



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL**

**DIVERSIDADE FILOGENÉTICA DE DROSOPHILIDAE (DIPTERA) NO BIOMA
PAMPA**

GABRIEL ACCIOLY TRIPODE

Foz do Iguaçu
2019



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS
DA VIDA E DA NATUREZA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM BIODIVERSIDADE NEOTROPICAL**

DIVERSIDADE FILOGENÉTICA DE DROSOPHILIDAE (DIPTERA) NO BIOMA PAMPA

GABRIEL ACCIOLY TRIPODE

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Neotropical, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Hermes José Schmitz

Foz do Iguaçu
2019

GABRIEL ACCIOLY TRIPODE

DIVERSIDADE FILOGENÉTICA DE DROSOPHILIDAE (DIPTERA) NO BIOMA PAMPA

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Neotropical, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Hermes José Schmitz
Orientador
UNILA

Dr. Marco Silva Gottschalk
(UFPel)

Dr. Luiz Roberto R. Faria Jr.
(UNILA)

Foz do Iguaçu, ____ de _____ de _____.

Catalogação elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação
Catalogação de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

T835

Tripode, Gabriel Accioly.

Diversidade filogenética de Drosophilidae (Diptera) no bioma Pampa / Gabriel Accioly Tripode. - Foz do Iguaçu, 2019.

74 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana. Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Neotropical. Foz do Iguaçu-PR, 2019.

Orientador: Hermes José Schmitz.

1. Ecologia de Comunidades. 2. Evolução. 3. Drosophila. I. Schmitz, Hermes José. II. Título.

CDU 575.86

AGRADECIMENTOS

De repente me vejo dando o último passo para tornar-me mestre em algo tão amplo que é a biodiversidade Neotropical. Com toda certeza, não me sinto tão mestre assim, afinal, o que sou eu perto da grandiosidade que é a natureza? De toda forma, sei que esse curso acrescentou muito para mim, e eu não teria aqui chegado se não fosse pelo apoio de muitas pessoas. Vou tentar citá-las aqui.

Em primeiro lugar a Ana, minha companheira eterna, que topou a aventura de mudar-nos para Foz, que participou e compartilhou tudo comigo. Projetos, ideias, ela sempre está presente. Agradeço também peça paciência que teve e o apoio quando precisei de umas horas extras na frente do computador. Ou várias horas extras. Tudo foi tão bom porque ela esteve sempre comigo. Foram muitas histórias, e ainda virão tantas pela frente!

Agradeço a quem trouxe meu título mais importante, nosso pequeno Samuel, que tem alegrado nossa jornada desde que soubemos que estava a caminho.

Agradeço à minha mãe, Luciana, que me incentivou desde sempre a estudar. Meus irmãos, Vi, Bru, Fer e Dani. Meus tios e tias, que são muitos e que acompanham cada momento! Meus avós. Mesmo estando longe, torceram e acompanharam tudo de perto! Agradeço ao meu avô Arnaldo e meu pai, Gilmar, que fisicamente não estão mais para ver este momento, mas que os sinto perto. Sei que se eles estivessem estariam vibrando, e que só cheguei aqui pelo que eles plantaram em mim.

Agradeço ao meu orientador, Hermes, pela confiança que depositou. Agradeço às correções e por ter estado sempre disponível a me ajudar. Também por ter ouvido minhas sugestões e ter topado o desafio de pesquisarmos um assunto que seria novidade para nós dois.

Agradeço a todos os docentes do PPBGN. Em especial, ao Nuno e a Elaine, por terem contribuído bastante com apontamentos para melhorar a pesquisa. Agradeço pela sensibilidade que tem e o interesse genuíno em ajudar. Me senti muito acolhido por essa equipe e isso foi fundamental durante esses anos. Muito obrigado! Cada um acrescentou alguns tijolos nessa construção. Ao Michel e ao Zanella vai meu agradecimento em guarani: Aguyje! Agradeço também à Lilian Sayuri, pelo norte que nos deu com a pesquisa em diversos momentos.

Sou muito grato à UNILA, grato por existir um espaço como esse em Foz do Iguaçu, em que podemos interagir com tantas culturas. Que lugar rico! Agradeço aos colegas da primeira turma do PPBGN: Alejandra, Marcos, Tarik, Roberto, Fátima e Jerson. Desejo todo

o sucesso nas próximas etapas que vocês viverão! Que sigam firmes nessa empreitada de fazer ciência.

Agradeço à Dona Elza e Dona Lúcia, nossas vizinhas, que nos acolheram como se fôssemos parentes, foi tão bom chegar em uma cidade em que não conhecíamos ninguém e poder contar com esse acolhimento caloroso. Obrigado!

Agradeço também à CAPES pela bolsa de auxílio financeiro que permitiu que esta pesquisa fosse realizada.

Por fim, agradeço a meu Pai Celestial por me permitir viver tudo isso e pelas pessoas que colocou no caminho.

“O passado ficou para trás, aprenda com ele. O futuro está na sua frente, se prepare para ele. O presente está aqui, viva-o.”

Thomas S. Monson

TRIPODE, Gabriel Accioly. SCHMITZ, Hermes José. **Diversidade Filogenética de Drosophilidae (Diptera) No Bioma Pampa**. 2019. 73 páginas. Dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Neotropical – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2019.

RESUMO

A sistemática filogenética entra no âmbito do estudo da ecologia de comunidades com a informação necessária que torna cada espécie única, ou seja, sua própria história evolutiva. O Pampa brasileiro é um bioma no qual se predominam os campos nativos que está sofrendo grande impacto antrópico. A família Drosophilidae compreende um grupo cosmopolita de moscas acalitradas extremamente diversas, que têm sido extensivamente estudadas, uma vez que várias espécies são consideradas organismos modelos em diversas áreas da biologia. No entanto, análises de diversidade filogenética desse grupo são ainda inexistentes. As duas propostas filogenéticas mais abrangentes publicadas para o grupo (Yassin, 2013; Russo et al 2013), são concordantes em relação a muitos posicionamentos, porém apresentam divergências. O presente estudo teve por objetivo comparar os resultados de análises de diversidade filogenética em comunidades de Drosophilidae do Pampa, feitas com as duas hipóteses e compará-los com os índices de diversidade tradicionais para o grupo. 19 pontos amostrais no Pampa, de dados já publicados, foram analisados. Foram realizadas análises de MPD (mean-pairwise-distance) e MNTD (mean-nearest-taxon-distance) e comparados os resultados obtidos com modelos nulos de diversidade. Os índices obtidos pela análise com base nas duas propostas filogenéticas são fortemente correlacionados positivamente, indicando que ambas as análises apresentam respostas muito semelhantes. Encontrou-se que, em grande parte, os pontos amostrais não apresentam uma estruturação filogenética significativamente diferente do esperado ao acaso, exceto por dois pontos amostrais que apresentaram padrão filogenético agrupado para MPD, em ambas as análises, e cinco localidades, duas não coincidentes, que apresentaram padrão filogenético agrupado para MNTD, em ambas as análises. Os resultados suportam, preliminarmente, que a perda de diversidade taxonômica é acompanhada da perda de diversidade filogenética em ambientes antropizados no Pampa. Além disso, indica que locais de campos naturais do Pampa, mesmo apresentando menor riqueza de espécies, apresentam semelhante diversidade filogenética que locais florestais.

Palavras-chave: *Drosophila*. Ecologia de Comunidades. Evolução. Insecta. Neotrópico.

TRIPODE, Gabriel Accioly. SCHMITZ, Hermes José. **Diversidad Filogenética de Drosophilidae (Diptera) En El Bioma Pampa**. 2019. 73 páginas. Dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Neotropical – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2019.

RESUMEN

La sistemática filogenética entra en el alcance del estudio de la ecología comunitaria con la información necesaria que hace que cada especie sea única, es decir, su propia historia evolutiva. La pampa brasileña es un bioma en el que predominan los campos nativos y sufre un gran impacto antrópico. La familia Drosophilidae comprende un grupo cosmopolita de moscas acaliptradas extremadamente diversas, que se han estudiado ampliamente, ya que varias especies son consideradas organismos modelo en diversas áreas de la biología. Sin embargo, los análisis de diversidad filogenética de este grupo aún no existen. Las dos propuestas filogenéticas más completas publicadas para el grupo (Yassin, 2013; Russo et al 2013) están de acuerdo con muchas posiciones, pero presentan divergencias. El presente estudio tuvo como objetivo comparar los resultados de los análisis de diversidad filogenética en comunidades de Drosophilidae de la Pampa, realizados con ambas hipótesis y compararlos con los índices de diversidad tradicionales para el grupo. Se analizaron 19 puntos de muestra en la Pampa, a partir de datos ya publicados. Se realizaron análisis MPD (media-parwise-distance) y MNTD (promedio-más cercano-taxon-distancia) y se compararon los resultados obtenidos con modelos de diversidad nula. Los índices obtenidos por el análisis basado en las dos propuestas filogenéticas están fuertemente correlacionados positivamente, lo que indica que ambos análisis presentan respuestas muy similares. Se descubrió que, en su mayor parte, los puntos de muestra no presentan una estructura filogenética significativamente diferente de la que se esperaba al azar, excepto por dos puntos de muestra que presentaban un patrón filogenético agrupado para MPD, en ambos análisis, y cinco ubicaciones, dos no coincidentes, quienes presentaron patrón filogenético agrupado para MNTD en ambos análisis. Los resultados respaldan, preliminarmente, que la pérdida de diversidad taxonómica se acompaña de la pérdida de diversidad filogenética en ambientes antropizados en Pampa. Además, indica que los sitios de campo natural de Pampa, incluso con menor riqueza de especies, tienen una diversidad filogenética similar a los sitios forestales.

Palavras clave: *Drosophila*. Ecología de Comunidades. Evolución. Insecta. Neotrópico.

TRIPODE, Gabriel Accioly. SCHMITZ, Hermes José. **Phylogenetic diversity of Drosophilidae (Diptera) in the Brazilian Pampa**. 2019. 73 pages. Master's thesis of the Graduate Program in Neotropical Biodiversity - Federal University of Latin American Integration, Foz do Iguaçu, year.

ABSTRACT

Phylogenetic systematics comes within the scope of the study of community ecology with the necessary information that makes each species unique, that is, its own evolutionary history. The Brazilian Pampa is a biome in which native fields predominate and are suffering a great anthropic impact. The Drosophilidae family comprises a cosmopolitan group of extremely diverse acaliptrated flies, which have been extensively studied, since several species are considered model organisms in various areas of biology. However, phylogenetic diversity analyzes of this group are still non-existent. The two most comprehensive phylogenetic proposals published for the group (Yassin, 2013; Russo et al 2013) are in agreement with many positions, but present divergences. The present study aimed to compare the results of phylogenetic diversity analyzes in communities of Drosophilidae from the Brazilian Pampa, made with both hypotheses and compare them with the traditional diversity indices for the group. 19 sample points in Pampa, from data already published, were analyzed. MPD (mean-pairwise-distance) and MNTD (mean-nearest-taxon-distance) analyzes were performed and the results obtained with null diversity models were compared. The indices obtained by the analysis based on the two phylogenetic proposals are strongly correlated positively, indicating that both analyzes present very similar responses. It was found that, for the most part, the sample points do not present a significantly different phylogenetic structure than randomly expected, except for two sample points that presented a grouped phylogenetic pattern for MPD, in both analyzes, and five locations, two non-coincident, who presented grouped phylogenetic pattern for MNTD in both analyzes. The results support, preliminarily, that the loss of taxonomic diversity is accompanied by the loss of phylogenetic diversity in anthropized environments in Pampa. Moreover, it indicates that Pampa natural field sites, even with lower species richness, have similar phylogenetic diversity than forest sites.

Keywords: *Drosophila*. Community Ecology. Evolution. Insecta. Neotropic.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 <i>Diversidade Filogenética</i>	12
1.2 <i>A família Drosophilidae</i>	15
1.3 <i>Estudos de assembleias de Drosophilidae no bioma Pampa</i>	21
2. OBJETIVOS	22
2.1 <i>Geral</i>	22
2.2 <i>Específicos</i>	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 <i>Área de estudo</i>	23
3.2 <i>Coleta de dados</i>	24
3.2.1 <i>Levantamento bibliográfico e seleção de inventários faunísticos para análise</i>	24
3.2.2 <i>Delimitação do conjunto regional de espécies do Pampa</i>	30
3.3 <i>Filogenia</i>	30
3.4 <i>Índices de diversidade</i>	34
3.5 <i>Testes de correlação</i>	35
4 RESULTADOS	36
4.1 <i>Conjunto regional de espécies do Pampa</i>	36
4.2 <i>Filogenia</i>	44
4.3 <i>Diversidade filogenética</i>	47
5 DISCUSSÃO	52
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
7 REFERÊNCIAS	60

1.Introdução

1.1 *Diversidade Filogenética*

A diversidade biológica é um conceito que envolve tantas dimensões que não pode de ser reduzido a uma única medida, ou parâmetro (Magurran 2005; Pavoine & Bonsall 2011; Magurran 2013). As medidas tradicionais de diversidade incluem a riqueza de espécies, que consiste em simplesmente contar a quantidade de espécies de uma comunidade, e diversos índices que consideram a riqueza, dominância e abundância de espécies. (Heip *et al.* 1998; Izsák & Papp 2000; Lean & Maclaurin 2016). No entanto, espécies não são sistema isolados, porém componentes de grupos hierárquicos mais inclusivos, relacionados evolutivamente, e essa dimensão da biodiversidade não está incluída nas análises mais tradicionais. A sistemática filogenética entra no âmbito do estudo da ecologia de comunidades com a informação necessária que torna cada espécie única, ou seja, sua própria história evolutiva (Lean & Maclaurin 2016). Afinal, as diferentes características dos organismos de uma comunidade são o resultado da divergência de um ancestral comum que todos eles compartilham (Webb *et al.* 2002; Lean & Maclaurin 2016). Filogenias fornecem informações-chave que não são disponíveis por listas de espécies ou taxonomia. Elas detalham o padrão de relações entre as espécies. (Purvis & Hector 2000; Lean & Maclaurin 2016). Uma comunidade é mais filogeneticamente diversa quando as espécies que a compõem são filogeneticamente mais distintas (Lean & Maclaurin 2016).

Nas últimas décadas, dados os avanços na construção de hipóteses filogenéticas, o conhecimento das relações filogenéticas entre as espécies tem cada vez mais desempenhado um importante papel na elucidação de processos ecológicos em uma comunidade, incluindo competição (e.g., Kembel & Hubbell 2006; Cahill *et al.* 2008; Bennett *et al.* 2013), filtro ambiental (e.g., Leibold *et al.* 2010; Uriarte *et al.* 2010), sucessão ecológica (e.g., Szefer *et al.* 2017), estabilidade ecossistêmica (e.g., Cadotte *et al.* 2012) e produtividade (e.g., Cadotte *et al.* 2009; Cadotte 2013). No âmbito da biologia da conservação, os dados filogenéticos trazem a informação necessária para a quantificação precisa

da história evolutiva dentro e entre comunidades, fornecendo informações-chave para abordar os desafios de como quantificar, manejar e conservar a biodiversidade. (Faith 1992; Hardy & Senterre 2007).

O reconhecimento de que a história evolutiva e as interações dentro de uma comunidade são relacionadas não é recente, como citado por Webb *et al.* (2002), o próprio Charles Darwin apresentou em “A Origem das Espécies” (1859) várias linhas de raciocínio que expunham elementos de compreensão de que a interação das espécies em comunidades é baseada em traços fenotípicos que estão relacionados a suas histórias evolutivas. As primeiras tentativas de incorporar as relações filogenéticas no contexto do estudo de comunidades remontam da década de 1940, destacando-se o estudo de Elton (1946), no qual ele postulou que o pequeno número de espécies pertencentes ao mesmo gênero em uma dada localidade era evidência do princípio de exclusão competitiva entre espécies mais semelhantes, por terem nichos ecológicos mais similares. No entanto, o tema não ganhou tanto foco na comunidade científica até o início da década de 1990.

Em 1990, Robert M. May publicou um artigo que alavancou muitos trabalhos integrando aspectos evolutivos ao estudo de comunidades biológicas, tornando-se um dos clássicos da literatura com respeito ao assunto. May (1990) questionou as métricas de diversidade que dão a cada espécie o mesmo peso, sem levar em consideração o histórico evolutivo que aquela espécie, ou grupo, preserva. Como exemplo claro e drástico, o próprio autor citou um grupo de répteis endêmicos das ilhas da Nova Zelândia, conhecidos como tuataras. Apenas duas espécies viventes são conhecidas, *Sphenodon punctatus* e *S. guntheri*, as únicas representantes atuais de uma ordem, outrora numerosa, conhecida como Rhyncocephalia. A hipótese filogenética mais plausível é que sejam grupo-irmão de todos os Squamata, clado que compreende as cobras (Ophidia) e lagartos (Lacertilia). Com base nisso, como considerar o peso da tuatara em relação aos Squamata em um índice de diversidade? Dar a cada espécie o mesmo peso e então, considerar que uma espécie tão singular como a tuatara acrescenta o mesmo que qualquer espécie de cobra ou lagarto a um índice de diversidade, ou dar a cada clado-irmão o mesmo peso e então, considerar que a tuatara terá o mesmo valor que todas as aproximadamente 6.000 espécies de cobras e lagartos juntas? Claramente, nenhuma das duas

alternativas é razoável, deve haver um meio-termo entre esses dois extremos que seja admissível, e é justamente a busca por esse equilíbrio que tem levado a elaboração de diversos índices que visam incorporar o componente evolutivo em análises de diversidade de comunidades (Webb *et al.* 2002; Lean & Maclaurin 2016).

Faith (1992), foi o primeiro a propor um índice de diversidade filogenética baseado no tempo de divergência entre as espécies, conhecido como PD (*phylogenetic diversity*), que considera a soma dos comprimentos de ramo da hipótese filogenética para as espécies de uma comunidade, sendo, portanto, implicitamente correlacionado à riqueza. Para o cálculo desse índice é necessário conhecer o tempo de divergência entre as espécies e, para que haja uma boa estimativa, geralmente é requerida a construção de uma árvore filogenética baseada no sequenciamento de vários genes, que ainda é inatingível para muitas *taxa* na maioria das comunidades (Erickson *et al.* 2014), especialmente em comunidades ecologicamente diversas, como nos trópicos, as quais informações filogenéticas são ainda mais limitantes (Kress *et al.* 2009).

Uma abordagem alternativa é calcular uma medida de diversidade filogenética baseada na topologia da árvore, ou seja, pode-se estimar a diversidade filogenética de uma comunidade calculando o número de nós da filogenia proposta. Webb (2000) propôs duas medidas de diversidade baseadas na topologia da árvore, chamadas distância média par-a-par (MPD, do inglês *mean pairwise distance*) e a distância média do vizinho mais próximo (MNTD, do inglês *mean nearest taxon distance*). A MPD calcula a distância filogenética média entre todas as combinações de pares de espécies da comunidade amostrada, sendo assim, a MPD não é necessariamente diretamente correlacionada com riqueza de espécies e é fortemente influenciada pela presença de espécies nos ramos mais profundos da filogenia (Swenson 2012; Mazel *et al.* 2015). MNTD mede a distância filogenética média do parente mais próximo de todas as espécies da comunidade amostrada, dessa forma, MNTD é necessariamente sensível a alterações em *taxa* proximamente relacionados e menos sensível a mudanças nos ramos mais profundos da filogenia (Erickson *et al.* 2014). Mazel *et al.* (2015) demonstrou que MNTD captura informações acerca da estrutura filogenética de forma semelhante à PD (Faith 2002), sugerindo que

múltiplas métricas sejam realizadas na análise de diversidade filogenética (MPD e MNTD ou PD).

Os resultados dessas duas métricas de diversidade filogenética podem ser comparados com um modelo nulo por meio de dois índices: o índice de parentesco líquido (NRI, do inglês *net relatedness index*) e o índice do táxon mais próximo (NTI do inglês *nearest taxon index*; Webb 2000). Valores positivos de NRI indicam que a comunidade amostrada contém *taxa* mais próximos filogeneticamente do que o esperado pelo acaso e valores negativos o contrário, quantificando a estruturação geral da comunidade. Já os valores de NTI tendem a ser positivos quando há muitas espécies próximas filogeneticamente, quantifica a estruturação filogenética das relações terminais entre os *taxa*, com menor influência das relações mais profundas (Webb *et al.* 2002; Vamosi *et al.* 2009). NRI e NTI padronizam, respectivamente, as métricas de MPD e MNTD (Webb *et al.* 2002; Webb *et al.* 2008; Vamosi *et al.* 2009). Esses índices revelam se as espécies coexistentes em uma comunidade biológica são mais próximas ou distantes do que o esperado pelo acaso, o que é uma informação essencial para o entendimento de regras de assembleia da comunidade (Kembel & Hubbel 2006; Gastauer & Meira-Neto 2014; Miazaki *et al.* 2015), bem como em determinar os processos evolutivos que definiram a biodiversidade atual. (Fine & Kembel 2011).

1.2 A Família Drosophilidae

A família Drosophilidae compreende um grupo cosmopolita de moscas acaliptradas extremamente diversas, que têm sido extensivamente estudadas, uma vez que várias espécies são consideradas organismos modelos em diversas áreas da biologia (Brake & Bächli 2008), com destaque para *Drosophila melanogaster*. Está incluída na superfamília Ephydroidea, que contém duas grandes famílias, Ephydridae e Drosophilidae, e outras famílias menores, tais como Camillidae, Diastatidae e Curtonotidae. A espécie tipo dessa família foi descrita em 1787, *Musca funebris*, por Fabricius, que mais tarde foi alocada em um novo gênero: *Drosophila funebris* (Evenhuis & Okada 1989).

O catálogo mais recentemente publicado desse grupo compreende 3962 espécies descritas distribuídas em mais de 70 gêneros (Brake & Bächli 2008). O

grupo é dividido em duas subfamílias, Steganinae, que compreende 28 gêneros e 697 espécies e Drosophilinae, com um número consideravelmente maior, compreendendo 43 gêneros e 3265 espécies. A base de dados online, TaxoDros, lista atualmente aproximadamente 4500 espécies de Drosophilidae (Bächli 2015), dessas, 963 espécies pertencentes a 29 gêneros de Steganinae e 3497 pertencentes a 48 gêneros de Drosophilinae.

O número de espécies dentro da subfamília Drosophilinae também está distribuído de maneira desuniforme, visto que o gênero *Drosophila* compreende aproximadamente 2000 espécies, ou seja, mais de 50% de todas as espécies da subfamília. Isso ocorre em consequência de dois motivos: primeiramente devido ao sucesso radiativo das espécies do gênero, especializadas em grande diversidade de nichos, e da subsequente rápida diversificação evolutiva (Markow & O'Grady 2005; 2006) e, em segundo lugar, devido à tendência e falha humana de acabar utilizando o grupo maior e mais conhecido como um “cesto de bugigangas”, no qual as espécies difíceis e incertas de agrupamento acabam sendo todas “jogadas” dentro (O'Grady & DeSalle 2018).

Devido à grande diversidade de espécies em apenas um gênero, taxonomistas inseriram uma variedade de categorias adicionais para facilitar a organização dos grupos. Dentre essas, se destacam os “grupos de espécies”, que abrangem espécies proximamente relacionadas e com traços fenotípicos semelhantes, propostas pela primeira vez por Sturtevant (1942). Outro termo comum é “radiação”, que se refere a um nível hierárquico taxonômico que reúne vários grupos de espécies relacionados, proposto pela primeira vez por (Throckmorton 1962).

Diversos estudos sugerem que o gênero *Drosophila* é parafilético (Throckmorton 1975; DeSalle & Grimaldi 1991; Remsen & O'Grady 2002). Yassin (2013) concorda que o gênero *Drosophila* não é monofilético e que é necessária uma revisão do grupo para resolver conflitos entre a sistemática tradicional e novos dados moleculares. Várias propostas foram feitas para esse realinhamento do gênero, porém ainda não foi chegado a um consenso. Van der Linde *et al.* (2007) propuseram a divisão do gênero em diversos gêneros menores, correspondentes às radiações propostas por Throckmorton (1975), no entanto essa divisão não foi amplamente aceita. Já O'Grady *et al.* (2008) e O'Grady & Markow (2009) pontuaram que, apesar da evidente parafilia do

gênero *Drosophila*, nenhum dos gêneros propostos tem suporte estatístico suficiente com respeito à monofilia e posição filogenética. Além disso, a falta de caracteres diagnósticos torna esses grupos impossíveis de serem distinguidos, exceto por métodos moleculares (Thomas & Hunt 1993; O'Grady & Markow 2009).

Throckmorton (1962) foi o primeiro a propor uma hipótese abrangente de relações filogenéticas de Drosophilidae. Ele dividiu a família em 4 radiações: Steganinae, Scaptodrosophila, Sophophora e Drosophila, sendo que as últimas três radiações são subgêneros dentro do gênero Drosophila. A radiação Drosophila é ainda dividida em três partes principais: Uma radiação contendo o grupo *funebria* de espécies e *taxa* relacionados; A radiação *virilis-repleta* e a radiação *immigrans-Hirtodrosophila*. A radiação *immigrans-Hirtodrosophila* é subdividida em *Hirtodrosophila* do Velho Mundo e a radiação *tripunctata*. A delimitação destas radiações não era comprometida com o conceito de monofilia, portanto algumas representam grupos parafiléticos. Além disso, ele não seguiu algum algoritmo cladístico explícito e, portanto, seu estudo é de difícil reprodutibilidade. Ainda assim, várias de suas conclusões foram sustentadas por diversos estudos mais atuais e a nomenclatura dessas radiações é ainda amplamente utilizada (e.g. Thomas & Hunt 1993; O'Grady & Markow 2009; Remsen & O'Grady 2002; Yassin 2013).

Um marco no estudo das relações filogenéticas de Drosophilidae é o trabalho de Grimaldi (1990), baseado na análise de 218 caracteres morfológicos. Ele manteve a divisão da família em duas subfamílias e dividiu cada uma em duas tribos. Suas análises também apontaram a parafilia do gênero *Drosophila*, no entanto ele buscou resolver essa parafilia sugerindo que alguns subgêneros de *Drosophila* (*Scaptodrosophila* e *Hirtodrosophila*) deveriam ser reconhecidos como gêneros independentes.

Os primeiros estudos filogenéticos de Drosophilidae com dados moleculares deram-se utilizando apenas um gene (e.g., DeSalle 1992; Pélandakis & Solignac 1993; Russo *et al.* 1995), sendo seguidos por trabalhos de múltiplos genes (e.g., Remsen & O'Grady 2002; van der Linde *et al.* 2010; Yassin *et al.* 2010) e culminando em trabalhos com o genoma completo de algumas espécies (Drosophila 12 Genomes Consortium 2007). A maioria deles tem focado em propor hipóteses filogenéticas dentro de grupos de espécies. Uma revisão de

família, proposta por Yassin (2013), com dados morfológicos e moleculares, e uma análise de uma supermatriz de dados moleculares (aproximadamente 9000 pb nucleares), de Russo *et al.* (2013), envolvendo 358 espécies (14 gêneros, oito subgêneros, 57 grupos de espécies e 65 subgrupos) são os dois estudos mais abrangentes e recentes da família Drosophilidae. Os próximos parágrafos consistirão em uma comparação das topologias apresentadas por esses dois estudos (Figura 1, retirada de O'Grady & DeSalle 2018). Para facilitar a comparação, as linhagens foram numeradas de I a IX.

Em sua recente revisão da família Drosophilidae, Yassin (2013) incluiu 30 gêneros em Steganinae e 43 em Drosophilinae. Seu estudo consistiu na análise molecular de um subconjunto de gêneros e espécies na família e posterior análise de 37 caracteres morfológicos dentro da topologia gerada. O resultado de sua análise trouxe alterações significativas no entendimento das relações filogenéticas dentro da família: dois gêneros (*Cladochaeta* e *Diathoneura*) foram transferidos para Ephydriidae, o grupo irmão de Drosophilidae. Seu trabalho também incluiu diversos gêneros, especialmente dentro da subfamília Steganinae, que jamais haviam sido analisados em estudos moleculares. Houve também significativas alterações dentro do gênero *Drosophila*. Vários gêneros de Drosophilidae foram sinonimizados com o gênero *Drosophila* (*Apacrochaeta*, *Sphyrnoceps* e *Palmophila*), enquanto outros, como o grupo de drosophilídeos havaianos, foram removidos e colocados dentro do gênero *Idiomyia*, conforme sugerido por Grimaldi (1990). A revisão de Yassin (2013) também delimitou cinco subgêneros dentro de Drosophilidae: *Sophophora*, *Dorsilopha*, *Drosophila*, *Siphlodora* e *Dudaica*, estabelecendo também quais grupos de espécies constituem cada subgênero.

Yassin (2013) propõe que a subfamília Steganinae é um grupo monofilético e irmão da subfamília Drosophilinae, enquanto Russo *et al.* (2013) sugerem que dois gêneros de Steganinae (*Leucophenga* e *Phortica*) sejam irmãos de *Chymomyza* (que pertence à subfamília Drosophilinae) e que o gênero *Scaptodrosophila* seja parafilético em relação todos os outros Drosophilidae considerados. O'Grady & DeSalle (2018) comentam que esse resultado de Russo *et al.* (2013) diverge de qualquer outro estudo prévio e sugerem que pode ter sido o resultado do uso de um grupo externo muito distante. De forma interessante, o gênero *Scaptodrosophila*, considerado anteriormente um

subgênero de *Drosophila*, não é considerado monofilético em ambas as análises. Essas relações estão expressas nas linhagens I-II, que formam a ramificação mais primitiva em relação a todas as outras linhagens (III – IX), linhagens essas que compõem o maior grupo dentro de Drosophilidae, contendo o gênero *Drosophila*, e espécies alocadas em outros gêneros (*Zaprionus*, *Zygothrica*, *Lordiphosa*, etc.).

Em ambas hipóteses, a linhagem III inclui o subgênero *Sophophora* (de *Drosophila*) e o gênero *Lordiphosa*. É irmã das linhagens IV-IX. A linhagem IV contém o subgênero *Dorsilopha* (de *Drosophila*, representado por *D. busckii*) e o gênero *Styloptera* (analisado apenas por Yassin 2013), sendo irmã das linhagens V-IX em ambas as análises. As linhagens V e VI são um grupo heterogêneo de vários gêneros. No estudo de Yassin, a linhagem V é irmã de VI-IX, e a linhagem VI é parafilética (VIa e VIb), sendo que VIb é irmã de VII. Em Russo *et al.* (2013), as relações dos *taxa* nas linhagens V e VI são levemente diferentes, provavelmente devido à reduzida amostra de *taxa* do estudo de Yassin (2013). A linhagem VII, em ambas análises, corresponde à nova delimitação do subgênero *Drosophila* (Yassin 2013) que corresponde em grande parte à radiação *immigrans-tripunctata* de Throckmorton (1962; 1975) o que é suportado também por outros estudos (Russo *et al.* 2013). A linhagem VIII contém as espécies de Drosophilidae havaianas e é grupo irmão da linhagem IX, que, por sua vez, foi definida por Yassin (2013) como a nova delimitação do subgênero *Siphodora* de *Drosophila*, correspondente em grande parte à radiação *virilis-repleta* (Throckmorton 1962; 1975).

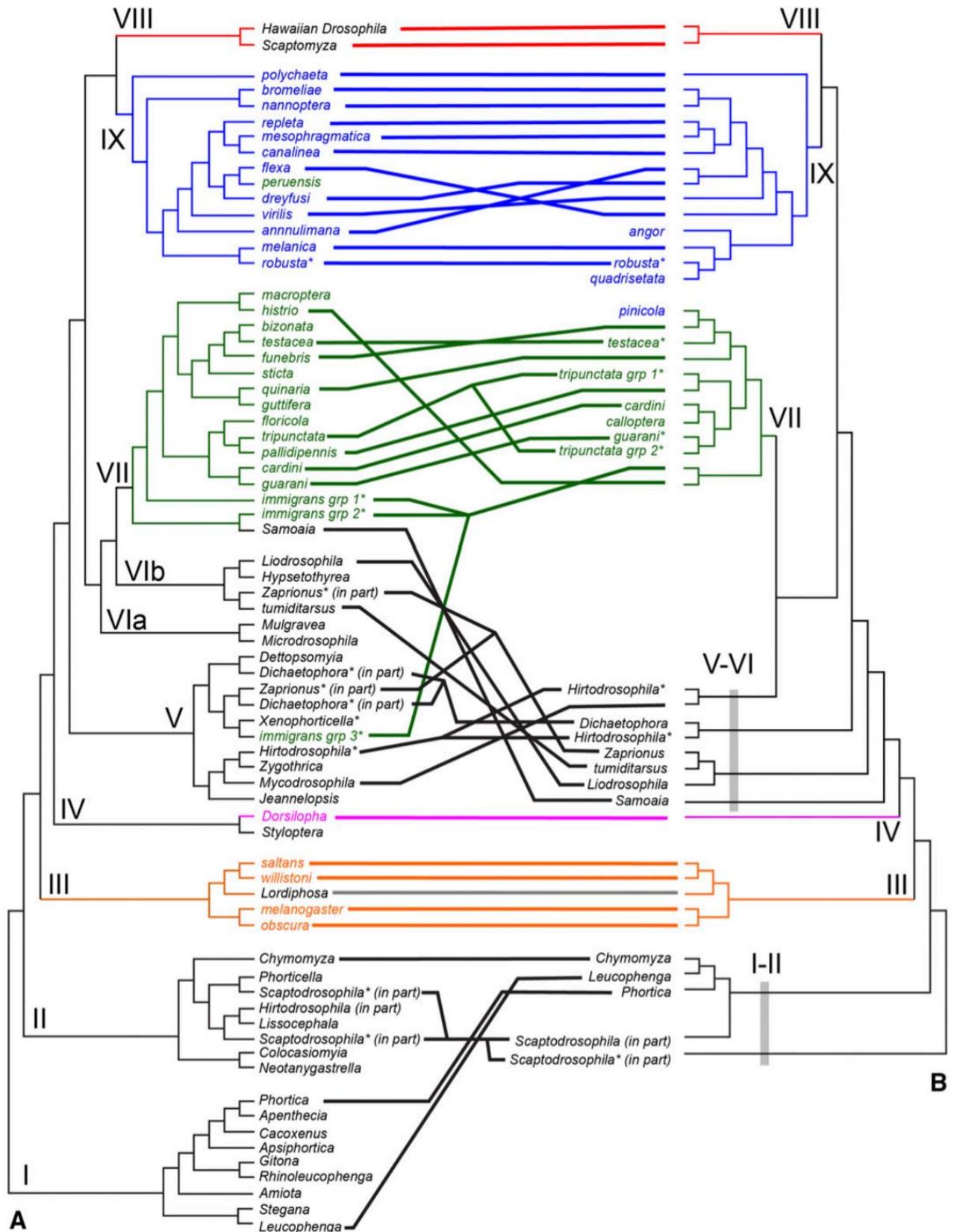


Figura 1. Propostas filogenéticas de (A) Yassin (2013) e (B) Russo *et al.* (2013) para os grandes clados de Drosophilidae. Os números romanos indicam as linhagens referidas no texto. Azul: radiação *virilis-repleta* (IX); Verde: *immigrans-tripunctata* (VII); Vermelho: Drosófilas havaianas (VIII); Rosa: *Dorsilopa* (IV). Laranja: *Sophophora* (III). Extraída de O'Grady & DeSalle (2018).

1.3 Estudos de assembleias de Drosophilidae no bioma Pampa.

Os primeiros registros de espécies de Drosophilidae no Brasil foram feitos por Duda (1925) e Dobzhansky & Pavan (1943), em estudos com genética populacional de Drosophilidae, especialmente do grupo *willistoni*. Desde então, diversos estudos a respeito de assembleia de Drosophilidae em vários tipos de ambientes têm sido realizados no Brasil, como por exemplo, Floresta Atlântica (e. g., Toni *et al.* 2007), Caatinga (e. g., Malogolowkin 1951; Rohde *et al.* 2013), Cerrado (e. g., Tidon 2006; Chaves & Tidon 2008) e Pantanal (Val & Marques 1996).

O Pampa, em território brasileiro, ocupa a região sul, compreendendo 63% da área geográfica do estado do Rio Grande do Sul, no extremo sul do Brasil, e 2,07% do território brasileiro (Brasil, 2019). Na América do Sul, os pampas e campos são compartilhados por Brasil, Uruguai e Argentina, estendendo-se por uma área de aproximadamente 750 mil Km² (Brasil, 2019). É um bioma no qual se predominam os campos nativos, porém também conta com a presença de matas ciliares, restinga, matas de encosta, matas de pau-ferro, formações arbustivas, butiazais, banhados, afloramentos rochosos, etc (Brasil, 2019). A introdução de monocultura e pastagens com espécies exóticas é uma ameaça à biodiversidade nativa e descaracterização das paisagens naturais do Pampa (Brasil, 2019). Estima-se que, em 2008, apenas 36,03% restavam da vegetação nativa do Pampa (CSR/IBAMA, 2010).

Diversos estudos inventariaram a fauna de Drosophilidae do Pampa em diferentes fitofisionomias. Hochmüller *et al.* (2010), Garcia *et al.* (2012) e Poppe *et al.* (2012), amostraram áreas com diferentes graus de urbanização e encontraram diferenças significativas na composição entre comunidades de ambiente urbano e florestal, sendo que espécies exóticas são mais abundantes em área urbana e, segundo o resultado de Poppe *et al.* (2012), o ambiente urbano apresentou menor diversidade de espécies. Esses resultados reforçam os impactos causados pela urbanização e aumento das áreas agrícolas no Rio Grande do Sul. Poppe *et al.* (2013) e Poppe *et al.* (2015) analisaram as flutuações sazonais de comunidades de Drosophilidae em resposta à

temperatura, demonstrando dados importantes relativos à sensibilidade das comunidades, especialmente no cenário atual de mudanças climáticas. Poppe *et al.* (2014), em coletas em três diferentes fitofisionomias naturais do Pampa (campo aberto, interior e borda de mata) encontrou uma alta diversidade de Drosophilidae, revelando uma fauna característica da região, especialmente de espécies do gênero *Rhinoleucophenga*, e reforçando a necessidade de maior área de unidades de conservação do Pampa. Da Silva *et al.* (2005) analisou a dinâmica populacional de *Zaprionus indianus* na região, espécie exótica introduzida recentemente no ambiente, trazendo à luz um entendimento maior a respeito das respostas populacionais à introdução de uma espécie invasora, tanto da espécie invasora como das nativas.

As moscas da família Drosophilidae têm tido um papel de destaque em todas as áreas da biologia, desde o início dos estudos de T. H. Morgan com esse grupo, há mais de um século, até a atualidade, com mais de 30 espécies de Drosophilidae com genoma completamente sequenciado. Os avanços decorrentes do estudo desse grupo são bem conhecidos, especialmente para *D. melanogaster*, sendo que poucos grupos de organismos receberam tanto atenção quanto este. O presente trabalho constitui a primeira tentativa, até onde se tem conhecimento, de uma investigação de diversidade filogenética da família Drosophilidae.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Investigar a diversidade filogenética de Drosophilidae do bioma brasileiro Pampa e comparar os índices de diversidade filogenética com os índices de diversidade de espécies tradicionalmente aplicados para estas comunidades.

2.2 Objetivos específicos

Obter o conjunto regional de espécies de Drosophilidae atraídas por isca de banana fermentada encontradas no bioma brasileiro Pampa em diferentes fitofisionomias.

Construir duas hipóteses filogenéticas para o conjunto regional de espécies do Pampa, com base nas propostas de Yassin (2013) e Russo *et al.* (2013).

Obter o padrão filogenético (aleatório, agrupado ou disperso) para diferentes comunidades de Drosophilidae do Pampa.

Comparar índices de diversidade filogenética (MPD e MNTD) obtidos para o mesmo conjunto de dados (conjunto regional de espécies e ocorrência em cada localidade) com duas diferentes propostas filogenéticas para a família Drosophilidae (Yassin 2013; Russo *et al.* 2013).

Comparar os índices de diversidade filogenética de Drosophilidae do bioma brasileiro Pampa para diferentes fitofisionomias com os índices tradicionais de diversidade (Shannon, equitabilidade e riqueza).

3. Materiais e Métodos

3.1 Área de estudo

A delimitação da cobertura do bioma Pampa foi considerada conforme o estabelecido oficialmente pelo Ministério Do Meio Ambiente (MMA 2019) e representado na Figura 2.

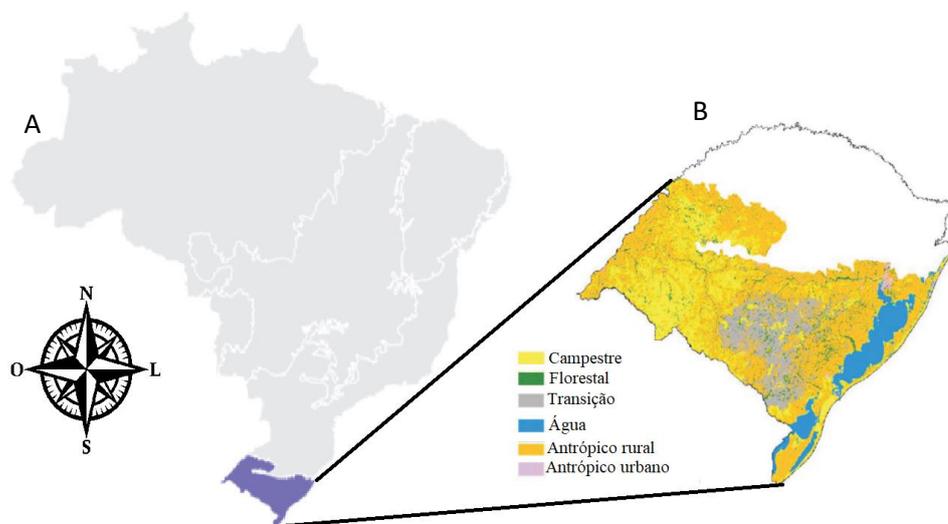


Figura 2. Mapa da cobertura do Pampa, apresentando as diferentes fitofisionomias do bioma, segundo Ministério do Meio Ambiente (MMA 2019). A. Mapa do Brasil. B. Ampliação do mapa do estado do Rio Grande do Sul. (imagem

acessível em http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/mapas_cobertura_vegetal.pdf (editada pelo autor).

3.2 Coleta de dados

3.2.1 Levantamento bibliográfico e seleção de inventários faunísticos para análise

Foi realizado um levantamento bibliográfico de inventários faunísticos de Drosophilidae da região do Pampa. Não foram considerados estudos focais que lidam apenas com algumas espécies-alvo, como estudos com taxonomia, genética ou outros aspectos específicos de sua biologia, coletas esparsas, etc., limitando-se àqueles que buscaram inventariar a diversidade de Drosophilidae em uma determinada localidade de maneira ampla. Destes, foram selecionados, como base de dados para as análises do presente estudo, os inventários que atendessem aos seguintes critérios:

- i) Publicados após o ano 2000, para garantir a homogeneidade no esforço de identificação taxonômica das espécies, já que em estudos mais antigos é menos comum que espécies crípticas sejam diferenciadas por análises de terminália, por exemplo, deixando um maior número de espécies presentes na comunidade não detectadas.
- ii) Que utilizaram como método de coleta armadilhas com atração por isca de banana fermentada (Tidon & Sene 1988), uma técnica padronizada e comum em estudos de comunidades de Drosophilidae. Outras iscas e métodos não foram incluídos, pois o objetivo é assegurar-se que a mesma guilda esteja sendo considerada.

Foram encontrados seis inventários de espécies de Drosophilidae publicados que atendem aos critérios. Juntos, eles compreendem 19 pontos amostrais no Pampa (Tabela 1), sendo que, para a presente análise, cada qual foi considerado individualmente. Os pontos amostrais estão representados na Figura 3.

Tabela 1. Inventários faunísticos de Drosophilidae publicados após o ano 2000 até a presente data (Julho de 2019), de ocorrência no Pampa, utilizando isca de banana fermentada, considerados nas análises do presente estudo. As siglas utilizadas não representam, necessariamente, as siglas utilizadas nos originais.

Sigla	Localidade	Ambiente	Coordenadas	Referência
CAU	Cruz Alta	Área urbana	28°37'40"S; 53°36'21"W	Hochmüller <i>et al.</i> (2010)
CAR	Cruz Alta	Mancha florestal em área rural	28°34'11"S;53°36'53"W	Hochmüller <i>et al.</i> (2010)
JBO	Jardim Botânico de Porto Alegre	Mancha florestal em área urbana	30°3.091' S, 51°10.709' W	Garcia <i>et al.</i> (2012)
PGK	Parque Gabriel Knijnik, Porto Alegre	Mancha florestal em área de média urbanização	30°6.219' S, 51°12.159' W	Garcia <i>et al.</i> (2012)
MSA	Morro Santana, Porto Alegre	Mancha florestal em área de baixa urbanização	30°3.848' S, 51°7.377' W	Garcia <i>et al.</i> (2012)
SLU	São Luiz Gonzaga	Área urbana	28°24'390"S, 54°57'371"W	Poppe <i>et al.</i> (2012); Poppe <i>et al.</i> (2016)
SLR	São Luiz Gonzaga	Mancha florestal em área rural	28°22'51.2"S,55°00'8.62"W	Poppe <i>et al.</i> (2012)
BOC	Bossoroca	Campo aberto	28°45'01"S 54°56'55"W	Poppe <i>et al.</i> (2016)
BOB	Bossoroca	Borda de mancha florestal	28°45'01"S 54°56'55"W	Poppe <i>et al.</i> (2016)
BOI	Bossoroca	Interior de mancha florestal	28°45'01"S 54°56'55"W	Poppe <i>et al.</i> (2016)
HBI	Horto Botânico Irmão Teodoro Luis, Capão do Leão	Restinga	31°47'48" S 52°15'45" W	Mendes <i>et al.</i> (2017); Duarte <i>et al.</i> (2008)

EET	Estação Ecológica do Taim, Rio Grande	Charco em área rural	32°32'20.0"S 52°32'18.9"W	Duarte <i>et al.</i> (2018)
AEV	Área de Proteção Ambiental de Estrada Velha, Rio Grande	Charco em área rural	32°02'56.0"S 52°16'35.9"W	Duarte <i>et al.</i> (2018)
ALV	Área de Proteção Ambiental de Lago Verde, Rio Grande	Charco em área de média urbanização	32°08'07.5"S 52°10'36.2"W	Duarte <i>et al.</i> (2018)
LBI	Lago Biguás, Rio Grande	Charco em área urbana	32°08'07.5"S 52°10'36.2"W	Duarte <i>et al.</i> (2018)
IMA	Ilha dos Marinheiros, Rio Grande	Charco em área rural	31°59'31.0"S 52°07'10.5"W	Duarte <i>et al.</i> (2018)
OSO	Osório, RS	Charco em área rural	29°52'54.2"S 50°16'23.7"W	Duarte <i>et al.</i> (2018)
SNI	Fragmento Florestal em São Nicolau - RS	Mancha Florestal em área de média urbanização	28°10'54.5"S 55°16'39.5"W	Duarte <i>et al.</i> (2018)
CAN	Fragmento Florestal em Canguçu - RS	Mancha Florestal em área preservada	29°56'14.9" S 50°16'01.0" W	Duarte <i>et al.</i> (2018)

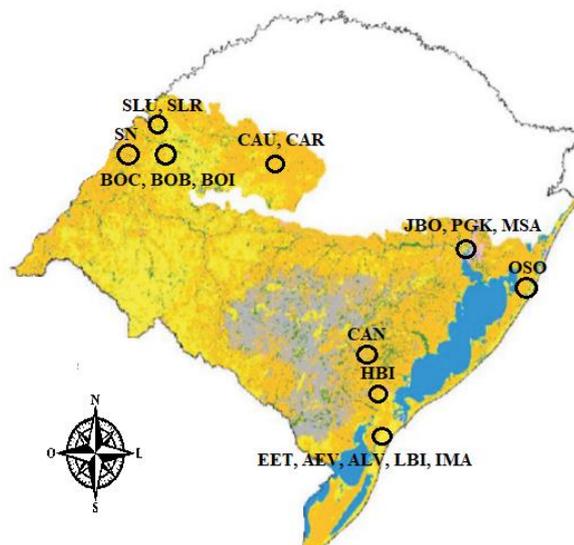


Figura 3. Mapa da cobertura do Pampa (MMA 2019) indicando os pontos amostrais considerados neste estudo (Tabela 1). Imagem acessível em http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/mapas_cobertura_vegetal.pdf (editada pelo autor).

Hochmüller *et al.* (2010) amostraram no município de Cruz Alta, município a altitude de 432m, em uma região de transição entre Mata Atlântica e Pampa. As coletas foram feitas em dois locais, uma área urbana classificada como média urbanização (CAU), de acordo com os critérios apresentados por Ruszczyk (1986/1987); e uma mancha florestal em área rural (CAR), caracterizada como floresta estacional semidecidual. Em CAU foram realizadas dez coletas mensais entre abril e dezembro de 2007. Em CAR foram realizadas cinco coletas entre maio de 2008 e fevereiro de 2009.

Garcia *et al.* (2012) coletaram na cidade de Porto Alegre, localizada no norte do Pampa, próximo à Mata Atlântica, e que compartilha algumas características com esse bioma. As coletas foram realizadas em três pontos no município, que representam três diferentes graus de urbanização: Jardim Botânico (JBO), Parque Gabriel Knijnik (PGK) e Morro Santana (MSA), que são fragmentos florestais inseridos em uma matriz de alta, média e baixa urbanização, respectivamente. Foram realizadas quatro coletas em cada localidade, totalizando 12 coletas, uma em cada estação, em 2008.

Poppe *et al.* (2012) coletaram em dois locais no município de São Luís Gonzaga, localizado à fronteira norte do bioma Pampa e caracterizado pela intensa atividade agrícola que reduziu a vegetação nativa a campos abertos

altamente degradados e fragmentos florestais de mata secundária. As coletas foram feitas em dois locais contrastantes: em área urbana (SLU) de média urbanização, de acordo com os critérios de Ruzsczyk (1986/1987) e em uma pequena macha florestal na área rural (SLR), localizado em uma matriz que originalmente era composta por savana-estépica e atualmente ocupada principalmente por agricultura. Cinco armadilhas foram utilizadas em cada coleta e as amostras foram tomadas mensalmente de setembro de 2007 a setembro de 2008 e novembro de 2008 a janeiro de 2009. SLU também foi amostrado por Poppe *et al.* (2016), em seis amostras entre dezembro de 2012 e agosto de 2014. Uma vez que representam o mesmo ponto amostral, os resultados foram somados para os fins da presente análise.

Poppe *et al.* (2016) coletaram também em um local próximo ao município de Bossoroca, uma área de Pampa natural composto por um mosaico vegetacional de campos naturais e manchas de floresta estacional semidecidual. Devido a essa heterogeneidade ambiental, as amostras foram divididas de acordo com a sua fitofisionomia: campo aberto (BOC), borda florestal (BOB) e interior florestal (BOI). Em BOC, BOB e BOI foram tomadas amostras em 12 diferentes momentos entre abril de 2011 e agosto de 2014. Em todas as coletas foram utilizadas dez armadilhas. Poppe *et al.* (2016) apresentam os mesmos dados amostrais que Poppe *et al.* (2014), acrescido de algumas coletas, portanto na presente análise foram considerados os inventários publicados por Poppe *et al.* (2016).

Mendes *et al.* (2017) coletaram no Horto Botânico Irmão Teodoro Luis (HBI), localizado no campus da Universidade Federal de Pelotas, no município de Capão do Leão. A vegetação do local é composta por um mosaico de floresta de Restinga inserida em áreas de charco e ambientes antrópicos. Foram realizadas coletas mensais entre fevereiro de 2013 e janeiro de 2014, utilizando-se de 12 armadilhas em cada. Duarte *et al.* (2018) amostraram na mesma localidade e os resultados foram somados para a presente análise.

Duarte *et al.* (2018) coletaram em diversos locais do Pampa e algumas áreas caracterizadas como Mata Atlântica (que não foram aqui consideradas), em áreas periodicamente alagadas e áreas não alagadas. As coletas em áreas periodicamente alagáveis foram realizadas nos municípios de Rio Grande, Osório e Três Cachoeiras. Em Rio Grande, foram amostradas cinco diferentes

áreas: Estação Ecológica de Taim (EET), Área de Proteção Ambiental de Estrada Velha (AEV), Área de Proteção Ambiental de Lago Verde (ALV), Lago Biguás (LBI) e Ilha dos Marinheiros (IMA), cada qual representa uma área de charco inserida em uma matriz com diferentes graus de antropização. Em Osório, um local foi amostrado, entre os rios Emboaba e Emboabinha, em um charco localizado em uma região de transição entre Pampa e Mata Atlântica. As áreas não alagadas amostradas por Duarte *et al.* (2018) no Pampa e que foram consideradas foram: Fragmento Florestal em São Nicolau (SNI), área de transição entre o Pampa e a Mata Atlântica rodeada por áreas alteradas pela ação antrópica, Horto Botânico Irmão Teodoro Luis (HBI), em Capão do Leão, que foi também amostrado por Mendes *et al.* (2017) e já mencionado no parágrafo anterior, e Fragmento Florestal em Canguçu (CAN), uma área preservada utilizada principalmente para fruticultura e turismo. As amostras foram tomadas apenas uma vez em cada localidade.

Muitas espécies da família Drosophilidae são crípticas e a identificação específica é realizada por meio da análise morfológica da terminália masculina, sendo as fêmeas indistinguíveis morfológicamente (Singh 2016). Hochmüller *et al.* (2010) e Garcia *et al.* (2012) estabeleceram isolinhagens das fêmeas de espécies crípticas coletadas na natureza e identificaram a nível de espécie os machos obtidos com essas isolinhagens. As fêmeas que não produziram descendentes, foram identificadas a nível de grupo de espécies. Já nos estudos de Mendes *et al.* (2017) e Duarte *et al.* (2018), o número de fêmeas não identificadas em cada grupo críptico foi distribuído proporcionalmente às espécies do mesmo grupo identificadas pelos machos. Poppe *et al.* (2012) e Poppe *et al.* (2016) identificaram as fêmeas até o nível de grupo de espécies, porém não realizaram a distribuição proporcional à quantidade de machos coletados. Portanto, no presente estudo, para uma comparação padronizada nas análises estatísticas, esta distribuição proporcional das fêmeas dos grupos crípticos foi realizada para os dados de Hochmüller *et al.* (2010), Garcia *et al.* (2012), Poppe *et al.* (2012) e Poppe *et al.* (2016).

3.2.2 Delimitação do conjunto regional de espécies do Pampa

Foi construída uma matriz de dados de abundância das espécies de Drosophilidae, contendo todos os inventários considerados na presente análise, com base nos critérios descritos nesta seção, representado o conjunto regional de espécies do Pampa. Na maioria dos locais amostrados, há dados das coletas mensais ou estacionais, porém, para a presente análise, considerou-se o total de Drosophilidae coletados em todos os momentos amostrais de cada localidade.

As espécies do subgrupo *willistoni* de *Drosophila* existentes no Pampa (*D. willistoni* e *D. paulistorum*) foram consideradas como um único táxon, uma vez que são espécies crípticas de difícil identificação por morfologia, inclusive de machos, identificáveis por análises moleculares (Burla *et al.* 1949; Zanini *et al.* 2015) e não há dados da abundância de cada uma na maior parte dos estudos considerados. Como são espécie extremamente próximas filogeneticamente, as análises de diversidade filogenética não serão significativamente afetadas por isso.

3.3 Filogenia

Para o relacionamento filogenético dos grandes grupos dentro de Drosophilidae, duas hipóteses filogenéticas foram consideradas: a proposta apresentada por Yassin (2013), que será denominada Y, e a apresentada por Russo *et al.* (2013), que será denominada R. Yassin (2013) incluiu 190 espécies, pertencentes a 33 gêneros, cujas relações foram estabelecidas por meio de inferência Bayesiana de uma supermatriz concatenada de sete genes (28S *rRNA*, *Amyrel*, *Adh*, *Xdh*, *Gpdh*, *Ddc* e *COII*) com alguns *taxa* sem informação molecular disponível acrescentados à filogenia a partir de dados morfológicos. Já Russo *et al.* (2013) incluíram 358 espécies de Drosophilidae, cujos caracteres analisados foram 9917 bp de regiões nucleares codificadoras de 7 genes (*Adh*, *Amyrel*, *Ddc*, *Gpdh*, *Sod* e *Xdh*), mas não todos os genes foram incluídos para todas as espécies. Essas são as propostas filogenéticas mais abrangentes atualmente disponíveis para as relações dos grandes grupos da família Drosophilidae.

Para melhor comparação e organização das duas filogenias, os grandes grupos de Drosophilidae, em geral reconhecidos em diferentes filogenias, foram nomeados de acordo com Yassin (2013), que reconhece nove principais linhagens, as quais foram atribuídos no presente estudo, algarismos romanos, de I a IX. A linhagem VIII não apresenta nenhum representante no presente estudo, uma vez que se trata de uma linhagem de moscas havaianas. Como nenhuma das duas filogenias abrange os *taxa* do conjunto regional de espécies do presente estudo na sua totalidade, foi realizada uma busca por outras propostas filogenéticas focais para resolver as relações terminais dentro destas linhagens ou grupos menores, que sustentassem ou não a monofilia do grupo em análise e que apresentassem as relações dos *taxa* dentro dos grupos de espécies. As filogenias resultantes são, portanto, uma combinação “feita a mão” de várias hipóteses, sendo que as relações das grandes linhagens (I a IX) foram mantidas de acordo com Yassin (2013), na árvore Y, ou Russo *et al.* (2013), na árvore R. A busca por informação filogenética a partir de sequências moleculares foi realizada utilizando-se o nome de cada espécie como critério de busca no *GenBank*, considerando-se ainda outros estudos filogenéticos conhecidos que fizeram uso de outros tipos de caracteres, como morfologia (e.g. Grimaldi, 1987, 1990, dentre outros). Como critérios objetivos para a inclusão de hipóteses filogenéticas para esta análise, temos:

- i) A prioridade foi dada para a filogenia com maior sobreposição de *taxa* com o conjunto regional de espécie e que tivesse a maior quantidade de caracteres analisados.
- ii) Em caso de que houvesse duas ou mais filogenias com quantidade de *taxa* em sobreposição com o conjunto regional de espécies e quantidade de caracteres analisados semelhantes, optou-se pela hipótese que tivesse maior concordância com outras hipóteses filogenéticas para o grupo em questão.

Para a resolução interna das linhagens I e II, estas estão inteiramente representadas em Yassin (2013) e foram assim representadas na árvore Y, exceto pela resolução dentro de *Rhinoleucophenga*, que foi feita segundo Poppe (2016), a única proposta filogenética para o gênero. Vale salientar que as mesmas relações de Yassin (2013) para as linhagens I e II são sustentadas por

Grimaldi (1990). Russo *et al.* (2013) apresentam as relações entre as linhagens I e II de forma diferente à de Yassin (2013), colocando *Leucophenga* como grupo irmão de *Chymomyza*, e não apresenta os gêneros *Rhinoleucophenga* e *Amiota*. Conforme os critérios estabelecidos, as relações desses dois últimos gêneros citados foram resolvidos de acordo com Yassin (2013) e Grimaldi (1990) na árvore R. As linhagens III e IV apresentam relações concordantes entre os grupos de espécies, tanto em Yassin (2013) como em Russo *et al.* (2013) e foram assim representadas nas árvores Y e R. A linhagem V, em Yassin (2013), apresenta todos os *taxa* do conjunto regional, com exceção das resoluções internas de *Zygothrica*, que foram tomadas com base em Grimaldi (1987), a única análise filogenética do grupo, cujo posicionamento do gênero *Zygothrica* é idêntico ao apresentado por Yassin (2013). Em Russo *et al.* (2013), a linhagem V carece do gênero *Zygothrica*, portanto, de acordo com os critérios estabelecidos, foi considerado para a construção das relações internas desta linhagem as relações concordantes de Yassin (2013) e Grimaldi (1987; 1990) para *Zygothrica*. A linhagem VI, representada apenas pela espécie *Zaprionus indianus*, está representada nas duas propostas. A linhagem VII, denominada radiação *immigrans-tripunctata* (Throckmorton 1975) ou subgênero *Drosophila* (Yassin 2013), embora apareça como um grupo monofilético em ambas as propostas (Yassin 2013; Russo *et al.* 2013), apresenta as resoluções internas bastante conflitantes. Devidos aos critérios estabelecidos, as relações apresentadas por Yassin (2013) e Russo *et al.* (2013) não foram consideradas, pois outros estudos apresentam uma maior sobreposição de *taxa* com o conjunto regional de espécies. São estes: Robe *et al.* (2010) e Morales-Hojas *et al.* (2012). Ambos apresentam uma sobreposição e quantidade de caracteres analisados semelhantes, portanto utilizou-se do segundo critério: o que tenha maior quantidade de filogenias congruentes. Neste caso, o de Morales-Hojas *et al.* (2012) apresenta conflitos com a proposta de Yassin (2013), enquanto que o de Robe *et al.* (2010) apresenta concordância com a proposta de Yassin (2013). Portanto, tomou-se a resolução de Robe *et al.* (2013) para a construção da árvore desta linhagem. Para a linhagem IX, uma situação muito semelhante acontece. Diversos estudos resgatam a monofilia deste grupo, conhecido como radiação *virilis-repleta* (Throckmorton 1975) ou subgênero *Siphodora* (Yassin 2013). As propostas de Yassin (2013) e Russo *et al.* (2013) apresenta conflitos

nas relações entre os grupos de espécies dessa linhagem. Seguindo os critérios, Russo *et al.* (2013) apresentam uma sobreposição de *taxa* bastante completa e semelhante a Robe *et al.* (2010) e Morales-Hojas *et al.* (2012), porém Russo *et al.* (2013) utilizou de uma maior quantidade de caracteres, além disso, sua topologia é quase que inteiramente concordante com Robe *et al.* (2010), exceto pelo posicionamento do grupo *dreyfusi*. Portanto, de acordo com os critérios de inclusão, a resolução de Russo *et al.* (2013) foi utilizada para a construção das relações internas da linhagem IX.

Considerando as resoluções das espécies dentro dos grupos de espécies, para o grupo *melanogaster*, utilizou-se as propostas filogenéticas concordantes de Russo *et al.* (2013) e Lewis *et al.* (2005). Para o grupo *saltans*, as propostas concordantes de Russo *et al.* (2013) e Rodríguez-Trelles *et al.* (1999). Para o grupo *willistoni*, devido à discordância entre estudos (Russo *et al.* 2013; O'Grady & Kidwell 2002) e à inexistência de propostas filogenéticas que incluíssem *D. parabocainensis* e *D. bocainensis*, as relações filogenéticas permaneceram incertas, considerando-se as espécies citadas como irmãs, considerando que elas são crípticas. Para o gênero *Zygothrica* utilizou-se o trabalho publicado por Grimaldi (1987), a única proposta filogenética publicada para o grupo. Para o grupo *annulimana* utilizou-se Tosi *et al.* (2007), a única proposta publicada para o grupo. Para o gênero *Rhinoleucophenga* utilizou-se Poppe (2016) a única proposta filogenética para o gênero. Para o subgrupo *fasciola*, de *repleta*, cujo posicionamento foi inferido segundo Franco *et al.* (2017) e Silva-Bernardi *et al.* (2006). O posicionamento de duas espécies do grupo *tripunctata* (*D. mediosignata* e *D. roehrae*), em ambas as filogenias, foi inferido a partir do trabalho de Hatadani *et al.* (2009). Assumiu-se como sustentável este posicionamento, uma vez que as relações entre *D. mediopunctata* (irmã de *D. roehrae*), *D. paraguayensis* (irmã de *D. mediosignata*) e *D. cuaso* (irmã de *D. paraguayensis* + *D. mediosignata*) são concordantes entre a filogenia proposta por Hatadani *et al.* (2009) e Robe *et al.* (2010).

O posicionamento de algumas espécies do conjunto regional que não estavam representadas em nenhuma filogenia publicada foi inferido com base no posicionamento de alguma espécie do mesmo táxon que tivesse sido incluída na análise. É o caso de *D. denieri* (grupo *lutzii*) cujo posicionamento foi inferido com base em *D. lutzii*, que aparece em Yassin (2013); *D. atrata* (grupo

calloptera), com base em *D. ornatipennis*, que aparece em Robe *et al.* (2010); *D. aldrichi* e *D. nigricruria* (ambas do subgrupo *mulleri*), segundo a posição de *D. mulleri*, apresentada por Robe *et al.* (2010); *D. antonietae* e *D. serido* (ambas do complexo *buzzatii*), de acordo com *D. buzzatii*, que aparece em Robe *et al.* (2010); *D. papei*, do subgrupo *fasciola*, cujo posicionamento foi inferido segundo a posição de *D. pictilis*, espécie críptica distinguível por pequenas variações morfológicas no formato do edeago (Bachli & Vilela 2002); *D. suzukii* (do subgrupo *suzukii*), cujo posicionamento foi inferido a partir de *D. mimetica*, apresentada em Russo *et al.* (2013).

As abundâncias das morfoespécies do gênero *Amiota* e *Leucophenga* foram somadas para as análises, uma vez que são de identidade desconhecida.

Espécies de identidade desconhecida ou sem informação filogenética foram desconsideradas na construção da árvore filogenética e, conseqüentemente, nas análises de diversidade filogenéticas. Estas espécies são, em geral, raras. Em conjunto, estas espécies excluídas das análises representaram apenas 0,01% de todos os indivíduos do banco de dados.

3.4 Índices de diversidade

Foram calculados índices que avaliam a quantidade de história evolutiva presente em cada unidade amostral;

- i) Distância filogenética média - MPD (do inglês, *Mean pairwise distance*);
- ii) Distância filogenética média do táxon mais próximo – MNTD (do inglês, *mean nearest taxon distance*);

MPD é ponderado pela abundância de espécies e mede a distância filogenética média entre os pares de indivíduos (incluindo indivíduos coespecíficos) (Swenson 2012; Mazel *et al.* 2015). MNTD também é ponderado pela abundância e mede a distância filogenética média entre um indivíduo e o indivíduo mais proximamente relacionado a este, que não seja coespecífico (Erickson *et al.* 2014).

Após calculado o MPD e MNTD esperado para cada amostra, o padrão filogenético de cada comunidade foi inferido através do cálculo de NRI e NTI.

NRI (*net relatedness index*) é definido como $[-1 (MPD - MPD.rnd)/MPD.sd]$ e NTI (*nearest taxon index*) como $[-1 (MNTD - MNTD.rnd)/MNTD.sd]$, onde MPD.sd e MNTD.sd representam o desvio padrão do MPD.rnd e MNTD.rnd (MPD e MNTD aleatórios), de 100 comunidades nulas. O modelo nulo assumido embaralha aleatoriamente os *taxa* na filogenia, mantendo a topologia da árvore. Valores positivos de NRI e NTI indicam agrupamento filogenético da comunidade, enquanto valores negativos representam dispersão filogenética. Para corroborar a significância da estruturação filogenética (agrupada ou dispersa), foi realizado um teste de valor de P para cada amostra. Apenas amostras com $P < 0.05$ ou > 0.95 foram consideradas significativamente agrupadas ou dispersas, respectivamente.

Os índices de diversidade filogenética mencionados (MPD e MNTD) foram calculados duas vezes para cada unidade amostral, cada uma das vezes utilizando-se para a análise, uma proposta filogenética diferente (Y e R).

Foram também calculadas, para cada ponto amostral, três medidas de diversidade de espécies tradicionalmente utilizadas em análises de comunidade de Drosophilidade:

- i) Riqueza de espécies – S
- ii) Índice de heterogeneidade de Shannon - H'
- iii) Índice de equitabilidade de Smith-Wilson - E_{var}

Os cálculos foram feitos através do *software R*, utilizando o pacote 'picante'.

3.5 Testes de correlação

Para avaliar a correlação entre os índices de diversidade filogenética (MPD e MNTD) entre as análises realizadas com as duas diferentes propostas filogenéticas (Y e R) e entre as métricas de diversidade tradicionais (riqueza, Shannon e equitabilidade), foram realizados testes de correlação linear de Pearson. As análises foram realizadas no *software Past*.

4. Resultados

4.1 Conjunto regional de espécies do Pampa

O banco de dados construído congrega um total de 119.320 indivíduos (Tabela 2), inventariados nos 19 pontos amostrais na presente análise. Estes estão distribuídos em nove gêneros, sendo seis da subfamília Drosophilinae (*Chymomyza*, *Drosophila*, *Hirtodrosophila*, *Mycodrosophila*, *Zaprionus* e *Zygothrica*) e três da subfamília Steganinae (*Amiota*, *Leucophenga* e *Rhinoleucophenga*). O gênero mais abundante e diverso é *Drosophila*, representado por 64 espécies de identidade conhecida, incluídas em 21 grupos de espécies e 38 morfoespécies de identidade desconhecida, das quais 34 não estão alocadas em nenhum grupo de espécies. *Chymomyza*, *Hirtodrosophila* e *Mycodrosophila* são representados, cada um, por apenas uma morfoespécie de identidade desconhecida. *Zaprionus* é representado por uma espécie de identidade conhecida. *Zygothrica* é representado por 10 morfoespécies, das quais, seis são de identidade conhecida. Dentro da subfamília Steganinae, temos *Amiota* representados por cinco morfoespécies de identidade desconhecida, *Leucophenga*, representado por uma espécie de identidade conhecida e três morfoespécies de identidade desconhecida, e *Rhinoleucophenga*, representado por 12 espécies de identidade conhecida e uma desconhecida. As espécies de identidade conhecida totalizam, em abundância, 119.207 indivíduos, isto é, 99,9% da abundância total.

4.2 Filogenia

Ambas árvores construídas compreendem 85 *taxa* do conjunto regional do Pampa, dentro de 10 gêneros e 8 grandes linhagens (radiações). A Figura 4, representa a árvore Y, cujas relações entre as linhagens I a IX representam a topologia apresentada por Yassin (2013). A figura 5, representa a árvore R, cujas relações entre as linhagens I a IX representam a topologia apresentada por Russo *et al.* (2013).

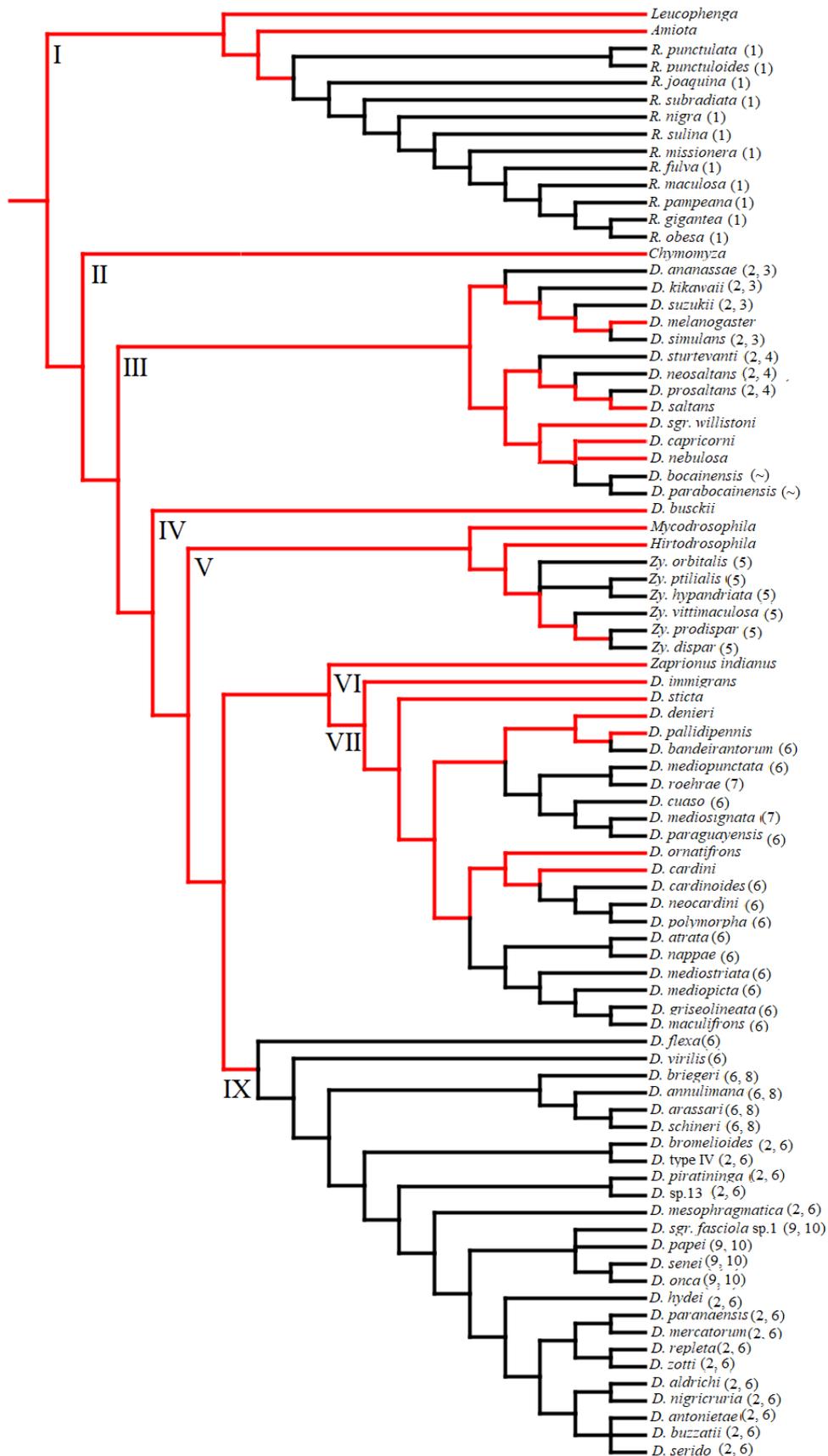


Figura 4. Árvore segundo Yassin (2013) para a resolução das relações entre as linhagens I a IX, compreendendo os taxa do conjunto regional de espécies (tabela 1). Vermelho, relações segundo Yassin (2013). Preto, relações com base em outros estudos focais. (1) Poppe, (2) Russo *et al.* (2013), (3) Lewis *et al.* (2005), (4) Rodriguez-Trelles *et al.* (1998), (5) Grimaldi (1987), (6) Robe *et al.* (2010), (7) Hatadani *et al.* (2009), (8) Tosi *et al.* (2009), (9) Silva-Bernardi *et al.* (2007), (10) Franco *et al.* (2017). (~) posicionamento inferido pela classificação linneana.

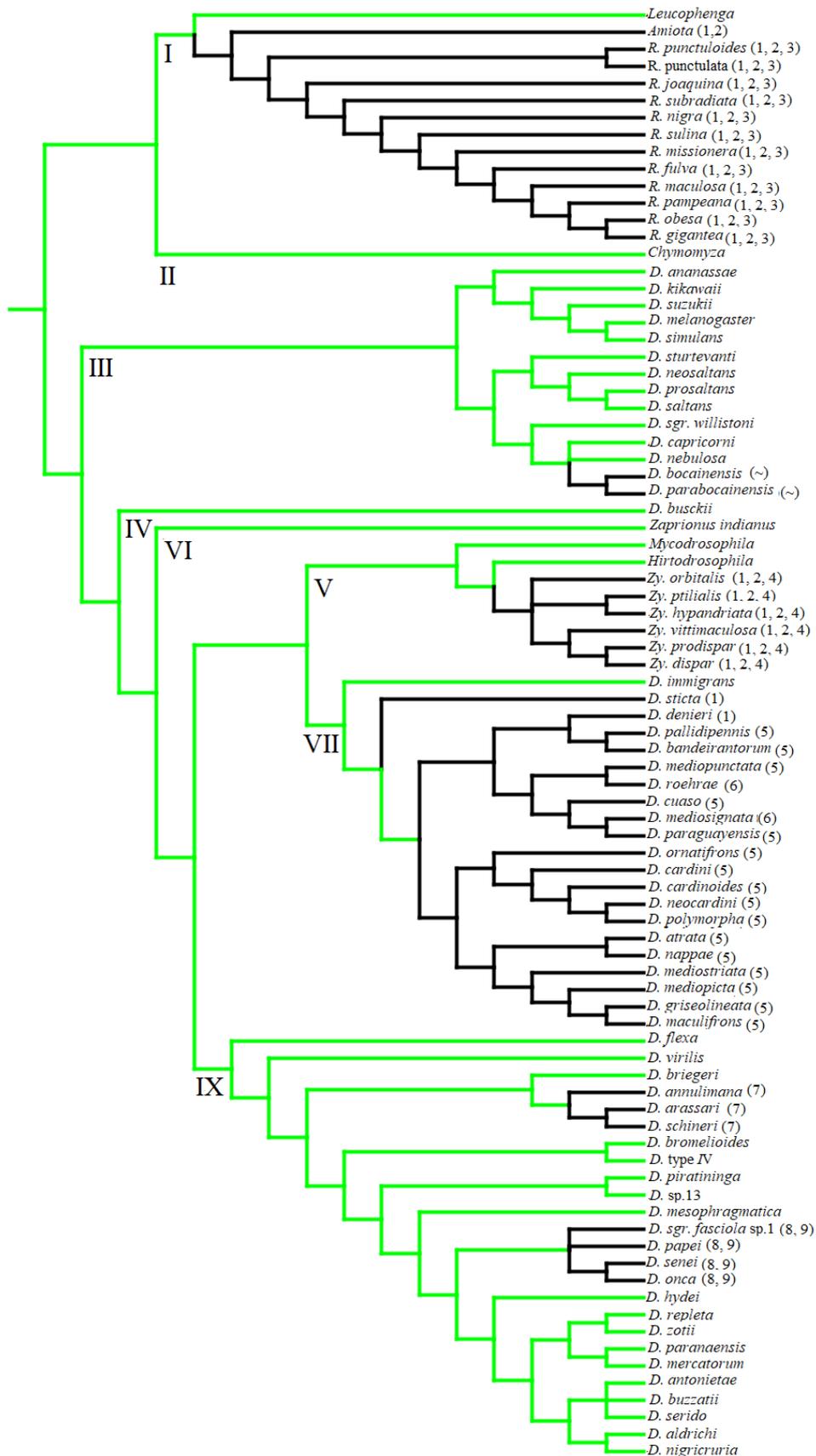


Figura 5. Árvore segundo Russo *et al.* (2013) para a resolução das relações entre as linhagens I a IX, compreendendo os taxa do conjunto regional de espécies (Tabela 1). Verde, relações segundo Russo *et al.* (2013). Preto, posicionamento com base em outros estudos focais. (1) Yassin (2013), (2) Grimaldi (1990) (3) Poppe (2016), (4) Grimaldi (1987) (5) Robe *et al.* (2010), (6) Hatadani *et al.* (2009), (7) Tosi *et al.* (2009), (8), Silva-Bernardi *et al.* (2007), (9) Franco *et al.* (2017). (~) posicionamento inferido pela classificação linneana.

4.3 *Diversidade filogenética*

Os índices de diversidade de espécies e de diversidade filogenética (MPD e MNTD), assim como os padrões filogenéticos de cada comunidade analisada são mostradas na Tabela 3, utilizando-se a topologia da árvore filogenética Y (Figura 4), e na Tabela 4, utilizando-se a topologia da árvore filogenética R (Figura 5). A correlação entre os resultados de ambas as análises e os índices de diversidade tradicionais para o grupo encontram-se na Tabela 5.

Comparando-se as duas filogenias utilizadas, os padrões filogenéticos encontrados para cada comunidade foram totalmente concordantes para MTD, com as comunidades JBO e MAS apresentando padrão agrupado e as demais não diferindo significativamente do padrão aleatório. Para MNTD os padrões também foram concordantes na maior parte dos casos, mas ocorreram algumas discordâncias: o padrão filogenético para PGK e IMA foi agrupado com a filogenia Y e aleatório com a filogenia R, enquanto para JBO e MAS foi aleatório com a filogenia Y e agrupado com a filogenia R. Houve concordância nos demais casos, com SLR, LBI e OSO tendo padrão agrupado e as demais não diferindo significativamente do padrão aleatório. Os testes de Pearson mostraram correlações positivas bastante fortes entre MPD e MNTD tomadas a partir das filogenias Y e R (Tabela 5). Pode-se observar como os valores entre de NRI e NTI variam apenas ligeiramente, mesmo nos casos em que apresentam padrões distintos (e.g. MNTD de PGK e JBO, Tabelas 3 e 4). Portanto, ambas as filogenias tenderam a evidenciar os mesmos padrões filogenéticos para as unidades analisadas.

Das 18 amostras analisadas (desconsiderando EET, por não serem aplicáveis métricas de diversidade filogenética), 15 apresentaram NRI positivos e apenas 3 NRI negativos. 14 apresentaram NTI positivos e 4 apresentaram NTI negativos. Dessa forma, temos uma predominância. Nenhuma comunidade apresentou estrutura filogenética dispersa. A unidade amostral mais próxima de ter uma estrutura filogenética dispersa foi SNI, dados os valores de NRI e NTI negativos com ambas as filogenias.

Comparando os resultados obtidos das métricas de diversidade filogenética, com as métricas de diversidade mais tradicionais nas análises de comunidades de *Drosophilidae*, observamos que há uma correlação positiva significativa entre a riqueza de espécies e MPD, dados os valores da correlação de Pearson (Tabela 5). Porém, essa correlação não ocorre para entre riqueza e MNTD. Entre o índice de heterogeneidade de Shannon e os índices de diversidade filogenética, as correlações se mostraram significativamente positivas para MPD e significativamente negativas para MNTD. Já o índice de equitabilidade

(E_{var}) não apresentou correlação significativa com MPD, mas foi significativamente correlacionado positivamente com MNTD. Observa-se também que Riqueza e Shannon são fortemente relacionados positivamente e ambos são relacionados negativamente ao índice de equitabilidade (E_{var}).

Tabela 3. Índices de diversidade de riqueza e equitabilidade de espécies (Riqueza, Shannon e Evar) e índices de diversidade filogenética (MPD e MNTD) analisados com base na topologia da árvore filogenética Y.

	<i>S</i>	<i>H'</i>	<i>E_{var}</i>	MPD obs	Média MPD aleatório	NRI	P	MNTD obs	Média MNTD aleatório	NTI	P
CAU	32	2.63	0.18	9.48	11.17 ± 1.51	1.12	0.17	4.49	3.53 ± 0.89	-0.74	0.79
	33	3.02	0.13	12.09	12.44 ± 0.99	0.35	0.38	2.57	2.70 ± 0.33	0.49	0.34
CAR											
JBO	35	2.74	0.13	9.30*	12.10 ± 1.36	2.05	0.04	2.08	2.79 ± 0.51	1.46	0.07
PGK	32	2.91	0.13	10.54	12.43 ± 1.27	1.47	0.06	2.25*	2.83 ± 0.39	1.78	0.04
MAS	30	2.76	0.11	9.78*	12.16 ± 1.33	1.78	0.05	2.10	3.04 ± 0.51	1.37	0.09
SLU1	39	2.71	0.08	10.81	12.12 ± 1.24	1.05	0.15	1.95	2.54 ± 0.43	1.35	0.11
SLR	24	2.67	0.16	11.38	11.98 ± 1.23	0.49	0.33	2.37*	3.20 ± 0.56	1.69	0.03
BOC	40	2.96	0.14	12.65	12.29 ± 1.18	-0.31	0.66	1.88	2.52 ± 0.35	1.45	0.09
BOB	65	3.48	0.17	12.56	12.60 ± 0.95	0.04	0.49	1.81	1.97 ± 0.23	0.53	0.34
BOI	69	3.47	0.12	12.07	12.65 ± 0.97	0.59	0.29	2.16	1.91 ± 0.20	-0.70	0.78
HBI	48	2.77	0.10	10.64	11.80 ± 1.41	0.81	0.22	1.75	2.12 ± 0.33	1.14	0.10
EET	1	0.00	1.00	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
AEV	17	2.54	0.26	11.21	12.29 ± 1.31	0.82	0.22	3.72	3.79 ± 0.71	-0.34	0.64
ALV	10	1.70	0.16	10.06	9.83 ± 1.47	-0.15	0.59	3.48	5.41 ± 1.80	1.08	0.13
LBI	9	1.75	0.19	9.20	10.33 ± 1.65	0.68	0.25	2.96*	5.68 ± 1.46	1.91	0.01
IMA	12	1.75	0.20	9.20	9.63 ± 1.68	0.26	0.43	3.01*	4.95 ± 1.55	1.25	0.05
OSO	7	1.83	0.27	10.99	10.99 ± 1.93	0.003	0.53	2.56*	6.00 ± 1.72	2.00	0.01
SNI	11	1.54	0.18	9.65	8.14 ± 1.38	-1.09	0.86	8.54	5.10 ± 1.99	-1.68	0.94
CAN	8	1.81	0.33	9.51	10.47 ± 1.90	0.50	0.36	5.58	6.70 ± 2.12	0.52	0.38

S= Riqueza, *H'*= Índice de heterogeneidade de Shannon, *E_{var}*=Índice de equitabilidade de Smith-Wilson, MPD obs = Distância média filogenética observada, Média MPD aleatório = Média do MPD em 100 aleatorizações da comunidade, NRI = Ne Índice de Relatividade Líquida, MNTD obs = Distância filogenética média do táxon mais próximo, Média MNTD aleatório = Média do MNTD em 100 aleatorizações da comunidade, NTI = Índice do táxon mais próximo. * **comunidades filogeneticamente agrupadas.**

Tabela 4. Índices de diversidade de riqueza e equitabilidade de espécies (Riqueza, Shannon e Evar) e índices de diversidade filogenética (MPD e MNTD) analisados com base na topologia da árvore filogenética R.

	S	H'	E _{var}	MPD ob	Média MPD al	NRI	P	MNTD ob	Média MNTD al	NTI	P
CAU	32	2.63	0.18	9.48	11.15 ± 1.50	1.11	0.13	4.50	3.81 ± 0.95	-0.72	0.79
CAR	33	3.02	0.13	12.15	12.65 ± 1.04	0.48	0.33	2.58	2.67 ± 0.41	0.24	0.45
JBO	35	2.74	0.13	9.31*	12.06 ± 1.28	2.15	0.02	2.08*	2.88 ± 0.51	1.56	0.05
PGK	32	2.91	0.13	10.64	12.47 ± 1.22	1.49	0.08	2.25	2.81 ± 0.40	1.39	0.09
MAS	30	2.76	0.11	9.91*	12.24 ± 1.24	1.88	0.03	2.10*	3.10 ± 0.52	1.92	0.05
SLU	39	2.71	0.08	10.74	12.11 ± 1.31	1.04	0.19	1.95	2.54 ± 0.48	1.21	0.12
SLR	24	2.67	0.16	11.37	12.29 ± 1.44	0.64	0.29	2.37*	3.25 ± 0.52	1.70	0.03
BOC	40	2.96	0.14	12.66	12.46 ± 1.26	-0.15	0.58	1.88	2.53 ± 0.42	1.54	0.06
BOB	65	3.48	0.17	12.55	12.68 ± 1.04	0.12	0.48	1.81	2.01 ± 0.25	0.80	0.22
BOI	69	3.47	0.12	12.17	12.77 ± 0.99	0.61	0.38	2.16	1.92 ± 0.21	-1.16	0.86
HBI	48	2.77	0.10	10.80	12.04 ± 1.51	0.82	0.19	1.75	2.19 ± 0.37	1.21	0.13
EET	1	0.00	1.00	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
AEV	17	2.54	0.26	11.22	12.27 ± 1.23	0.85	0.23	3.72	3.88 ± 0.61	0.26	0.41
ALV	10	1.70	0.16	9.80	9.92 ± 1.69	0.07	0.53	3.48	5.38 ± 1.71	1.10	0.15
LBI	9	1.75	0.19	8.93	10.43 ± 1.64	0.91	0.18	2.96*	5.87 ± 1.75	1.66	0.03
IMA	12	1.75	0.20	9.14	9.52 ± 1.63	0.23	0.45	3.07	4.96 ± 1.50	1.26	0.10
OSO	7	1.83	0.27	10.99	11.27 ± 1.94	0.14	0.46	2.56*	6.21 ± 1.60	2.28	0.01
SNI	11	1.54	0.18	9.73	8.25 ± 1.61	-0.92	0.83	8.54	5.35 ± 2.12	-1.50	0.92
CAN	8	1.81	0.33	9.52	10.76 ± 1.96	0.63	0.26	5.59	6.47 ± 1.97	0.45	0.34

S= Riqueza, H'= Índice de heterogeneidade de Shannon, E_{var}=Índice de equitabilidade de Smith-Wilson, MPD obs = Distância média filogenética observada, Média MPD aleatório = Média do MPD em 100 aleatorizações da comunidade, NRI = Ne Índice de Relatividade Líquida, MNTD obs = Distância filogenética média do táxon mais próximo, Média MNTD aleatório = Média do MNTD em 100 aleatorizações da comunidade, NTI = Índice do táxon mais próximo. * **comunidades filogeneticamente agrupadas.**

Tabela 5. Índices de correlação de Pearson \ valores de P para os índices tradicionais de diversidade (S , H' e E_{var}) e os índices de diversidade filogenética (MPD e MNTD) obtidos nas análises do presente estudo.

	S	H'	E_{var}	MPD (R)	MNTD (R)	MPD (Y)	MNTD (Y)
S		<0,001*	0,006*	0,004*	0,02	0,007*	0,02
H'	0,91		0,01*	<0,001*	0,005*	0,001*	0,006*
E_{var}	-0,61	-0,56		0,34	0,04*	0,37	0,04*
MPD (R)	0,63	0,71	-0,23		0,07	<0,001*	0,07
MNTD (R)	-0,52	-0,62	0,48	-0,43		0,06	<0,0001*
MPD(Y)	0,61	0,69	-0,22	0,99	-0,44		0,07
MNTD (Y)	-0,52	-0,62	0,48	-0,43	0,99	-0,44	

S = Riqueza, H' = Índice de heterogeneidade de Shannon, E_{var} =Índice de equitabilidade de Smith-Wilson, MPD (R) = Distância média filogenética com base na análise da árvore R, MNTD (R) = Distância filogenética média do táxon mais próximo com base na análise da árvore R, MPD (Y) = Distância média filogenética com base na análise da árvore Y, MNTD (Y) = Distância filogenética média do táxon mais próximo com base na análise da árvore Y. ***P<0.05**

5. Discussão

O conjunto regional de espécies do Pampa, delimitado no presente trabalho, apresenta o padrão encontrado na maioria das coletas de Drosophilidae na região Neotropical (e.g. Mateus *et al.* 2006; Torres & Madi Ravazzi 2007; De Toni *et al.* 2007), isto é, uma grande dominância de espécies do gênero *Drosophila*, aqui representado por 64 espécies de identidade conhecida e 38 morfoespécies de identidade desconhecida; a presença de espécies exóticas em alta abundância, como *Zaprionus indianus* e *Drosophila simulans*, a primeira encontrada em 15 dos 19 pontos amostrais e a segunda encontrada em todos os pontos amostrais na presente análise; e a presença de uma grande quantidade de espécies raras de identidade desconhecida, o que reforça a necessidade do aprofundamento da taxonomia de Drosophilidae para suprir o “déficit Linneano”, fenômeno que descreve a falta de descrição de espécimes já coletados e estocados em coleções biológicas (Brito 2010). Encontrou-se no Pampa várias espécies de *Rhinoleucophenga*, gênero exclusivamente neotropical, que não é frequentemente encontrado em outros biomas brasileiros (Gottschalk *et al.* 2008), o que reitera a composição faunística única do Pampa (MMA 2019).

A técnica de montagem filogenética “feita a mão”, utilizando-se de um “esqueleto principal” com as grandes linhagens e acrescentando as resoluções internas por meio de trabalhos focais, como a realizada na presente análise, foi realizada também por Gauster & Neto (2017) para angiosperma, um grupo que tem sido extensivamente utilizado em análises de diversidade filogenética (e.g. Carvallo & Castro 2017; Qian *et al.* 2017), com o propósito de tornar-se uma filogenia básica comum para análises de diversidade do grupo. Até o presente momento, não foram exploradas análises de diversidade filogenética de Drosophilidae, com exceção do presente estudo, portanto, a proposta de uma filogenia comum para Drosophilidae poderia também servir de impulso para que mais estudos sejam realizados a este respeito, suprimindo essa lacuna do conhecimento. Uma vez que Drosophilidae, além de ser um grupo modelo nas áreas de genética e evolução (Tolwinski 2017), apresenta grande potencial como bioindicador ambiental (Mata *et al.* 2008; 2010), análises de estruturação filogenética desse grupo poderiam trazer à luz aspectos importantes para a compreensão da estruturação filogenética de comunidades, auxiliando na

compreensão das complexas relações entre os processos ecológicos e evolutivos em comunidades. Outra abordagem para a transposição do obstáculo de não se ter uma filogenia completa com o conjunto regional de espécies foi adotada por Dröse *et al.* (2019), em uma análise de diversidade filogenética de formigas no Pampa, que consiste na obtenção da topologia dos grandes grupos, com subsequente inserção das espécies da comunidade nessa topologia, em politomias, e a geração de diversas possíveis resoluções aleatórias das politomias da árvore.

As métricas de diversidade filogenética utilizadas, MPD e MNTD, mostraram-se fortemente correlacionados positivamente (Tabelas 3, 4 e 5) quando comparados os valores encontrados com as duas diferentes propostas filogenéticas utilizadas para grandes linhagens (chamadas aqui de Y e R). Uma vez que MNTD é uma métrica que detecta variações entre *taxa* próximos (Swenson 2013; Mazel *et al.* 2015), essa correlação era esperada, já que as relações entre os *taxa* mais próximos não variam entre as duas filogenias. Observa-se também que, mesmo as variações mais profundas entre as duas propostas (e.g. entre as linhagens V, VI e VII) não trouxeram diferenças significativas na análise de MPD. As diferenças topológicas entre as duas árvores não promoveram grandes alterações nas distâncias filogenéticas das espécies do conjunto regional. Sendo assim, nossos dados dão suporte a que, apesar de ainda haver incongruências entre o posicionamento das grandes linhagens de Drosophilidae, inferências de diversidade filogenética do grupo já são possíveis.

MPD e MNTD mostraram-se significativamente correlacionados a riqueza, positiva e negativamente, respectivamente. Não se encontrou correlação entre MPD e equitabilidade, porém esta mostrou-se positivamente correlacionada a MNTD. Equitabilidade avalia dominância, portanto, é mais provável que se relacione a MNTD, que é mais sensível a alterações entre *taxa* próximos filogeneticamente, o que justifica a correlação positiva entre ambas, encontrada na presente análise. Comunidades de Drosophilidae tendem a ter poucas espécies com abundância muito alta (e.g. Mateus *et al.* 2006; Torres & Madi Ravazzi 2007; De Toni *et al.* 2007), justamente por isso, Shannon e Riqueza mostraram-se negativamente relacionados a Equitabilidade. Não se encontrou correlação entre MPD e MNTD, reiterando a conclusão de Mazel *et al.* (2016) de

que a combinação de diferentes métricas de diversidade filogenética, que operam em diferentes profundidades filogenéticas, oferecem um melhor entendimento da estruturação filogenética.

A maioria dos pontos amostrais apresentou um padrão filogenético que não diferiu significativamente do esperado aleatoriamente para a diversidade filogenética da comunidade, tanto para MPD como para MNTD, indicando que as adaptações necessárias para a permanência nos ambientes amostrados do Pampa podem ser encontradas em diferentes linhagens do conjunto regional de espécies (Webb *et al.* 2002; Butterfield *et al.* 2013). No entanto, apesar de não ser significativa, há uma tendência ao padrão filogenético agrupado em quase todos os pontos analisados, que pode ser observado pela predominância de valores positivos (que indicam agrupamento) de NRI e NTI. Além disso, todas as comunidades que diferiram significativamente do padrão esperado no modelo nulo são comunidades agrupadas filogeneticamente, e não dispersas. Como NTI é sensível às relações próximas dos *taxa*, é provável que essa resposta reflita a dominância de poucas espécies de Drosophilidae nas comunidades. Com relação ao NRI, por ser mais sensível às relações mais profundas no posicionamento filogenético, é provável que esse padrão reflita a grande abundância de espécies do gênero *Drosophila*, em especial aquelas posicionadas nas linhagens III, VII e IX, quando comparadas às abundâncias das espécies de outros gêneros (*Amiota*, *Leucophenga*, *Rhinoleucophenga*, *Zygothrica*, *Hirtodrosophila*), com exceção de *Zaprionus*, que costuma ser abundante em locais antropizados. Corroborando isso pode-se observar o NRI das comunidades da localidade de Bossoroca (BOC, BOB e BOI), que não são valores positivos tão altos, isto é, não apresentam o padrão filogenético tão agregado, e no caso de BOI (interior da mancha florestal) é negativo, provavelmente como efeito da abundância de espécies de *Rhinoleucophenga* nessa área, gênero pertencente à subfamília Steganinae, relativamente distante filogeneticamente do gênero *Drosophila*. Bossoroca é o local mais bem preservado do Pampa amostrado no presente estudo, portanto, este resultado indica, preliminarmente, que a antropização do ambiente do Pampa pode estar levando as comunidades de Drosophilidae a serem mais agrupadas filogeneticamente, ou seja, as diferentes linhagens de Drosophilidae não estão sendo excluídas de forma igual do ambiente pela antropização.

Partindo da premissa da conservação de nicho, isto é, que espécies mais próximas filogeneticamente tendem a apresentar nicho mais semelhante, a dispersão filogenética de uma comunidade pode ser associada a predominância de interações interespecífica negativas, como competição, devido a exclusão competitiva de espécies filogeneticamente próximas (Helmus *et al.* 2007; Cahill Jr. *et al.* 2008). Segundo Armstrong & McGeehe (1980), a coexistência estável de espécies competidoras requer que a competição intraespecífica exceda a competição interespecífica. Krijger & Sevenster (2001), analisando comunidades de Drosophilidae no Panamá, apontam a agregação espacial de recursos (frutas caídas, fungos, etc.) como um fator que aumenta a competição intraespecífica, o que é uma possível explicação para os resultados encontrados no presente estudo, uma vez que as comunidades aqui analisadas, apesar de representarem espécies pertencentes à mesma guilda, isto é, frugívoras, não apresentaram, em nenhum dos casos, um padrão filogenético significativamente disperso quando comparado ao esperado pelo acaso, isto é, não há evidência de que haja exclusão competitiva estruturando essa comunidade. Uma análise de caracteres ecologicamente funcionais dessas comunidades, revelando ou não sinal filogenético, adicionada de um estudo do impacto da agregação espacial de recursos na diversidade, poderia trazer à luz observações interessantes para este tema. Vale ressaltar que Valadão *et al.* (2019) encontraram que, de 49 espécies de Drosophilidae de ocorrência na região Neotropical analisadas, 48 demonstraram ser generalistas quanto ao sítio de oviposição de reprodução (frutos de angiospermas), o que sugere que a especialização de nicho não é um processo essencial na coexistência de espécies competidoras neotropicais de Drosophilidae.

Embora não fosse o objetivo do presente estudo e o número amostral não seja suficiente para encontrar padrões de diversidade filogenética entre diferentes ambientes do Pampa, além da existência de diferenças no esforço amostral dos estudos analisados, algumas considerações preliminares podem ser feitas. Por exemplo, ambas as comunidades de ambiente urbano dos municípios de Cruz Alta e São Luiz Gonzaga (CAU e SLU, respectivamente), apresentaram valores de MPD mais baixos quando comparadas às comunidades nos mesmos municípios em fragmentos florestais em área rural (CAR e SLR, respectivamente), padrão também encontrado para a riqueza de

espécies (Hochmüller *et al.* 2010; Poppe *et al.* 2012), ainda que entre CAU e CAR possa ter havido um viés da diferença de esforço amostral. Esse é um resultado importante, pois sugere, preliminarmente, que a diminuição da riqueza de espécies em áreas urbanas é acompanhada por uma perda de diversidade filogenética, reforçando a necessidade da manutenção de ambientes naturais do Pampa. Apesar do impacto ambiental antrópico causado pelo processo de urbanização e expansão agropecuária, estudos a respeito da influência na diversidade filogenética ainda são raros (ver Sol *et al.* 2014; Morelli *et al.* 2017; Sol *et al.* 2017), mas indicam uma perda significativa de diversidade filogenética nesses ambientes, mesmo com a substituição de espécies comumente associadas à antropização. A urbanização pode criar um filtro que determina que somente algumas linhagens conseguem persistir nesse ambiente (McKinney 2006).

Por outro lado, considerando as localidades de Porto Alegre, entre JBO (fragmento florestal em área de alta urbanização), PGK (fragmento florestal em área de média urbanização) e MAS (fragmento florestal em área de baixa urbanização) não houve grande diferença em MPD e MNTD, apesar do gradiente de urbanização e do mesmo esforço amostral utilizado. Conforme observado por Garcia *et al.* (2012), foi encontrado uma maior quantidade de espécies exóticas em JBO, quando comparado a PGK, e em PGK, quando comparado a MAS, porém a riqueza de espécies desses locais não variou significativamente. Os resultados do presente estudo indicam uma situação semelhante com relação à diversidade filogenética. Nota-se que *Zaprionus indianus*, a única espécie representante de sua linhagem (VI) no Pampa, é uma espécie exótica no neotrópico característica de ambiente antrópico e foi encontrada em JBO e PGK, porém não em MAS, adicionando portanto, diversidade filogenética às duas áreas com maior grau de antropização (JBO e PGK). A região de Porto Alegre apresenta ambientes florestais fragmentados, e não há um consenso quanto ao aumento ou diminuição da diversidade filogenética devido à fragmentação do hábitat. Os resultados encontrados por Arroyo-Rodríguez (2012), sobre diversidade filogenética de angiospermas, demonstraram que a fragmentação ambiental não levou a uma perda de diversidade filogenética, provavelmente decorrente de uma maior heterogeneidade ambiental, enquanto que Cisneros *et al.* (2015), analisando comunidades de morcegos na Costa Rica, e Santos *et al.*

(2010), analisando comunidades vegetacionais em uma região do México, encontraram uma perda na diversidade filogenética relacionada à fragmentação.

As três amostras em Bossoroca, BOC, BOI e BOB, que representam, respectivamente, área de campo natural, interior florestal e borda florestal de ambiente natural do Pampa, apresentaram semelhantes valores de MPD, apesar de menor riqueza em BOC. Esse é um resultado importante, uma vez que em uma área de campo aberto, devido às variações ambientais mais severas e menor quantidade de nicho que um interior florestal, esperar-se-ia uma comunidade mais agrupada filogeneticamente, especialmente para um grupo sensível a variações ambientais, como Drosophilidae (Tidon 2006). Resultado semelhante foi encontrado na análise de Dröse *et al.* (2019) para comunidades de formigas no Pampa. Juntos, esses resultados reiteram a importância da preservação das áreas de campo aberto, tanto quanto de ambientes florestais, nas estratégias de preservação do bioma Pampa, para a preservação da história evolutiva das comunidades.

Dröse *et al.* (2019) buscaram correlações entre diversidade filogenética e variáveis ambientais e encontraram que a temperatura e a altura vegetal são preditoras da diversidade filogenética, bem como taxonômica, de comunidades de formigas na região do Pampa. Diversos estudos têm analisado o efeito de variáveis ambientais temperatura (e.g., Poppe *et al.* 2015; Poppe *et al.* 2016) e urbanização (e. g., Garcia *et al.* 2012; Gottschalk *et al.* 2007), na diversidade taxonômica de assembleias de Drosophilidae. Um próximo passo importante é investigar como estas variáveis afetam a diversidade filogenética de Drosophilidae. A busca por essas respostas é cada vez mais importante, especialmente no atual cenário de rápidas alterações climáticas e do uso da terra.

6. Considerações Finais

Foi obtido, com esta análise, uma relação dos inventários de Drosophilidae coletados com isca de banana fermentada no bioma brasileiro Pampa, em diferentes fitosionomias, desde o ano 2000, que compreende 19 pontos amostrais no Bioma. Uma relação das espécies e suas respectivas abundâncias em cada ponto amostral foi obtida, totalizando 119.320 indivíduos, classificados em 150 morfoespécies. O gênero mais abundante e diverso é *Drosophila*, representado por 64 espécies de identidade conhecida, incluídas em 21 grupos de espécies e 38 morfoespécies de identidade desconhecida.

Duas hipóteses filogenéticas, uma seguindo as relações para as grandes linhagens de Drosophilidae segundo Yassin (2013) e a outra segundo Russo *et al.* (2013) foram construídas, com base em critérios objetivos, compreendendo 85 espécies do conjunto regional. Foram realizadas análises de diversidade filogenética (MPD e MNTD) para cada ponto amostral, incluindo 85 espécies no conjunto regional de espécies, que abangem 99,9% da abundância total de Drosophilidae considerados e comparados os resultados com um modelo nulo (NRI e NTI). Encontrou-se que, em grande parte, os pontos amostrais não apresentam uma estruturação filogenética significativamente diferente do esperado em um modelo nulo, exceto por dois pontos amostrais que apresentaram padrão filogenético agrupado para MPD, em ambas as análises, e cinco localidades, duas não coincidentes, que apresentaram padrão filogenético agrupado para MNTD, em ambas as análises.

Os índices obtidos pela análise com base na proposta filogenética de Yassin (2013) e Russo *et al.* (2013) foram fortemente correlacionados positivamente, indicando que ambas as análises apresentam respostas muito semelhantes. MPD mostrou-se significativamente correlacionado com riqueza e Shannon, enquanto MNTD mostrou-se correlacionado ao índice de equitabilidade de Smith & Wilson.

Os resultados dão suportam, preliminarmente, que a perda de diversidade taxonômica é acompanhada da perda de diversidade filogenética em ambientes antropizados. Além disso, indica que locais de campos naturais do Pampa, mesmo apresentando menor riqueza de espécies e diferenças na composição de espécies, apresentam semelhante diversidade filogenética que locais

florestais, indicando a necessidade da preservação destes ambientes, tanto quanto dos ambientes florestais. Essa pesquisa pioneira intenciona impulsionar mais análises de diversidade filogenética para Drosophilidae, em busca de resultados que podem ajudar a desvendar padrões de montagem de comunidades de Drosophilidae não revelados pela diversidade taxonômica.

7. Referências

Armstrong, R. A., & McGehee, R. (1980). Competitive exclusion. *The American Naturalist*, 115(2), 151-170.

Arroyo-Rodríguez, V., Cavender-Bares, J., Escobar, F., Melo, F. P., Tabarelli, M., & Santos, B. A. (2012). Maintenance of tree phylogenetic diversity in a highly fragmented rain forest. *Journal of Ecology*, 100(3), 702-711.

Bächli, G., & Vilela, C. R. (2002). Six new species of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) from Parque Nacional Henri Pittier, Venezuela. *Mitteilungen-Schweizerische Entomologische Gesellschaft*, 75(3/4), 223-244.

Bennett, J. A., Lamb, E. G., Hall, J. C., Cardinal-McTeague, W. M., & Cahill Jr, J. F. (2013). Increased competition does not lead to increased phylogenetic overdispersion in a native grassland. *Ecology Letters*, 16(9), 1168-1176.

Brake, I., & Bächli, G. (2008). *Drosophilidae* (Diptera). Brill.

Brito, D. (2010). Overcoming the Linnean shortfall: data deficiency and biological survey priorities. *Basic and Applied Ecology*, 11(8), 709-713.

Burla, H., DaCunha, A.B., Cordeiro, A.R., Dobzhansky, T., Malogolowkin, C., Pavan, C. (1949). The *willistoni* group of sibling species of *Drosophila*. *Evolution*, 3, 300-314.

Butterfield, B. J., Cavieres, L. A., Callaway, R. M., Cook, B. J., Kikvidze, Z., Lortie, C. J., ... & Zaitchek, B. (2013). Alpine cushion plants inhibit the loss of phylogenetic diversity in severe environments. *Ecology Letters*, 16(4), 478-486.

Cadotte, M. W. (2013). Experimental evidence that evolutionarily diverse assemblages result in higher productivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(22), 8996-9000.

Cadotte, M. W., Cavender-Bares, J., Tilman, D., & Oakley, T. H. (2009). Using phylogenetic, functional and trait diversity to understand patterns of plant community productivity. *PloS One*, 4(5), e5695.

Cadotte, M. W., Dinnage, R., & Tilman, D. (2012). Phylogenetic diversity promotes ecosystem stability. *Ecology*, 93(sp8), S223-S233.

Cahill Jr, J. F., Kembel, S. W., Lamb, E. G., & Keddy, P. A. (2008). Does phylogenetic relatedness influence the strength of competition among vascular plants?. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 10(1), 41-50.

Carvalho, G. O., & Castro, S. A. (2017). Invasions but not extinctions change phylogenetic diversity of angiosperm assemblage on southeastern Pacific Oceanic islands. *PloS One*, 12(8), e0182105.

Chaves, N. B., & Tidon, R. (2008). Biogeographical aspects of drosophilids (Diptera, Drosophilidae) of the Brazilian savanna. *Revista Brasileira de Entomologia*, 52(3), 340-348.

Cisneros, L. M., Fagan, M. E., & Willig, M. R. (2015). Effects of human-modified landscapes on taxonomic, functional and phylogenetic dimensions of bat biodiversity. *Diversity and Distributions*, 21(5), 523-533.

CSR/IBAMA (2010). Centro de Sensoriamento Remoto. Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite. Monitoramento do Bioma Pampa 2002 a 2008. Brasília.

DeSalle, R. (1992). The phylogenetic relationships of flies in the family Drosophilidae deduced from mtDNA sequences. *Molecular phylogenetics and evolution*, 1(1), 31-40.

DeSalle, R., & Grimaldi, D. A. (1991). Morphological and molecular systematics of the Drosophilidae. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 22(1), 447-475.

Dobzhansky, T. & Pavan, C. (1943). Studies on Brazilian species of *Drosophila*. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, 36,1-72.

Dröse, W., Podgaiski, L. R., Dias, C. F., & de Souza Mendonça Jr, M. (2019). Local and regional drivers of ant communities in forest-grassland ecotones in South Brazil: A taxonomic and phylogenetic approach. PloS One, 14(4), e0215310.

Drosophila 12 Genomes Consortium. (2007). Evolution of genes and genomes on the *Drosophila* phylogeny. Nature, 450(7167), 203.

Duarte, L. B., Gottschalk, M. S., & Robe, L. J. (2018). Assemblage of drosophilids (Diptera, Drosophilidae) inhabiting flooded and nonflooded areas in the extreme South of Brazil. Revista Brasileira de Entomologia, 62(1), 29-35.

Duda, O. (1925). Die Costaricanischen drosophiliden des ungarischen National-Museums zu Budapest. Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici, 22, 149-229.

Elton, C. (1946). Competition and the structure of ecological communities. The Journal of Animal Ecology, 15, 54-68.

Erickson, D. L., Jones, F. A., Swenson, N. G., Pei, N., Bourg, N. A., Chen, W., ... & Huang, C. L. (2014). Comparative evolutionary diversity and phylogenetic structure across multiple forest dynamics plots: a mega-phylogeny approach. Frontiers in Genetics, 5, 358.

Evenhuis, N. L., & Okada, T. (1989). 98. Family Drosophilidae. Catalog of the Diptera of Australasia and Oceania, 1155.

Faith, D. P. (1992). Conservation evaluation and phylogenetic diversity. Biological Conservation, 61(1), 1-10.

Fine, P. V., & Kembel, S. W. (2011). Phylogenetic community structure and phylogenetic turnover across space and edaphic gradients in western Amazonian tree communities. *Ecography*, 34(4), 552-565.

Franco, F. F., Silva, E. C. C., Barrios-Leal, D. Y., Sene, F. M., & Manfrin, M. H. (2017). The Calibrated Phylogeny of the *Drosophila fasciola* Subgroup (*D. repleta* Group Wasserman) Indicates Neogene Diversification of Its Internal Branches. *Neotropical Entomology*, 46(5), 537-545.

Garcia, C. F., Hochmüller, C. J. C., Valente, V. L. S., & Schmitz, H. J. (2012). Drosophilid assemblages at different urbanization levels in the city of Porto Alegre, state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Neotropical Entomology*, 41(1), 32-41.

Gastauer, M., & Meira-Neto, J. A. A. (2014). Interactions, environmental sorting and chance: phylostructure of a tropical forest assembly. *Folia Geobotanica*, 49(3), 443-459.

Gastauer, M., Neto, M., & Alves, J. A. (2017). Updated angiosperm family tree for analyzing phylogenetic diversity and community structure. *Acta Botanica Brasilica*, 31(2), 191-198.

Gottschalk, M. S., De Toni, D. C., Valente, V. L., & Hofmann, P. R. (2007). Changes in Brazilian Drosophilidae (Diptera) assemblages across an urbanisation gradient. *Neotropical Entomology*, 36(6), 848-862.

Gottschalk, M., Hofmann, P., & Valente, V. (2008). Diptera, Drosophilidae: historical occurrence in Brazil. *Check List*, 4, 485.

Grimaldi, D. A. (1987). Phylogenetics and taxonomy of *Zygothrica* (Diptera: Drosophilidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 186, 104-268.

Grimaldi, D. A. (1990). A phylogenetic, revised classification of genera in the Drosophilidae (Diptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 197, 1-139.

Hardy, O. J., & Senterre, B. (2007). Characterizing the phylogenetic structure of communities by an additive partitioning of phylogenetic diversity. *Journal of Ecology*, 95(3), 493-506.

Hatadani, L. M., McInerney, J. O., de Medeiros, H. F., Junqueira, A. C. M., de Azeredo-Espin, A. M., & Klaczko, L. B. (2009). Molecular phylogeny of the *Drosophila tripunctata* and closely related species groups (Diptera: Drosophilidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51(3), 595-600.

Heip, C. H., Herman, P. M., & Soetaert, K. (1998). Indices of diversity and evenness. *Oceanis*, 24(4), 61-88.

Helmus, M. R., Savage, K., Diebel, M. W., Maxted, J. T., & Ives, A. R. (2007). Separating the determinants of phylogenetic community structure. *Ecology Letters*, 10(10), 917-925.

Hochmüller, C. J., Lopes-da-Silva, M., Valente, V. L., & Schmitz, H. J. (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. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 50(19), 286-295.

Izsák, J., & Papp, L. (2000). A link between ecological diversity indices and measures of biodiversity. *Ecological Modelling*, 130(1-3), 151-156.

Kembel, S. W., & Hubbell, S. P. (2006). The phylogenetic structure of a neotropical forest tree community. *Ecology*, 87(sp7), S86-S99.

Kress, W. J., Erickson, D. L., Jones, F. A., Swenson, N. G., Perez, R., Sanjur, O., & Bermingham, E. (2009). Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a

tropical forest dynamics plot in Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(44), 18621-18626.

Krijger, C. L., & Sevenster, J. G. (2001). Higher species diversity explained by stronger spatial aggregation across six neotropical *Drosophila* communities. *Ecology Letters*, 4(2), 106-115.

Lean, C., & Maclaurin, J. (2016). The value of phylogenetic diversity. In *Biodiversity conservation and phylogenetic systematics* (pp. 19-37). Springer, Cham.

Leibold, M. A., Economo, E. P., & Peres-Neto, P. (2010). Metacommunity phylogenetics: separating the roles of environmental filters and historical biogeography. *Ecology Letters*, 13(10), 1290-1299.

Lewis, R. L., Beckenbach, A. T., & Mooers, A. Ø. (2005). The phylogeny of the subgroups within the melanogaster species group: likelihood tests on COI and COII sequences and a Bayesian estimate of phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(1), 15-24.

Magurran, A. E. (2005). Biological diversity. *Current Biology*, 15(4,) R116-R118.

Magurran, A. E. (2013). *Measuring biological diversity*. John Wiley & Sons.

Markow, T. A., & O'Grady, P. (2005). *Drosophila: a guide to species identification and use*. Elsevier.

Mata, R. A., McGeoch, M., & Tidon, R. (2008). Drosophilid assemblages as a bioindicator system of human disturbance in the Brazilian Savanna. *Biodiversity and Conservation*, 17(12), 2899.

Mata, R. A., McGeoch, M., & Tidon, R. (2010). Drosophilids (Insecta, Diptera) as tools for conservation biology. *Brazilian Journal of Nature Conservation*, 8(1), 60-65.

Mateus, R. P., Buschini, M. L. T., & Sene, F. M. (2006). The *Drosophila* community in xerophytic vegetations of the upper Parana-Paraguay river basin. *Brazilian Journal of Biology*, 66(2B), 719-729.

May, R. M. (1990). Taxonomy as destiny. *Nature*, 347(6289), 129-130.

Mazel, F., Davies, T. J., Gallien, L., Renaud, J., Groussin, M., Münkemüller, T., & Thuiller, W. (2016). Influence of tree shape and evolutionary time-scale on phylogenetic diversity metrics. *Ecography*, 39(10), 913-920.

Mazel, F., Davies, T. J., Gallien, L., Renaud, J., Groussin, M., Münkemüller, T., & Thuiller, W. (2016). Influence of tree shape and evolutionary time-scale on phylogenetic diversity metrics. *Ecography*, 39(10), 913-920.

McKinney, M. L. (2006). Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biological Conservation*, 127(3), 247-260.

Mendes, M. F., Valer, F. B., Vieira, J. G. A., Blauth, M. L., & Gottschalk, M. S. (2017). Diversity of Drosophilidae (Insecta, Diptera) in the Restinga forest of southern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 61(3), 248-256.

Miazaki, A. S., Gastauer, M., & Meira-Neto, J. A. (2015). Environmental severity promotes phylogenetic clustering in campo rupestre vegetation. *Acta Botanica Brasilica*, 29(4), 561-566.

MMA, (2019) Ministério do Meio Ambiente. Mapas de Cobertura Vegetal dos Biomas Brasileiros. Acessível em <http://www.mma.gov.br/informma/item/7626-mapas-de-cobertura-vegetal>. Consultado em julho de 2019.

Morales-Hojas, R., & Vieira, J. (2012). Phylogenetic patterns of geographical and ecological diversification in the subgenus *Drosophila*. *PLoS One*, 7(11), e49552.

Morelli, F., Benedetti, Y., Su, T., Zhou, B., Moravec, D., Šímová, P., & Liang, W. (2017). Taxonomic diversity, functional diversity and evolutionary uniqueness in bird communities of Beijing's urban parks: effects of land use and vegetation structure. *Urban Forestry & Urban Greening*, 23, 84-92.

O'Grady, P. M., & DeSalle, R. (2018). Phylogeny of the genus *Drosophila*. *Genetics*, 209(1), 1-25.

O'Grady, P. M., & Kidwell, M. G. (2002). Phylogeny of the subgenus *Sophophora* (Diptera: Drosophilidae) based on combined analysis of nuclear and mitochondrial sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 22(3), 442-453.

O'Grady, P. M., & Markow, T. A. (2009). Phylogenetic taxonomy in *Drosophila*: problems and prospects. *Fly*, 3(1), 10-14.

O'Grady, P. M., Ashburner, M., Castrezana, S., DeSalle, R., Kaneshiro, K. Y., Lapoint, R. T., ... & Vilela, C. R. (2008). Comments on the proposed conservation of usage of *Drosophila* Fallen, 1823 (Insecta, Diptera). *Bulletin of Zoological Nomenclature*, 65(2), 141-144.

Pavoine, S., & Bonsall, M. B. (2011). Measuring biodiversity to explain community assembly: a unified approach. *Biological Reviews*, 86(4), 792-812.

Pélandakis, M., & Solignac, M. (1993). Molecular phylogeny of *Drosophila* based on ribosomal RNA sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 37(5), 525-543.

Poppe, J. L. (2016). O gênero *Rhinoleucophenga* Hendel, 1917 (Diptera, Drosophilidae): proposta de estabelecimento de relações evolutivas baseadas em características morfológicas, moleculares e ecologia. Tese (Doutorado em Biologia Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre.

Poppe, J. L., Valente, V. L. S. , & Schmitz, H. J. (2012). Study of the Structure of Drosophilidae Assemblage (Insecta, Diptera) in Pampa Biome (São Luiz Gonzaga/RS). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 52(16), 185-195.

Poppe, J. L., Schmitz, H. J., & Valente, V. L. S. (2016). Changes in the structure of Drosophilidae (Diptera) assemblages associated with contrasting environments in the Pampas biome across temporal and spatial scales. *Annals of the Entomological Society of America*, 109(4), 567-573.

Poppe, J. L., Schmitz, H. J., & Valente, V. L. S. (2016). The diversity of Drosophilidae in the South American pampas: update of the species records in an environment historically neglected. *Drosophila Information Service*, 98, 47-51.

Poppe, J. L., Schmitz, H. J., Callegari-Jacques, S. M., & Valente, V. L. S. (2015). Environmental determinants on the assemblage structure of Drosophilidae flies in a temperate-subtropical region. *Neotropical Entomology*, 44(2), 140-152.

Poppe, J. L., Schmitz, H. J., Grimaldi, D., & Valente, V. L. S. (2014). High diversity of Drosophilidae (Insecta, Diptera) in the Pampas Biome of South America, with descriptions of new *Rhinoleucophenga* species. *Zootaxa*, 3779(2), 215-245.

Qian, H., Jin, Y., & Ricklefs, R. E. (2017). Phylogenetic diversity anomaly in angiosperms between eastern Asia and eastern North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(43), 11452-11457.

Remsen, J., & O'Grady, P. (2002). Phylogeny of Drosophilinae (Diptera: Drosophilidae), with comments on combined analysis and character support. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 24(2), 249-264.

Robe, L. J., Valente, V. L., & Loreto, E. L. (2010). Phylogenetic relationships and macro-evolutionary patterns within the *Drosophila tripunctata* "radiation"(Diptera: Drosophilidae). *Genetica*, 138(7), 725-735.

Rodríguez-Trelles, F., Tarrío, R., & Ayala, F. J. (1999). Molecular evolution and phylogeny of the *Drosophila saltans* species group inferred from the *Xdh* gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 13(1), 110-121.

Rohde, C., de Oliveira Silva, D. M. I., de Araújo Jucá, J. C. L., Montes, M. A., & Garcia, A. C. L. (2013). Espécies invasoras da família Drosophilidae (Diptera, Insecta) em ambientes da Caatinga de Pernambuco. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, 7, 227-240.

Rodríguez-Trelles, F., Tarrío, R., & Ayala, F. J. (1999). Molecular evolution and phylogeny of the *Drosophila saltans* species group inferred from the *Xdh* gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 13(1), 110-121.

Russo, C. A., 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(4), 765-775.

Russo, C. A., Takezaki, N., & Nei, M. (1995). Molecular phylogeny and divergence times of drosophilid species. *Molecular Biology and Evolution*, 12(3), 391-404.

Ruszczyk, A. (1986). Distribution and abundance of butterflies in the urbanization zones of Porto Alegre, Brazil. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 25(3), 157-178.

Santos, B. A., Arroyo-Rodríguez, V., Moreno, C. E., & Tabarelli, M. (2010). Edge-related loss of tree phylogenetic diversity in the severely fragmented Brazilian Atlantic forest. *PLoS One*, 5(9), e12625.

Silva-Bernardi, E. C., Morales, A. C., Sene, F. M., & Manfrin, M. H. (2006). Phylogenetic relationships in the *Drosophila fasciola* species subgroup (Diptera, Drosophilidae) inferred from partial sequences of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*COI*) gene. *Genetics and Molecular Biology*, 29(3), 566-571.

Singh, B. N. (2016). The genus *Drosophila* is characterized by a large number of sibling species showing evolutionary significance. *Journal of Genetics*, 95(4), 1053-1064.

Sol, D., Bartomeus, I., González-Lagos, C., & Pavoine, S. (2017). Urbanisation and the loss of phylogenetic diversity in birds. *Ecology Letters*, 20(6), 721-729.

Sol, D., González-Lagos, C., Moreira, D., Maspons, J., & Lapiedra, O. (2014). Urbanisation tolerance and the loss of avian diversity. *Ecology Letters*, 17(8), 942-950.

Sturtevant, A. H. (1942). The classification of the genus *Drosophila*, with descriptions of nine species. *The University of Texas Publications*, 4213, 5-51.

Swenson, N. G., Erickson, D. L., Mi, X., Bourg, N. A., Forero-Montaña, J., Ge, X., ... & Pei, N. (2012). Phylogenetic and functional alpha and beta diversity in temperate and tropical tree communities. *Ecology*, 93(sp8), S112-S125.

Szefer, P., Carmona, C. P., Chmel, K., Konečná, M., Libra, M., Molem, K., ... & Lepš, J. (2017). Determinants of litter decomposition rates in a tropical forest: functional traits, phylogeny and ecological succession. *Oikos*, 126(8), 1101-1111.

Thomas, R. H., & Hunt, J. A. (1993). Phylogenetic relationships in *Drosophila*: a conflict between molecular and morphological data. *Molecular Biology and Evolution*, 10(2), 362-374.

Throckmorton, L. H. (1962). The problem of phylogeny in the genus *Drosophila*. *Studies in Genetics. II. Research reports on Drosophila genetics, taxonomy and evolution.*, 207-343.

Tidon, R. (2006). Relationships between drosophilids (Diptera, Drosophilidae) and the environment in two contrasting tropical vegetations. *Biological Journal of the Linnean Society*, 87(2), 233-247.

Tidon, R., & Sene, F. M. (1988). A trap that retains and keeps *Drosophila* alive. *Drosophila Information Service*, 672, 89.

Tolwinski, N. (2017). Introduction: *Drosophila*—A Model System for Developmental Biology. *Journal of Developmental Biology*, 5(3), 9.

Toni, D. C. D., Gottschalk, M. S., Cordeiro, J., Hofmann, P. P., & Valente, V. L. (2007). Study of the Drosophilidae (Diptera) communities on atlantic forest islands of Santa Catarina state, Brazil. *Neotropical Entomology*, 36(3), 356-375.

Torres, F. R.; Madi-Ravazzi, L. (2006). Seasonal variation in natural populations of *Drosophila* spp.(Diptera) in two woodlands in the State of São Paulo, Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 96(4), 437-444.

Tosi, D., Pereira, M. A. Q., & Vilela, C. R. (2007). Polytene chromosomes and phylogenetic relationships in ten *Drosophila* species of the *annulimana* group (Diptera, Drosophilidae). *Genetics and Molecular Biology*, 30(4), 1169-1180.

Uriarte, M., Swenson, N. G., Chazdon, R. L., Comita, L. S., John Kress, W., Erickson, D., ... & Thompson, J. (2010). Trait similarity, shared ancestry and the structure of neighbourhood interactions in a subtropical wet forest: implications for community assembly. *Ecology Letters*, 13(12), 1503-1514.

Val, F. C., & Marques, M. D. (1996). Drosophilidae (Diptera) from the Pantanal of Mato Grosso (Brazil), with the description of a new species belonging to the *bromeliae* group of the genus *Drosophila*. *Papeis Avulsos de Zoologia*, 39(11), 223-230.

Valadão, H., Proença, C. E., 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*.

Vamosi SM, Heard SB, Vamosi JC, Webb CO (2009) Emerging patterns in the comparative analysis of phylogenetic community structure. *Molecular Ecology* 18, 572–592.

van der Linde, K., Bächli, G., Toda, M. J., Zhang, W. X., Katoh, T., Hu, Y. G., & Spicer, G. S. (2007). Case 3407: *Drosophila* Fallen, 1832 (Insecta, Diptera): proposed conservation of usage. *Bulletin of Zoological Nomenclature*, 64(4), 238-242.

van der Linde, K., Houle, D., Spicer, G. S., & Stepan, S. J. (2010). A supermatrix-based molecular phylogeny of the family Drosophilidae. *Genetics Research*, 92(1), 25-38.

Webb, C. O. (2000). Exploring the phylogenetic structure of ecological communities: an example for rain forest trees. *The American Naturalist*, 156(2), 145-155.

Webb, C. O., Ackerly, D. D., & Kembel, S. W. (2008). Phylocom: software for the analysis of phylogenetic community structure and trait evolution. *Bioinformatics*, 24(18).

Webb, C. O., Ackerly, D. D., McPeck, M. A., & Donoghue, M. J. (2002). Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33(1), 475-505.

Yassin, A. (2013). Phylogenetic classification of the Drosophilidae Rondani (Diptera): the role of morphology in the postgenomic era. *Systematic Entomology*, 38(2), 349-364.

Yassin, A., Da Lage, J. L., David, J. R., Kondo, M., Madi-Ravazzi, L., Prigent, S. R., & Toda, M. J. (2010). Polyphyly of the *Zaprionus* genus group (Diptera: Drosophilidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(1), 335-339.

Zanini, R., Deprá, M., & Valente, V. L. S. (2015). Can sibling species of the *Drosophila willistoni* subgroup be recognized through combined microscopy techniques?. *Revista Brasileira de Entomologia*, 59(4), 323-331.