutuante, a maior variação pode ser atribuída aos marcos 2 e 5 (Figura 11) e para o efeito do erro, a maior variação é atribuída aos marcos 2, 5, 10 e 11 (Figura 12).

4 – DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que todas as populações de *D. antonietae*, apresentam assimetria direcional e assimetria flutuante, como também, duas populações apresentaram antissimetria no tamanho da asa. Isso demonstra que os três tipos de assimetria ocorrem em *D. antonietae* em uma única estrutura. Essas diferentes associações entre os tipos de assimetria já foram relatadas em outros trabalhos, no entanto, o trabalho de Kark (2001), demonstrou que ao longo da distribuição geográfica de uma espécie, o padrão de assimetria muda do centro para a periferia, sendo que as populações periférica apresentam maior nível de assimetria, que as populações do centro, como também uma tendência das populações da periferia apresentarem um maior nível de assimetria direcional e antissimetria. Kark (2001) demonstrou que a diferença na assimetria entre as populações do centro e da borda estão relacionados a diferentes níveis de stress no desenvolvimento entre essas populações. As populações da periferia geralmente são menores, apresentam um maior nível de isolamento e conseqüentemente uma menor taxa de imigração, como também estão sob forte efeito da variação climática. Dessa forma, elas apresentam um maior risco de extinção, estão sujeitas a um forte processo de seleção, como também a ação da deriva genética.

No entanto a assimetria em *D. antonietae*, não seguem o padrão de assimetria centro-periferia como ocorreu no trabalho de Kark (2001). Quando comparamos o nível de assimetria no tamanho da asa com a posição geográfica, notamos que o menor nível de assimetria flutuante é atribuída a população de Guarapuava (Figura 4), a qual está localizada no centro da distribuição geográfica de *D. antonietae*, e que não diferiu significativamente da população periférica de

Serrana. No entanto, a população de Cantagalo também está localizada no centro da distribuição geográfica e demonstrou o mesmo nível de assimetria flutuante que as populações periféricas de Itirapina, Serrana e Santiago as quais pertencem respectivamente a borda norte e borda sul da distribuição geográfica.

Entretanto, o nível de assimetria D-E em *D. antonietae*, foi fortemente influenciado pela assimetria direcional, a qual foi detectada em todas as populações. A assimetria direcional não é tida como um estimador seguro da instabilidade no desenvolvimento, porque apesar dela ser em parte causada pelo ambiente, também possui uma base genética (Palmer, 1994). Mas alguns trabalhos demonstram que há um contínuo entre os tipos de assimetria, dessa forma, a mudança da assimetria flutuante para a assimetria direcional ou antissimetria poderia ocorrer frente a um alto nível de estresse, como o que é esperado na periferia da distribuição geográfica (Kark, 2001). No entanto, essas relações ainda não estão de todo esclarecidas, sendo especulativo afirmar que a assimetria direcional pode estar refletindo o nível de instabilidade no desenvolvimento.

Vários trabalhos tem demonstrado a presença de assimetria direcional em Diptera (Klingenberg e McIntyre, 1998; Klingenberg *et al.*, 1998), como também em *Apis mellifera* (Hymenoptera) (Schneider *et al.*, 2003). Klingenberg *et al.* (1998), comparando a assimetria de três espécies de Diptera, *Drosophila melanogaster*, *Musca domestica* e *Glossina palpalis gambiensis*, sugeriu a existência de um eixo direito-esquerdo que conduz a posição do disco imaginal (formador embriológico da asa) para o lado do corpo. Os resultados também desmontaram que a assimetria na forma da asa é similar entre as espécies, sugerindo que a assimetria direcional tem sido evolutivamente conservada desde

a divergência dessas três linhagens, que ocorreu possivelmente antes do Oligoceno (36 a 23 Ma). Dessa forma, a assimetria direcional encontrada nas populações de *D. antonietae* provavelmente tenha sido conservada evolutivamente, através de uma base genética, mais do que seja devido a estresse ambiental.

Dessa forma, os dados da diferença D-E foram corrigidos para a assimetria direcional, retirando o seu efeito sobre a distribuição desses dados. Entretanto Palmer & Strobeck (1992) deixam bem claro que isso é somente uma correção estatística, e a nova distribuição não representa necessariamente a assimetria flutuante, pois o componente genético da variação entre o lado direito e esquerdo ainda está presente. Porém, os resultados da análise de assimetria (Tabela 3 e 7) demonstraram que todas as populações apresentam assimetria flutuante, dando suporte para a utilização dos dados corrigidos como uma medida de instabilidade no desenvolvimento.

Assim, quando as populações foram novamente analisadas verificou-se que não houve diferença no nível de assimetria flutuante do tamanho entre as populações do centro e da periferia (Figura 7). Em relação a forma, foi calculado o índice de assimetria AF18 (Palmer & Strobeck, 2003), o qual também não demonstrou diferença significativa entre as populações de *D. antonietae*, exceto pelas populações periféricas de Santiago e Serrana, as quais diferiram entre si.

Esses resultados indicam que as diferentes populações de *D. antonietae* estão sujeitas a instabilidades durante o desenvolvimento, de acordo com a presença de assimetria. No entanto, esta variação não está hierarquizada no espaço, e conseqüentemente, não produz um padrão claro. Esses resultados são próximos aos obtidos por Kark *et al.* (2004), que analisaram o nível de assimetria

em duas espécies de borboletas do gênero *Euchloe* ao longo de um gradiente geográfico e observaram que o nível de assimetria não aumentou em relação as populações periféricas. Segundo os autores, esse resultado pode refletir o fato de que essas duas espécies de borboletas apresentam sua distribuição limitada em maior parte pela distribuição de suas plantas hospedeiras do que por fatores abióticos. Dessa forma, os indivíduos da periferia podem estar restritos a locais onde o recurso alimentar é rico e as condições de desenvolvimento são relativamente favoráveis, e sendo assim, se o recurso alimentar da periferia é suficiente para sustentar a viabilidade da população, não há uma predição para que indivíduos que desenvolvam-se na periferia estejam sofrendo maior estresse do que os indivíduos do centro da distribuição. Além disso, essas espécies podem passar por diapausa durante longos períodos onde os fatores ambientais são desfavoráveis e também podem persistir em pequenos recursos alimentares, minimizando dessa forma, o estresse ambiental sofrido durante o desenvolvimento.

Do mesmo modo, a distribuição de *D. antonietae* está relacionada com a distribuição do cactus *Cereus hildmannianus*. Essa espécie de cactus está distribuída em pequenas porções ou ilhas de ocorrência, ao longo dos vales dos rios da bacia Paraná-Uruguai (Manfrin & Sene, 2006). Considerando que ao longo da distribuição as variações climáticas são bastante acentuadas as espécies associadas ao cactus também sofrem estas variações climáticas acentuadas, e poderiam, portanto, exprimir fenotipicamente o estresse durante o desenvolvimento.

No entanto, uma outra característica dessa associação é que as larvas de *D. antonietae* desenvolvem-se no interior dos cladódios em putrefação de *Cereus*

hildmannianus, alimentando-se de leveduras presentes nesses cladódios (Mateus & Sene, 2004). Dessa forma, esses cladódios podem servir como um abrigo, gerando um microclima para o desenvolvimento das larvas muito mais estável do que o meio externo. Assim, as larvas podem minimizar o estresse que poderia ser causado por fatores climáticos.

Por outro lado, Soto *et al.* (no prelo), estudaram a viabilidade e o tempo de desenvolvimento das espécies cactofílicas *D. antonietae* e *D. gouveai* em meios de cultura a base de cactos *C. hildmannianus* e *Pilocereus machrisis*. A espécie *D. gouveai* apresenta uma associação com o cactos *P. machrisis* da mesma forma que *D. antonietae* está associada ao cactos *C. hildmannianus*. Esse estudo demonstrou que as duas espécies de *Drosophila* apresentaram uma maior viabilidade e um menor tempo de desenvolvimento no meio de cultura a base de *P. machrisis*. Isso pode demonstrar que a associação entre *C. hildmannianus* e *D. antonietae* é mais recente do que se supõem (Manfrim & Sene, 2006) e que *D. antonietae* ainda está se adaptando ou seja, *C. hildmannianus* pode ser um fator de estresse para *D. antonietae*. Além de sugerir que os padrões de distribuição podem ter sido gerados por processos bióticos, como competição e não por associação entre cactos e as espécies de *Drosophila* ssp.

Um outro fator que pode estar influenciando no desenvolvimento da assimetria em *D. antonietae*, é a disposição de suas populações ao longo da distribuição geográfica. A hipótese centro-periferia sugere que populações do centro são mais estáveis porque apresentam um contínuo e um tamanho populacional maior, ao contrário das populações periféricas, que no geral, apresentam um tamanho populacional menor, um maior nível de fragmentação e isolamento. Devido a característica de *D. antonietae* estar associada com ilhas de

ocorrência do cactus *C. hildmannianus*, suas populações apresentam-se isoladas em fragmentos ao longo da distribuição geográfica (Mateus & Sene, 2006). Dessa forma, tanto as populações centrais como as populações periféricas, podem apresentar um tamanho populacional reduzido. Sendo assim, as populações do centro da distribuição geográfica não apresentam um contínuo populacional e um maior tamanho populacional que as populações da periferia, como seria o esperado pela hipótese centro-periferia. Portanto, o nível de fragmentação e o tamanho populacional reduzido podem estar afetando tanto as populações periféricas, como também, as populações centrais, gerando assim uma resposta de mesma magnitude entre essas populações.

No presente trabalho, a assimetria flutuante na estrutura da asa de *D. antonietae* foi analisada através de uma configuração de marcos anatômicos, dessa forma é importante analisar os efeitos localizados em relação a cada marco anatômico, para compreender quais marcos contribuem mais em relação aos fatores considerados na ANOVA. No entanto, Klingenberg & McIntyre (1998), chamam atenção que tais características devem ser interpretadas com cuidado, pois a variação na forma é medida através de uma superposição generalizada pelos quadrados mínimos o que pode “diluir” o efeito da variação. Isso deve-se ao fato que, um ou alguns marcos da configuração podem apresentar uma maior variação que o restante dos marcos, fenômeno conhecido como efeito “pinóquio”. Quando as configurações são superpostas pelos quadrados mínimos, o efeito da variação desses marcos é reduzindo ao custo de um pequeno aumento na variação dos demais marcos. Entretanto eles também discutem que a análise dos quadrados mínimos de Procrustes por marco anatômico tende a subestimar a diferença entre os marcos e seu grau de variação. Dessa forma, um efeito

pinóquio detectado através desse método, reflete a verdadeira diferença na variação entre os marcos.

Apesar do marco 2 ter apresentado uma alta variação para vários efeitos em várias populações, nenhum dos marcos anatômicos demonstrou um efeito pronunciado que o caracterizaria como um efeito “pinóquio”. No entanto, em relação à assimetria flutuante os marcos que apresentaram a maior variação foram os marcos 2 e 5, enquanto para a assimetria direcional os marcos que apresentaram maior variação foram os marcos 2, 4 e 11. Exceto pelo marco 11, os outros marcos, 2, 4 e 5, estão ancorados na margem da região mediana apical da asa, dessa maneira, mudanças na conformação dessa parte estão relacionadas com o efeito da assimetria na asa de *D. antonietae*.

Dessa forma, um estresse sofrido durante o desenvolvimento, devem afetar principalmente o marco 5, pois esse marco demonstra uma grande variação para o efeito da interação lado x indivíduo (assimetria flutuante) e uma pequena variação para o efeito do lado (assimetria direcional). A variação para assimetria flutuante do marco 5 também é maior que o erro em todas as populações, sugerindo a variação desse marco deve ser causada em grande parte por instabilidade no desenvolvimento. Como o marco 2 possui uma grande variação para todos os efeitos, sua variação é possivelmente causada por vários fatores, não refletindo assim a instabilidade no desenvolvimento. Assim, locais da asa podem responder com diferentes níveis de variação aos diferentes efeitos, inclusive a instabilidade no desenvolvimento.

Em conclusão, os estudos de assimetria realizados nesse trabalho, demonstram que *D. antonietae* apresenta diferentes tipos de assimetria ao longo de sua distribuição geográfica. No entanto, as populações do centro e da periferia,

não apresentaram diferença no nível de assimetria como encontrado em outros trabalhos. Esse resultado possivelmente está relacionado com o desenvolvimento de *D. antonietae* em associação com cactos *C. hildmannianus*, como também devida a fragmentação de suas populações ao longo da distribuição geográfica. Isso demonstra que em estudos de assimetria ao longo da distribuição geográfica é importante levar em consideração os fatores que limitam a distribuição dessa espécie, como também sua relação com outras espécies ao longo de sua distribuição.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, S. M. & M. Bélo. 2002. Morphometric variations in the housefly, *Musca domestica* (L.) with latitude. *Genetica*, 115: 243-251.
- Ayrinhac, A., V. Debat; P. Gibert, A. G. Kister, H. Legout, B. Moreteau, R. Vergilino & J.R. David. 2004. Cold adaptation in geographical populations of *Drosophila melanogaster*: Phenotypic plasticity is more important than genetic variability. *Functional Ecology*, 18: 700-706.
- Brito, R. A.; M. H. Manfrin & F. M. Sene. 2001. Nested cladistic analysis of brazilian populations of *Drosophila serido*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22: 131-143.
- Fuller R. C. & D. Houle. 2002. Detecting genetic variation in developmental instability by artificial selection on fluctuating asymmetry. *Journal of Evolutionary Biology*, 15: 954–960.
- Gangestad, S. W. & R. Thonnhill. 1999. Individual differences in developmental precision and fluctuating asymmetry : A model and its implications. *Journal of Evolutionary Biology*, 12: 402 – 416.
- Hoffmann, A. A. & P. A. Parsons. 1994. Species borders: ecological and evolutionary perspectives. *TREE*, 9: 223 – 227.
- Hoffman A. A. & J. Shirriffs. 2002. Geographic variation for wing shape in *Drosophila serrata*. *Evolution*, 50: 1068 – 1073.
- Hoffman A. A., R. J. Hallas, J. A. Dean & M. Schiffer. 2003. Low potential for climatic stress adaptation in rainforest *Drosophila* species. *Science*, 103: 100-103.

- Hosken, D. J., W. U. Blanckenhorn & P. I. Ward. 2000. Developmental stability in yellow dung flies (*Scathophaga stercoraria*): fluctuating asymmetry, heterozygosity and environmental stress. *Journal of Evolutionary Biology*, 13: 919 – 926.
- Jablonski, D. 1987. Heritability at the level: Analysis of geographic ranges of cretaceous mollusks. *Science*, 283: 360-363.
- Juste, J.; C. López-González & R. E. Strauss. 2001. Analysis of asymmetries in the african fruit bats *Eidolon helvum* and *Rousettus aegyptiacus* (Mammalia : Megachiroptera) from the islands of the gulf of Guinea. II. Integration and levels of multivariate fluctuating asymmetry across a geographical range. *Journal of Evolutionary Biology*, 14 : 672 – 680.
- Kark, S. 2001. Shifts in bilateral asymmetry within a distribution range : The case of the chucar partridge. *Evolution*, 55: 2088 – 2096.
- Kark, S., L. Lens, S. Van Dongen & E. Schmidt. 2004. Asymmetry patterns across the distribution range: Does the species matter? *Biological Journal of the Linnean Society*, 81: 313-324.
- Klingenberg, C. P., G. S. McIntyre, & S. D. Zaklan. 1998. Left-right asymmetry of fly wings and the evolution of body axes. *Proceedings of the Royal Society of London B, Biological Sciences*, 265:1255–1259.
- Klingenberg, C. P. & McIntyre, G. S. 1998. Geometric morphometric of developmental instability: Analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes Methods. *Evolution*, 52 (5): 1363-1375.
- Lens, L.; S. Dongen; C. M. Wilder; T. M. Brooks & E. Matthysen. 1999. Fluctuating asymmetry increases with habitat disturbance in seven bird species of a fragmented afro-tropical forest. *The Royal Society*, 266: 1241 – 1246.

- Machado, L. P. B. 2003. Descrição e análise de loci de microssatélites em populações naturais da espécie cactofílica *Drosophila antonietae* (Diptera; Drosophilidae). Tese de Doutorado – USP, Ribeirão.
- Manfrin, M. H. & F. M. Sene. 2006. Cactophilic *Drosophila* in South America: a model for evolutionary studies. *Genetica*, 126: 57-75.
- Mateus, R. P. 2001. Variação isoenzimática em populações naturais de *Drosophila antonietae* (Diptera; Drosophilidae). Tese de Doutorado – USP, Ribeirão.
- Mateus, R. P. & F. M. Sene. 2003. Temporal and spatial allzyme variation in the South American cactophilic *Drosophila antonietae* (Diptera, Drosophilidae) *Biochemical Genetics*, 41 : 219 – 233.
- Moller, A. P. & B. Swaddle. 1997. Developmental Stability and Evolution. *Oxford U. Press*, 291p.
- Monteiro, L. R. & S. F. dos Reis. 1999. Princípios de morfometria geométrica . Holos Editora, 189p.
- Monteiro, S. G. & F. M Sene. 1995. Estudo morfométrico de populações de *Drosophila serido* das regiões central e sul do Brasil. *Revista Brasileira de Genética*, 18 (3 suppl.): 283.
- Moraes, E. M., V. L. Spressola, P. R. R. Prado, L. F. Costa & F. M. Sene. 2004. Divergence in wing morphology among sibling species of the *Drosophila buzzatii* cluster. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 42 : 154 – 158.
- Palmer, A. R. & C. Strobeck. 1992. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: Implications of non-normal distributions and power of statistical tests. *Acta Zoologica Fennica*, 191: 55-70.

- Palmer, A. R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: A primer. pp. 335-364. In: *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*. (T. Markow, Ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Palmer, A. R. & C. Strobeck. 2003. Fluctuating asymmetry analyses revisited. In *Developmental Instability (DI): Causes and Consequences*, M. Polak, ed. Oxford University Press, Oxford. pp. 279-319.
- Rohlf, F. J. 2005. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.05. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>
- Ruiz, A., A. M. Cansian, G. C. S. Kuhn, M. A. R. Alves & F. M. Sene. 2000. The *Drosophila serido* speciation puzzle : Putting new pieces together. *Genetica*, 108: 217 – 227.
- Schneider, S. S., L. J. Leamy, L. A. Lewis, G. DeGrandi-Hoffman. The influence of hybridization between African and European honeybees, *Apis mellifera*, on asymmetries in wing size and shape. 2003. *Evolution*, 57(10): 2350-2364.
- Sene, F. M.; M. A. Q. R. Pereira; C. R. Vilela & N. M. V. Bizzo. 1981. Influence of different ways to set baits for collection of *Drosophila* flies in three natural environments. *D. I. S.*, 56: 118-121.
- SENE, F.M.; PEREIRA, M.A.Q.R. & VILELA, C.R. 1982. Evolutionary aspects of cactus breeding *Drosophila* species in South America. In: BARKER, J.S.F. & STARMER, W.T. eds. *Ecological Genetics and Evolution: the cactus-yeast Drosophila model system*. Sydney, Academic. p. 97-106.
- Soto, I. M., M. H. Manfrin, F. M. Sene, & E. Hasson. *in press* . Viability and developmental time in the cactophilic *Drosophila gouveai* and *D. antonietae* are dependent of the cactus host. *Annals of the Entomological Society of America*,

2007.

Tindon-Sklorz, R. & F. M. Sene. 2001. Two new species the *Drosophila serido* sibling set (Diptera, Drosophilidae). *Ilheringia, Sér. Zool.*, 90: 141-146.

Tabela 1: Localidades de coleta, coordenadas geográficas e posição das populações em relação a distribuição geográfica.

Localidades	Coordenadas	Posição
Itirapina – SP	22° 16' S, 47° 48' W	Borda Norte
Serrana – SP	21° 14' S, 47° 34' W	Borda Norte
Cantagalo – PR	25° 25' S, 52° 04' W	Centro
Guarapuava – PR	25° 17' S, 51° 53' W	Centro
Santiago – RS	29° 23' S , 54° 44' W	Borda Sul

Tabela 2: Número de machos e fêmeas de *Drosophila antonietae* identificados em cada população.

População	Fêmeas	Machos
Serrana	6	22
Itirapina	15	40
Guarapuava	9	23
Cantagalo	7	66
Santiago	8	50

Tabela 3: Análise de variância (ANOVA mista) do tamanho do centróide da asa *Drosophila antonietae* em cada população amostrada.

Efeito	SQ	GL	QM	F	Componente de variância %
Serrana					
Lado	0,023	1	0,023	37,06***	
Indivíduo	2,505	21	0,119	192,70***	98
Lado X Indivíduo	0,013	21	0,001	11,04***	1,5
Erro	0,005	88	0,000		0,5
Itirapina					
Lado	0,067	1	0,067	98,30***	
Indivíduo	3,075	39	0,079	115,66***	98,8
Lado X Indivíduo	0,027	39	0,001	10,10***	0,9
Erro	0,011	160	0,000		0,3
Cantagalo					
Lado	0,088	1	0,088	133,44***	
Indivíduo	12,917	65	0,199	300,44***	99,3
Lado X Indivíduo	0,043	65	0,001	20,44***	0,6
Erro	0,009	264	0,000		0,1
Guarapuava					
Lado	0,012	1	0,012	15,58***	
Indivíduo	3,263	22	0,148	194,66***	98,8
Lado X Indivíduo	0,017	22	0,001	11,43***	0,9
Erro	0,006	92	0,000		0,3
Santiago					
Lado	0,068	1	0,068	61,39***	
Indivíduo	11,156	49	0,228	206,14***	99
Lado X Indivíduo	0,054	49	0,001	27,61***	0,9
Erro	0,008	200	0,000		0,1

*** $P < 0,001$.

Tabela 4: Análise de variância da diferença entre o lado direito e esquerdo (D-E) entre as populações amostradas de *Drosophila antonietae*.

Efeito	SQ	GL	QM	F
População	0,5933	5	0,1187	334,30***
Erro	0,2112	595	0,0004	

*** $P < 0,001$.

Tabela 5: Tamanho amostral (com réplicas), média da diferença do lado direito e esquerdo em milímetros (\pm SE, erro padrão) e testes de normalidade Shapiro-Wilk (W), Obliquidade (S) e Curtose (K).

	N	Média (\pm SE)	W	S (\pm SE)	K (\pm SE)
Itirapina	120	-0,033 (0,002)	0,970**	-0,284 (0,221)	-0,031 (0,438)
Serrana	66	-0,027 (0,003)	0,944**	0,575 (0,295)	-0,135* (0,582)
Guarapuava	69	-0,018 (0,003)	0,948**	-0,470 (0,289)	1,256* (0,570)
Cantagalo	198	-0,030 (0,002)	0,971**	0,054 (0,173)	-0,492 (0,344)
Santiago	150	-0,030 (0,002)	0,926**	0,437* (0,202)	-0,188 (0,401)

* $P < 0,05$. ** $P < 0,01$.

Tabela 6: Tamanho amostral (com réplicas), média da diferença do lado direito e esquerdo em milímetros (\pm SE, erro padrão) e testes de normalidade Shapiro-Wilk (W), Obliquidade (S) e Curtose (K), após a correção dos dados para assimetria direcional.

	N	Média (\pm SE)	W	S (\pm SE)	K (\pm SE)
Itirapina	120	0,00044 (0,0020)	0,986	-0,364 (0,001)	0,037 (0,438)
Serrana	66	-0,00065 (0,0026)	0,963*	0,679* (0,295)	0,282 (0,582)
Guarapuava	69	0,00007 (0,0029)	0,965	-0,539 (0,289)	1,125 (0,570)
Cantagalo	198	0,00012 (0,0016)	0,988	0,106 (0,173)	-0,501 (0,344)
Santiago	150	-0,00105 (0,0017)	0,976*	0,374 (0,204)	-0,401 (0,406)

* $P < 0,05$.

Tabela 7: Análise de variância mista de Procrustes nas populações de *Drosophila antonietae* amostradas.

Efeito	SQ	GL	QM	F	Componente de variância %
Serrana					
Lado	0,002538	20	0,000127	7,14***	
Indivíduo	0,048266	420	0,000115	6,46***	64,8
Lado X Indivíduo	0,007467	420	0,000018	4,70***	19,2
Erro	0,006658	1760	0,000004		15,9
Itirapina					
Lado	0,002699	20	0,000135	8,55***	
Indivíduo	0,068091	780	0,000087	5,53***	60,4
Lado X Indivíduo	0,012305	780	0,000016	4,09***	20,1
Erro	0,012340	3200	0,000004		19,5
Cantagalo					
Lado	0,004019	20	0,000201	12,22***	
Indivíduo	0,160066	1300	0,000123	7,48***	70,6
Lado X Indivíduo	0,021386	1300	0,000016	5,72***	18,0
Erro	0,015197	5280	0,000003		11,4
Guarapuava					
Lado	0,001314	20	0,000066	4,24***	
Indivíduo	0,036240	440	0,000082	5,32***	59,2
Lado X Indivíduo	0,006816	440	0,000015	4,09***	20,7
Erro	0,006962	1840	0,000004		20,1
Santiago					
Lado	0,002474	20	0,000124	7,90***	
Indivíduo	0,120723	980	0,000123	7,93***	71,0
Lado X Indivíduo	0,015279	980	0,000016	4,90***	16,4
Erro	0,012730	4000	0,000003		12,6

*** $P < 0,001$.

Tabela 8: Análise de variância do índice de Assimetria Flutuante AF18* entre as populações de *D. antonietae*. O índice AF18 (sensu Palmer & Strobeck 2003) é calculado com a seguinte expressão: $AF18 = \sqrt{\sum(XY_{iR} - XY_{iL})^2}$

Efeito	SQ	GL	QM	F
População	0,000181	4	0,000045	2,77*
Erro	0,009779	598	0,000016	

* $P < 0,05$.

Tabela 9: Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Itirapina. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.

Marco anatômico	Efeito			
	Lado	Indivíduo	Lado X Indivíduo	Erro
1	24	10	4	6
2	316	33	12	7
3	6	21	6	4
4	121	21	5	6
5	9	34	20	7
6	97	35	5	5
7	16	36	7	6
8	7	18	3	5
9	13	17	6	5
10	56	11	2	12
11	124	8	5	8
12	31	6	4	6

Tabela 10: Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Serrana. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.

Marco anatômico	Efeito			
	Lado	Indivíduo	Lado X Indivíduo	Erro
1	2	10	2	6
2	153	46	13	8
3	3	19	7	4
4	11	17	4	4
5	0	36	15	8
6	103	31	6	5
7	17	23	6	5
8	3	16	6	5
9	15	14	6	5
10	11	7	6	9
11	59	8	5	9
12	0	7	4	6

Tabela 11: Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Cantagalo. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.

Marco anatômico	Efeito			
	Lado	Indivíduo	Lado X Indivíduo	Erro
1	14	18	7	5
2	243	59	15	6
3	2	30	6	4
4	188	30	5	4
5	15	57	12	6
6	95	34	9	4
7	9	36	10	4
8	40	32	5	3
9	92	32	6	4
10	68	8	5	8
11	414	18	5	5
12	69	11	5	4

Tabela 12: Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Guarapuava. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.

Marco anatômico	Efeito			
	Lado	Indivíduo	Lado X Indivíduo	Erro
1	2	10	2	6
2	153	46	13	8
3	3	19	7	4
4	11	17	4	4
5	0	36	15	8
6	103	31	6	5
7	17	23	6	5
8	3	16	6	5
9	15	14	6	5
10	11	7	6	9
11	59	8	5	9
12	0	7	4	6

Tabela 13: Componentes de variância, para os efeitos da ANOVA de Procrustes por marco anatômico da população de Santiago. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.

Marco anatômico	Efeito			
	Lado	Indivíduo	Lado X Indivíduo	Erro
1	24	22	7	4
2	258	54	13	8
3	1	28	5	4
4	129	23	5	4
5	0	63	11	6
6	79	49	9	5
7	11	48	6	5
8	2	24	4	4
9	36	24	3	4
10	0	14	7	9
11	151	14	7	6
12	54	5	5	4

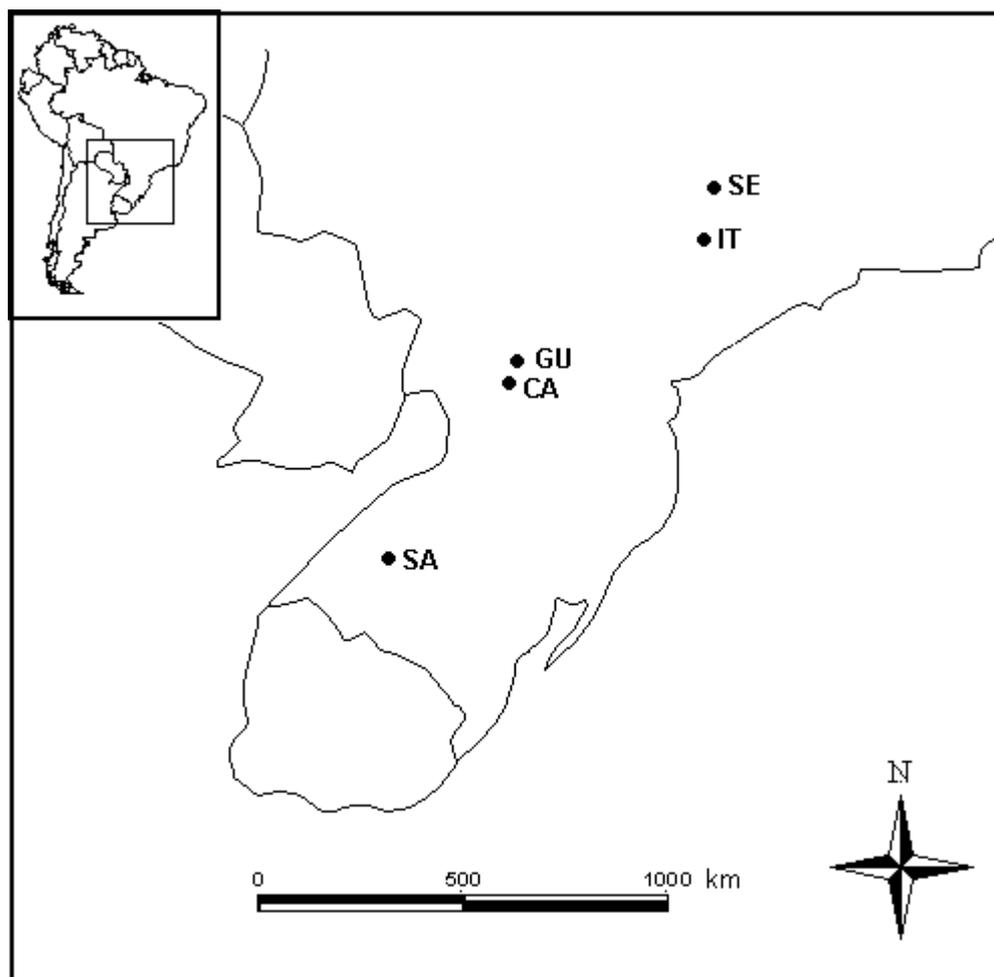


Figura 1 – Mapa com as localidades onde *Drosophila antonietae* foi coletada. **SE** – Serrana/SP; **IT** – Itirapina/SP; **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.



Figura 2 – Edeago de um macho de *Drosophila antonietae*.

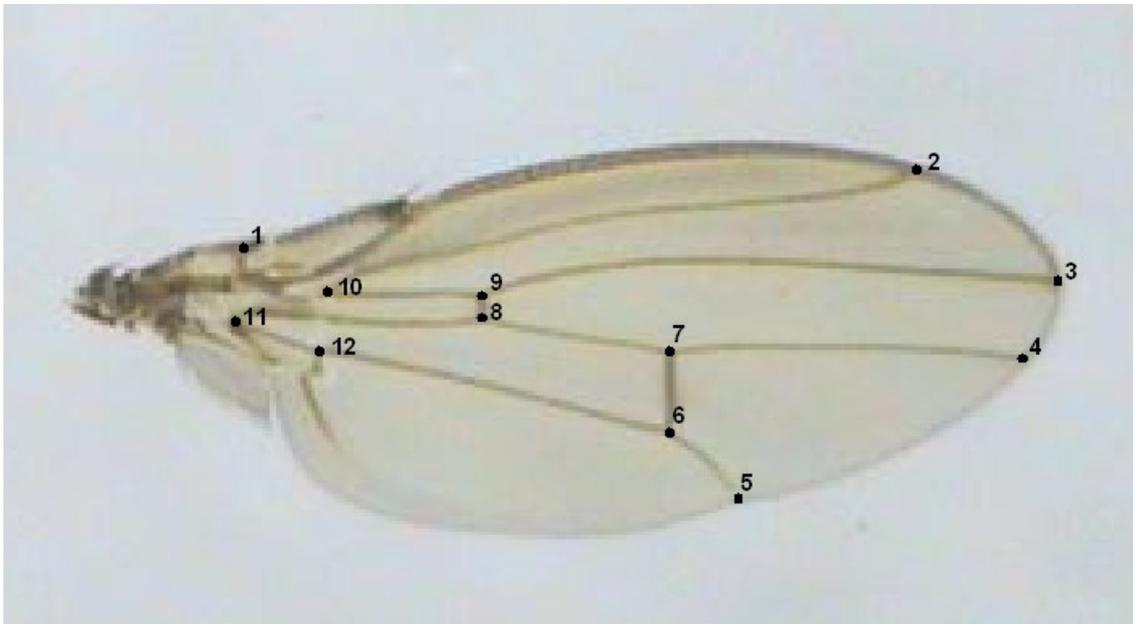


Figura 3 – Imagem da asa de *Drosophila antonietae* mostrando a posição dos 12 marcos anatômicos utilizados nesta dissertação.

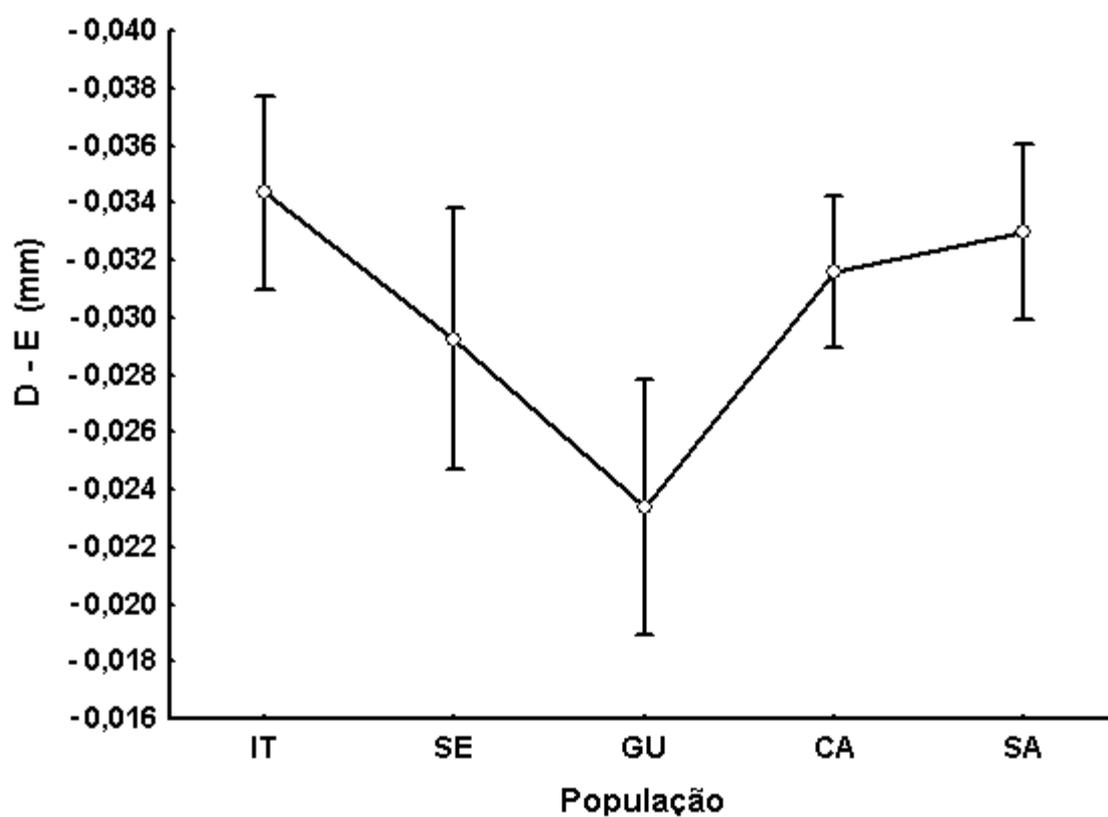


Figura 4 – Média da assimetria (círculos) e desvio padrão (barras verticais) do tamanho do centróide nas populações de *Drosophila antonietae*. **IT** – Itirapina/SP; **SE** – Serrana/SP, **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.. **IT** – Itirapina/SP; **SE** – Serrana/SP, **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.

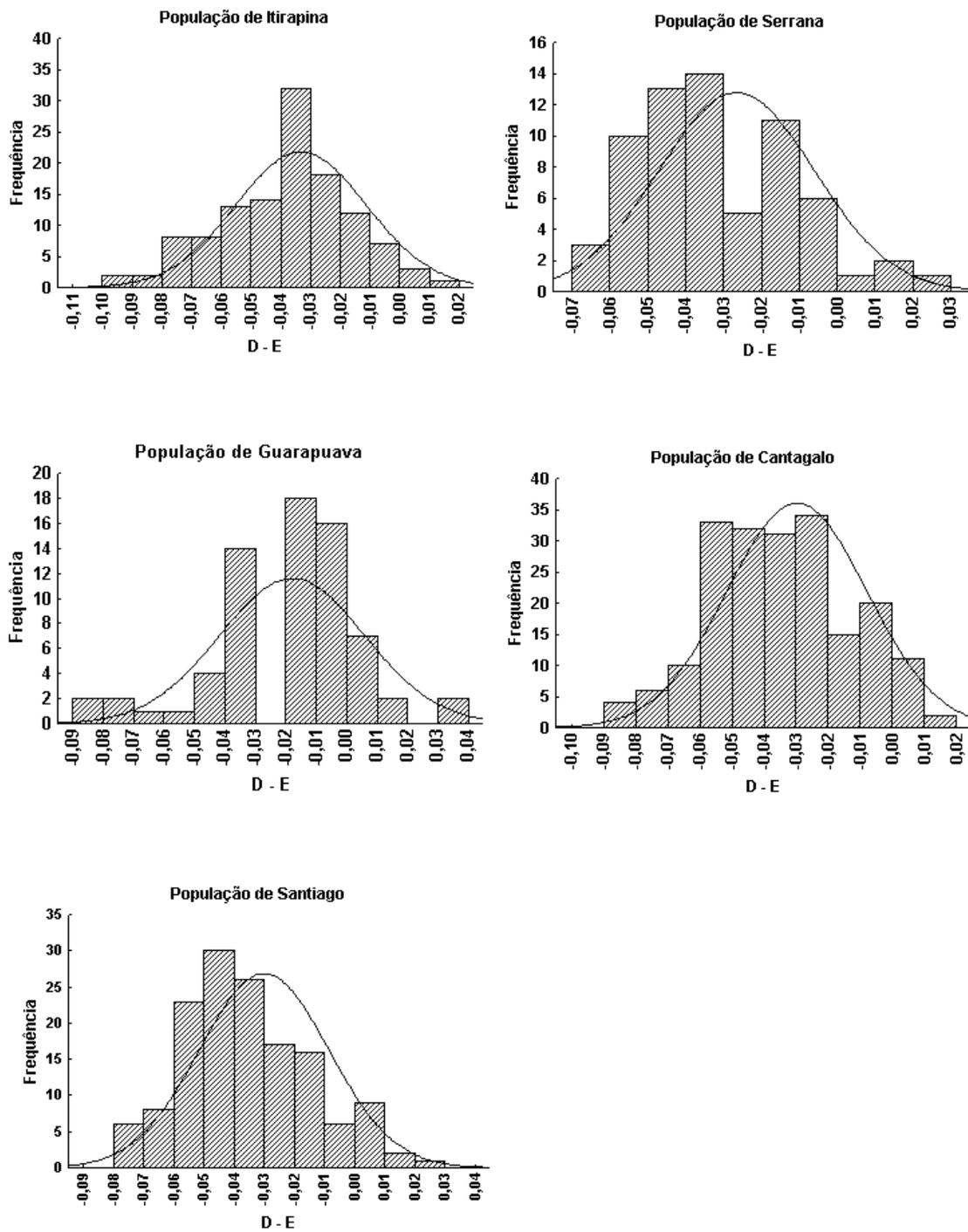


Figura 5 – Distribuição da diferença entre o lado direito e esquerdo D – E (mm) para cada população analisada.

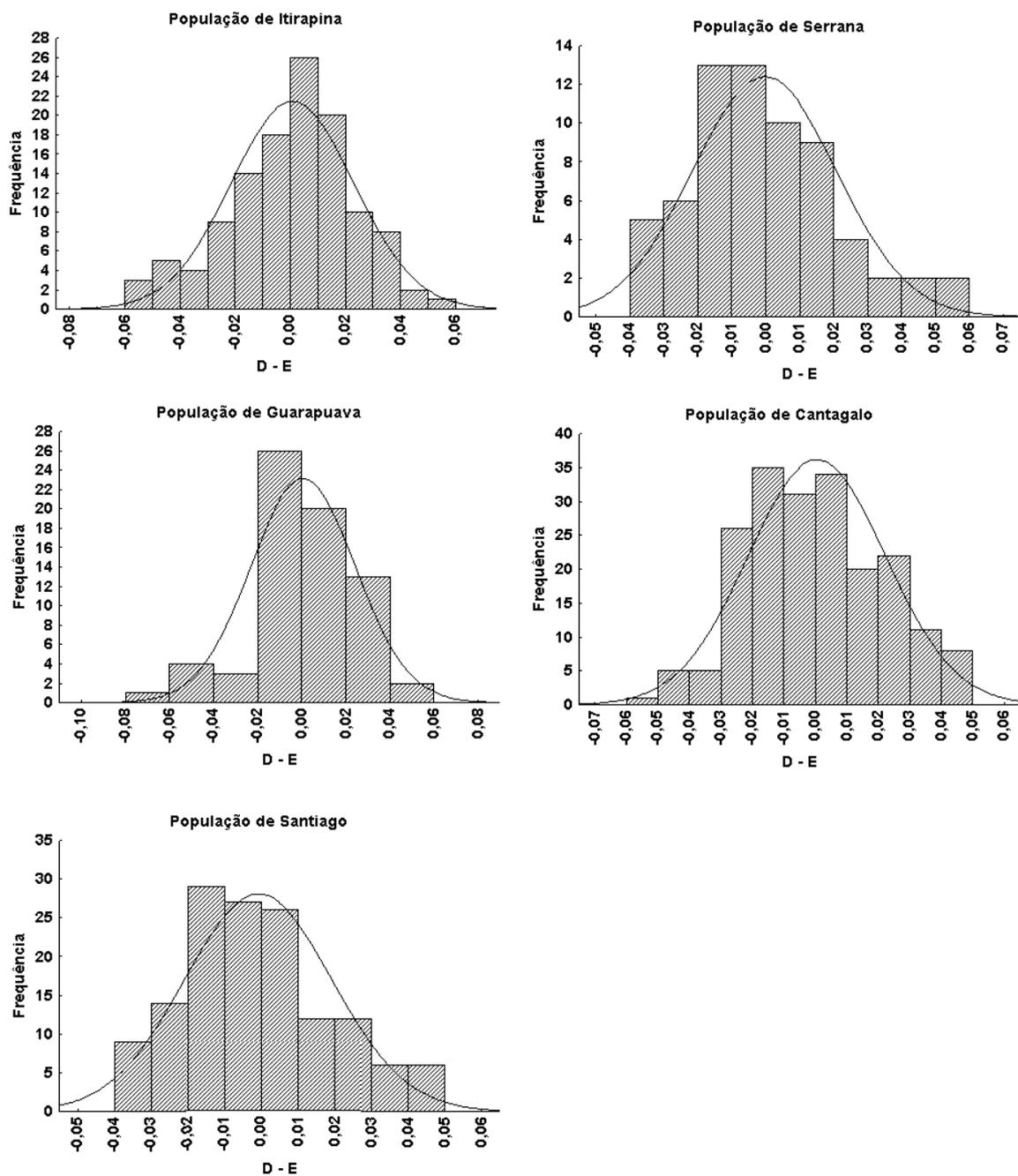


Figura 6 – Distribuição da diferença entre o lado direito e esquerdo D – E (mm) para cada população analisada, após correção pela assimetria direcional.

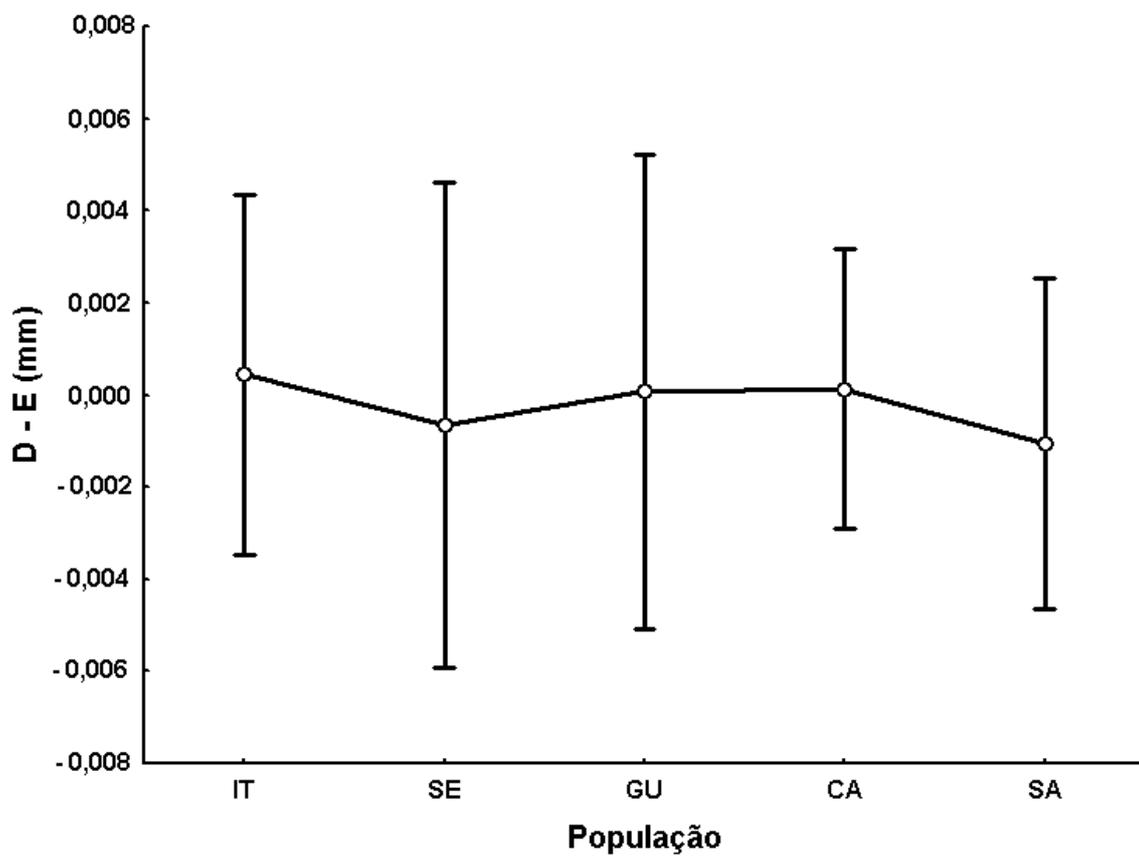


Figura 7 – Média da assimetria (círculos) e desvio padrão (barras verticais) do tamanho do centróide nas populações de *Drosophila. antonietae* após a correção para assimetria direcional. **IT** – Itirapina/SP; **SE** – Serrana/SP, **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.

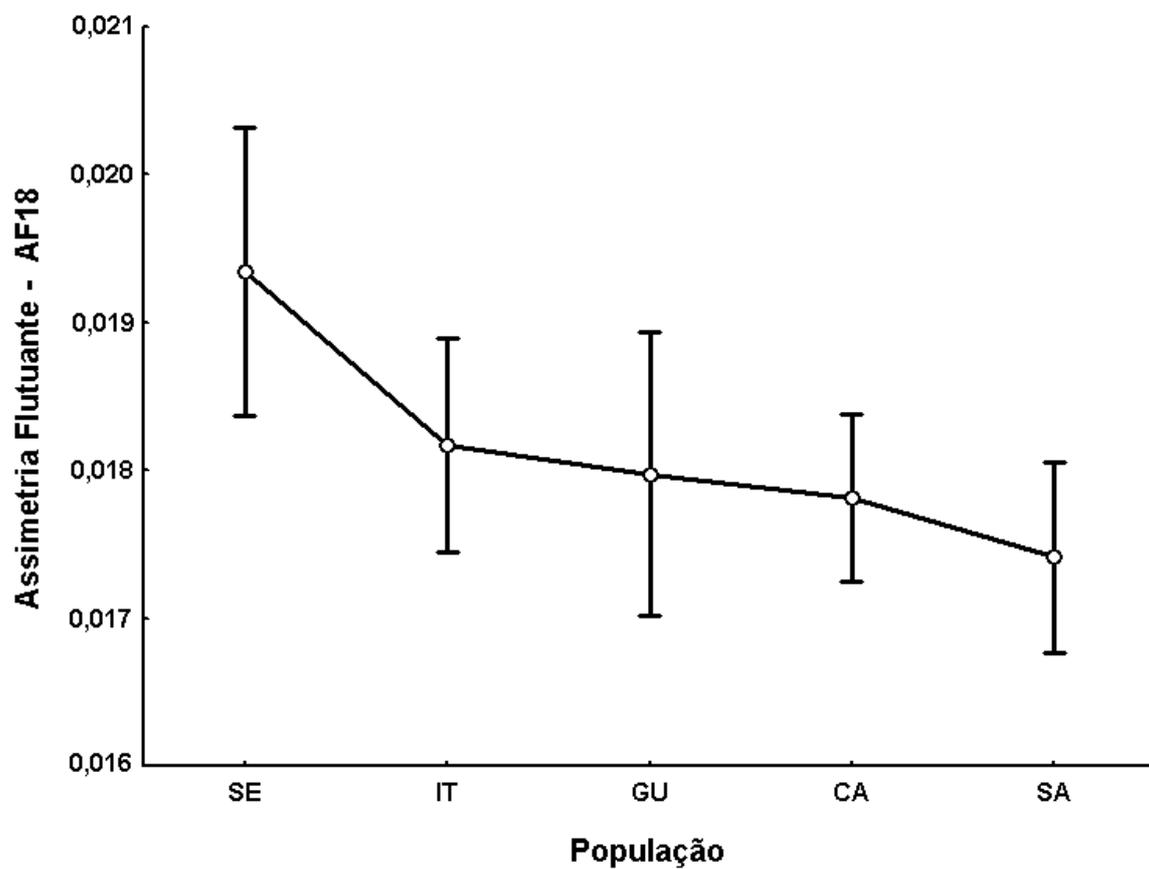


Figura 8 – Média do índice de assimetria flutuante ($AF18 = \sqrt{\sum(XY_{iR}-XY_{iL})^2}$), representada pelos círculos, com o desvio padrão, representado pelas barras verticais, da forma da asa das populações de *D. antonietae*. **SE** – Serrana/SP, **IT** – Itirapina/SP; **GU** – Guarapuava/PR; **CA** – Cantagalo/PR; **SA** – Santiago.

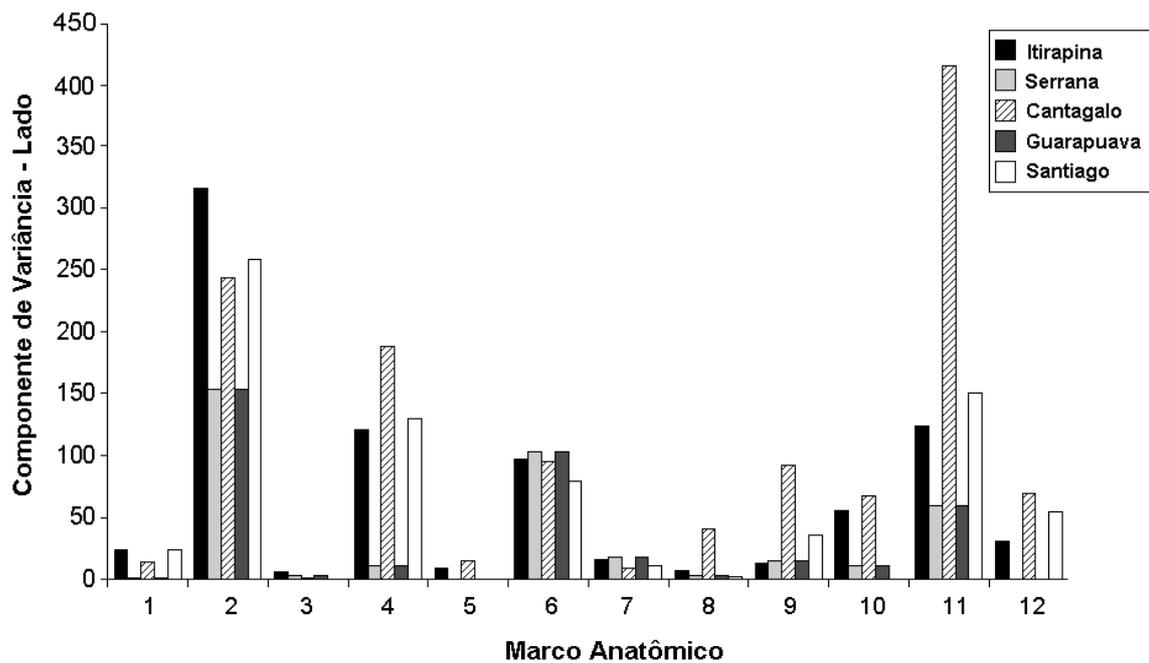


Figura 9 – Componente de variância do efeito lado para cada marco anatômico da ANOVA de Procrustes das população de *Drosophila antonietae*. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.

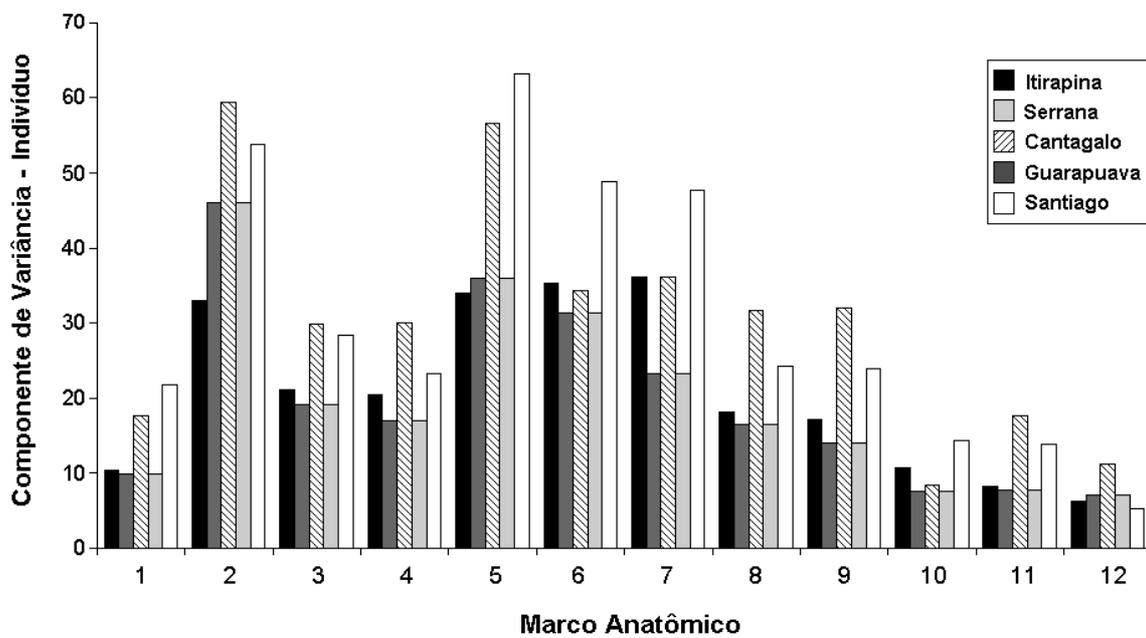


Figura 10 – Componente de variância do efeito indivíduo para cada marco anatômico da ANOVA de Procrustes das população de *Drosophila antonietae*. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.

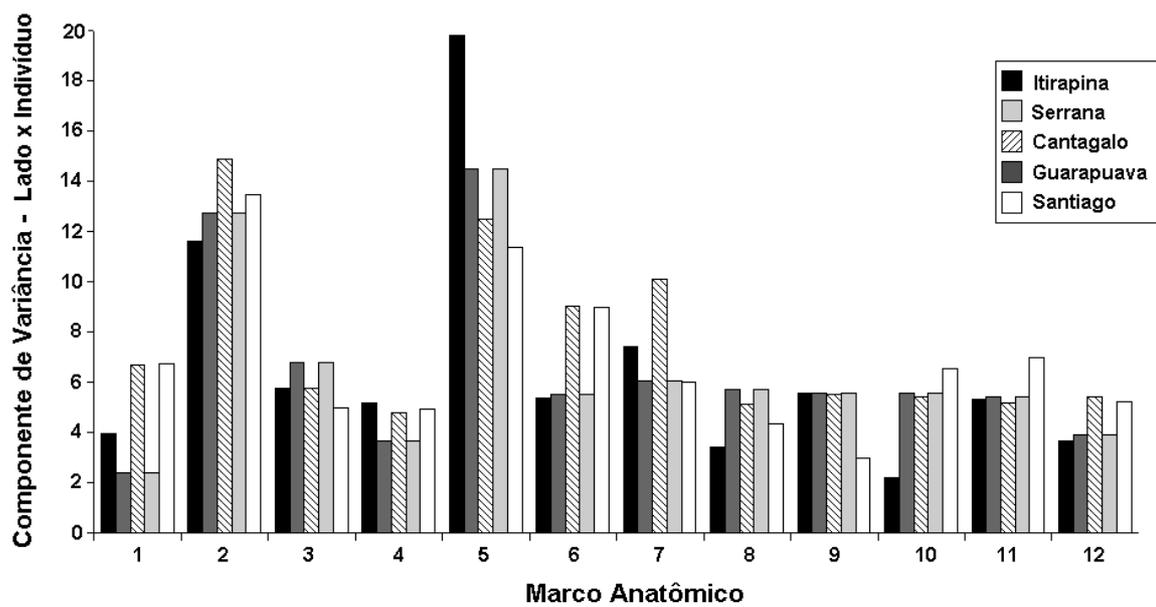


Figura 11 – Componente de variância do efeito interação lado x indivíduo para cada marco anatômico da ANOVA de Procrustes das população de *Drosophila antonietae*. Todos os valores foram multiplicados por 10^6 para uma melhor comparação.

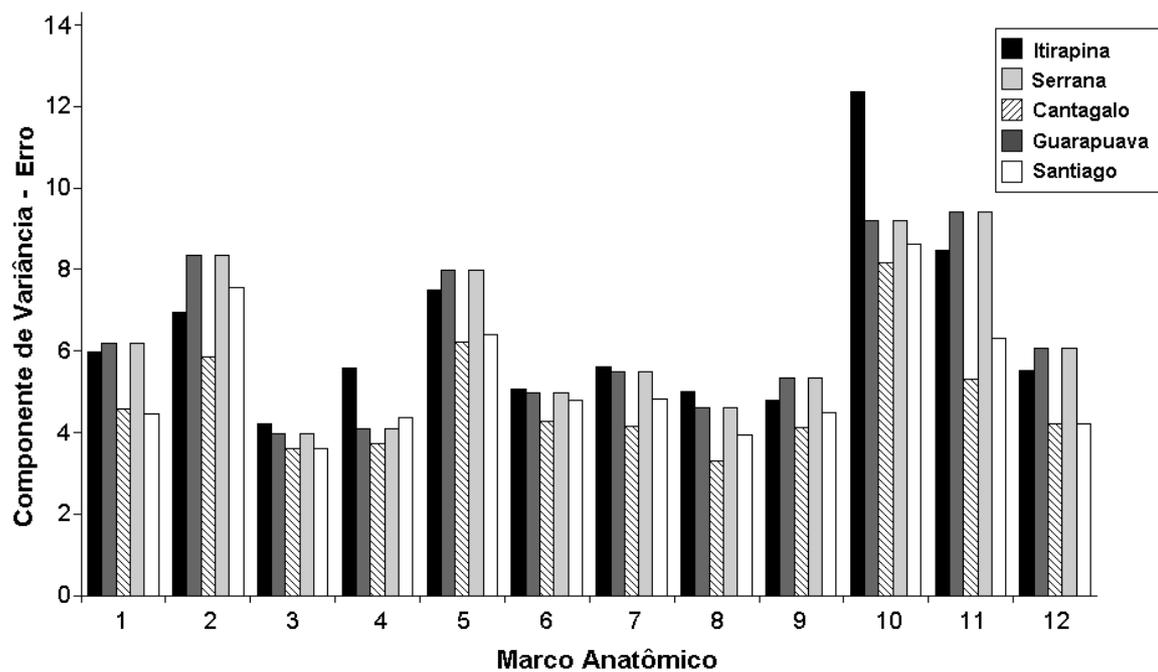


Figura 12 – Componente de variância do efeito erro para cada marco anatômico da ANOVA de Procrustes das população de *Drosophila antonietae*. Todos os valores foram multiplicados por 10⁶ para uma melhor comparação.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)