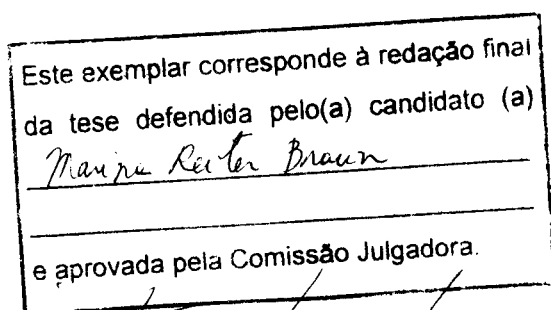


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA



MARINA REITER BRAUN

PADRÕES DE ESPECIALIZAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO MORFOLÓGICA EM
AGROMIZÍDEOS ENDÓFAGOS DE CAPÍTULOS DE ASTERÁCEAS



Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia para a obtenção do título de
Mestre em Ecologia

Orientador: Prof. Dr. Thomas Michael Lewinsohn

Co-orientador: Prof. Dr. Angelo Pires do Prado

2006

UNIDADE BC
Nº CHAMADA TI UNICAMP
B738p

V EX
TOMBO BC/ 71413
PROC. 16-145-02
C D X
PREÇO 11,00
DATA 13-02-07
BIB-ID 400534

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

B738p Braun, Marina Reiter
Padrões de especialização e diferenciação morfológica
em agromyzídeos endófagos de capítulos de asteráceas /
Marina Reiter Braun. – Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientador: Thomas Michael Lewinsohn
Co-orientador: Angelo Pires do Prado
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Agromyzidae. 2. Compostas. 3. Cerrado.
I. Lewinsohn, Thomas Michael. II. Prado, Angelo Pires do.
III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Biologia. IV. Título.

Amr/ib

Título em inglês: Specialization and morphological differentiation patterns of flower-head feeding agromyzids

Palavras-chave em inglês: Agromyzidae, Asteraceae, Cerrado

Área de concentração: Ecologia.

Titulação: Mestre em Ecologia

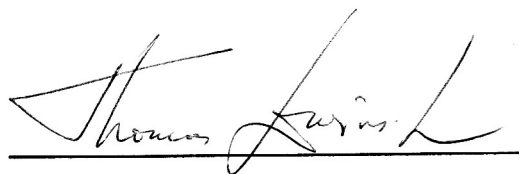
Banca examinadora: Thomas Michael Lewinsohn, Vera Cristina Silva, André Victor Lucci Freitas, Arício Xavier Linhares

Data da defesa: 07/12/2006.

Programa de Pós-Graduação: Ecologia

Banca Examinadora

Prof. Dr. Thomas Michael Lewinsohn (Orientador)



Profa. Dra. Vera Cristina Silva



Prof. Dr. André Victor Lucci Freitas



Prof. Dr. Arício Xavier Linhares

Prof. Dr. Miguel Francisco Souza Filho

AGRADECIMENTOS

Inicialmente tenho que agradecer ao meu filho Caio, por ser essa criança maravilhosa e por ter participado de todo o meu mestrado, dentro ou fora de mim! Agradeço e dou os parabéns a minha grande e linda mãe Rose Reiter! E o eterno amor de minha vovó Ana. Ao Guilherme Henrique agradeço o amor, a amizade, a paciência, as noites de cantoria, aos dias com as plantinhas e muito mais.

Os amigos do Liip (Laboratório de Interação Inseto/Planta) que sempre me deram maravilhosas idéias e alegrias, Adriana M. Almeida (grande pequena amiga), a cumadre Tehra Mendonça, Silvia Futada, Mario Almeida Neto (muito obrigada viu!!), Umberto Kubota, André Tavares C. Dias, Rafael Loyola, Mônica Kerch, Soraia Diniz, Rosane Picon e Ricardinho.

Ao meu afilhado Leo, tenho que me desculpar por ser uma madrinha, mãe, mestranda!

Ao Grupo de Pífanos Flautins Matuá, tenho que agradecer por ter me dado tanta sorte e alegria, além de ter me ajudado a viver de luz, cores e muito (e bom) som! Em especial ao Duda e ao Carlão, que não me deixaram desistir de ser uma Mestranda Matuá.

A rica ajuda de Luciane Hatadani e Fernanda Andaló por terem me ajudado e me ensinado tanto no terceiro capítulo, e me desculpar por ter azucrinado tanto as duas.

Ao professor Angelo Pires do Prado por ter me ensinado a trabalhar e gostar dos pequenos agromizídeos, além de me acalmar, sem saber, muitas e muitas vezes. Ao professor Keith Brown, por ter sido uma pessoa muito especial para o meu mestrado.

Agradeço aos professores Vera Cristina, André e Arício pela participação na banca e/ou pré-banca, e cujas críticas e sugestões certamente contribuíram para aumentar a qualidade do meu trabalho.

Ao Thomas Michael Lewinsohn, agradeço por ter acreditado em mim, por ter me ensinado tanto, pela paciência e principalmente pela a preciosa amizade, sempre.

Este mestrado foi possível graças ao financiamento da Fundação MB e da Microsoft[®].

ÍNDICE

Resumo	01
Abstract	01
Introdução Geral	02
Referências	05
CAPÍTULO 1: Agromizídeos endófagos de capítulos de asteráceas em remanescentes de cerrados do estado de São Paulo.	
Introdução	07
Material e Métodos	09
Resultados	11
Discussão	17
Referências	21
Tabelas	24
Figuras	27
CAPÍTULO 2: A especialização alimentar em agromizídeos endófagos de capítulos de asteráceas.	
Introdução	33
Material e Métodos	35
Resultados	37
Discussão	39
Referências	43
Tabelas	46
Figuras	49
CAPÍTULO 3: Diferenciação Morfológica em agromizídeos	
Introdução	55
Material e Métodos	58
Resultados	64
Discussão	66
Conclusões	71
Referências	73
Tabelas	79
Figuras	87
Conclusão geral	97

RESUMO

Na presente tese foram analisadas a especialização alimentar e variações morfológicas de agromizídeos endófagos de capítulos de asteráceas em remanescentes de cerrado no estado de São Paulo. Foram encontradas 15 espécies de três gêneros, das quais nove já haviam sido descritas. Dentre estas, o gênero *Ophiomyia* foi registrado pela primeira vez se alimentando de capítulos de asteráceas. A especialização alimentar desses endófagos foi analisada de acordo com o número de plantas hospedeiras locais e regionais. Foi observado que existe variação na especialização alimentar das espécies de herbívoro do âmbito regional para o local, ou seja, generalistas regionais podem ser especialistas locais, e que a presença da planta hospedeira nas localidades não prediz a presença do herbívoro. Através de análise da variação na forma corporal e da asa de agromizídeos, foram confrontadas metodologias alternativas de classificação de indivíduos de nove espécies de agromizídeos, estreitamente aparentados, a fim de verificar qual é o grau de coincidência na similaridade aferida entre indivíduos pelos diferentes métodos empregados. Foi comparada também a capacidade de discriminação e identificação de espécies muito próximas destes diferentes métodos. A metodologia de classificação com resultados mais semelhantes à tradicional (morfologia do edeago) é a de medidas corpóreas externas.

ABSTRACT

Feeding specialization and morphological variations of agromyzid flies feeding inside asteracean flowerheads were analyzed in this thesis. All Asteraceae host-plants were sampled in cerrado remnants in the State of São Paulo. I recorded fifteen species from three genera, from which six are undescribed. For the first time, a species from *Ophiomyia* was recorded feeding flowerheads. I used the number of host-plants as surrogate for feeding specialization. I found that generalist species in the regional scale can be locally specialized on their host-plants. Moreover, host-plant presence at the local scale did not predict the occurrence of their endophagous agromyzids. To evaluate whether distinct methodologies for species separation are consistent, I examined the coincidence in the morphological similarity of 116 adult individuals. I also examined whether these distinct methods can discriminate those species with higher morphological

similarity. The methodology based on measures of the external morphology was the most similar to the conventional classification system based on male genitalia morphology.

INTRODUÇÃO GERAL

Insetos endófagos são aqueles que passam algum estágio da vida dentro de uma estrutura da planta hospedeira, apresentando íntima associação com a mesma. Entre os grupos de endófagos, aqueles que se desenvolvem no interior de capítulos de plantas da família Asteraceae, são especialmente interessantes por apresentarem associações praticamente restritas a esta família; a qual é representada por cerca de 23.000 espécies distribuídas por quase todos os ambientes e continentes (Barroso 1986, Bremer 1994). A inflorescência típica desta família é o capítulo, que é composto por um conjunto de pequenas flores fixadas em um receptáculo plano e envoltas por uma série de brácteas. Este arranjo das flores oferece aos insetos alimento concentrado em um sítio protegido, e por esse motivo abrigam uma fauna rica e diversificada de insetos endófagos (Zwöfer 1988, Lewinsohn 1988, Abrahamson & Weis 1997). As fêmeas destas espécies de endófagos ovipoem nos capítulos, no interior dos quais as larvas se desenvolvem, consumindo seiva, flores, óvulos e frutos (Zwöfer 1979, 1988, Straw 1989, Almeida 1997).

Dentre os grupos de endófagos comumente encontrados em capítulos de asteráceas, destacam-se algumas famílias das ordens Diptera, Lepidoptera e Coleoptera, somando pelo menos 138 espécies (M. Almeida-Neto, dados não publicados). No Brasil, a ordem Diptera é representada pelas famílias Agromyzidae, Cecidomyiidae e Tephritidae (Redfern 1983, Lewinsohn 1991, Bremer 1994). As asteráceas (Asteraceae) são plantas hospedeiras de cerca de 30% das espécies de agromizídeos (Agromyzidae), que compreende um grupo de espécies exclusivamente fitófagas e muito semelhantes quanto à morfologia externa, sugerindo tratar-se de um ou dois conjuntos monofiléticos. (T.M. Lewinsohn, observação pessoal).

A família Agromizyidae é composta por aproximadamente 2.740 espécies, distribuídas em 32 gêneros nas sub-famílias Agromyzinae e Phytomyzinae, distribuídas pelo mundo todo e os habitats variam desde as tundras do Ártico aos trópicos. A distribuição dos gêneros varia significativamente entre as zonas temperadas e tropicais, cerca de 70% das espécies conhecidas é proveniente das zonas temperadas, embora a família seja bem representada na América do Sul (Spencer 1966, 1973, 1990, Spencer et al. 1992, Scheffer & Wiegmann 2000). Dentro da sub-família Agromyzinae, o gênero *Phytomyza* é o maior, com mais de 400 espécies descritas nas regiões temperadas, nessas regiões gênero *Melanagromyza* é o segundo maior. Já nas regiões tropicais esse gênero é o maior representante da família, com mais de 300 espécies descritas. Em um levantamento realizado na Flórida (EUA), 50% das espécies encontradas do gênero eram endófagas de capítulos de asteráceas (Spencer & Stegmaier 1973, Spencer & Steyskal 1986).

Muitas espécies de agromizídeos são consideradas pragas, pois já foram relatados danos causados por essas espécies em mais de 150 espécies de plantas cultiváveis de importância econômica, inclusive em cultivos de asteráceas ornamentais, como em *Chrysanthemum* spp. (Spencer 1973, 1987; Zebisch & Schuster 1987; Shepard et al. 1998). Devido à sua importância econômica, já foram realizados vários levantamentos e revisões de espécies de agromizídeos da América do Norte. Na região Neotropical tais estudos ainda são raros, mas entre os poucos estudos realizados já foram descritas 13 espécies associadas a capítulos de compostas, todas pertencentes ao gênero *Melanagromyza* (Spencer & Stegmaier 1973, Spencer & Steyskal 1986). Lewinsohn (1988, 1991) encontrou em localidades serranas e litorâneas da região sudeste do Brasil, 14 espécies de agromizídeos, das quais 11 pertencem a *Melanagromyza* e três a *Liriomyza*, sendo este registrado pela primeira vez atacando flores de asteráceas no Novo Mundo.

Almeida et al. (2005), em um levantamento sobre a diversidade e composição de asteráceas em alguns remanescentes de cerrados de São Paulo, identificaram 89 morfoespécies de asteráceas. Dentre estas espécies grande parte é conhecidamente hospedeira de agromizídeos endófagos de capítulos já identificados (Spencer 1966, 197, Spencer & Steyskal 1986, Lewinsohn 1988).

No primeiro capítulo desta dissertação foram identificados os agromizídeos endófagos de capítulos de asteráceas em remanescentes de cerrado do estado de São Paulo, além de fornecidas características morfológicas importantes das espécies, assim como sua distribuição geográfica conhecida.

No segundo capítulo foi avaliada a especialização alimentar, no âmbito local e regional, das espécies identificadas no primeiro capítulo. Por fim, no capítulo três, foram testadas e comparadas diferentes metodologias alternativas de análises de caracteres possíveis de auxiliar na identificação de algumas dessas espécies de agromizídeos.

REFERÊNCIAS

- Abrahamson, W. G. & A. E. Weis. 1997. Evolutionary ecology across tree trophic levels. Goldenrods, gallmakers and natural enemies. Princeton, Princeton University Press.
- Almeida, A. M. 1997. Padrões de ocorrência em insetos endófagos associados a capítulos de *Trichogoniopsis adenantha* (DC.) (Asteraceae). Tese (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Almeida, A. M., C. R. Fonseca, P. I. Prado, M. Almeida-Neto, S. Diniz, U. Kubota, M. R. Braun, R. L. G. Raimundo; L. A. Anajos, T. G. Mendonça, S. M. Futada & T. M. Lewinsohn. 2005. Diversidade e ocorrência de Asteraceae em cerrados de São Paulo. *Biota Neotrop.* 5(2). <http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/ptabstract?article+BN00105022005> . ISSN 1676-0603.
- Barroso, G. M. 1986. Sistemática das Angiospermas do Brasil. Vol. 3. Viçosa, Imprensa da Universidade Federal de Viçosa.
- Bremer, K. 1994. Asteraceae: Cladistics and classification. Timber Press, Portland. 752pp.
- Lewinsohn, T. M. 1988. Composição e tamanho de faunas associadas a capítulos de compostas. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- Lewinsohn, T. M. 1991. Insects in Flower Heads of Asteraceae in Southeast Brazil: a Case Study on Tropical Species Richness. In Price, P. W.; T. M. Lewinsohn, G. W. Fernandes. & W. W. Benson. *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. John Wiley, New York.
- Redfern, M. 1983. Insects and Thistles. Naturalists Handbooks, 4. Cambridge University Press. 65 pp.
- Scheffer, S. J. & B. M. Wiegmann. 2000. Molecular Phylogenetics of the Holly Leaf miners (Diptera: Agromyzidae: *Phytomyza*): Species Limits, Speciation, and Dietary Specialization. *Mol. Phylogenet. Evol.* 17(2): 244-255.
- Shepard, B. M., A. Samsudin & A. R. Braun. 1998. Seasonal incidence of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids on vegetables in Indonesia. *Intern. J. Pest Manag.* 44(1):43-47.

- Spencer, K. A. 1966. Notes on the Neotropical Agromyzidae (Diptera). Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia. Secretaria da Agricultura. São Paulo. 19:142-150.
- Spencer, K. A. 1973. The Agromyzidae (Diptera) of Venezuela. Rev. Fac. Agrom. VIII(2): 5-107.
- Spencer, K. A. 1987. Agromyzidae, *in*: Mc Alpine J. F. (ed.). Manual of Nearctic Diptera. Vol.2 Ottawa, Ontario.
- Spencer, K. A. 1990. Host specialization in the World Agromyzidae (Diptera). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Spencer, K. A. & C. E., Stegmaier. 1973. Arthropods of Flórida (EUA) and Neighboring Land Areas, Vol. 7. Agromyzidae of Flórida (EUA) with a Supplement on Species from the Caribbean, Flórida (EUA).
- Spencer, K. A. & G. C. Steykal. 1986. Manual of the Agromyzidae (Diptera) of the United States. U. S. Dep. Agri. Res. Serv. Handb.
- Spencer, K. A., M. Martinez & J. Etienne. 1992. Les Agromyzidae (Diptera) de Guadeloupe. Ann. Soc. Entomol. Fr. (28): 251-302.
- Straw, N. A. 1989. Taxonomy, attack strategies and host relations in flowerhead Tephritidae – a review. Ecol. Entomol. 14 (4): 455-462 .
- Zoebisch, T. G. & D. J. Schuster. 1987. Suitability of Foliage of Tomatoes and Three Weed Hosts for Oviposition and Development of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae). J. Econ. Entomol. 80(4):758-762
- Zwölfer, H. 1988. Evolutionary and ecological relationships of the insect fauna of thistles. Annu. Rev. Entomol. 33: 103-122.
- Zwölfer, H. 1979. Strategies and counterstrategies in insect populations systems competing for space and food in flower heads and plant galls. Fortschr. Zool. 25: 331-353.

Capítulo 1. AGROMIZÍDEOS ENDÓFAGOS DE CAPÍTULOS DE ASTERÁCEAS EM REMANESCENTES DE CERRADOS DO ESTADO DE SÃO PAULO

INTRODUÇÃO

A família Agromyzidae (Diptera: Cyclorrhapha) é composta exclusivamente por insetos fitófagos (Spencer 1990) e se destaca entre os dípteros pela ampla diversificação de hábitos alimentares apresentando espécies minadoras, brocadoras e comedoras de sementes. Na maioria das espécies a larva é minadora de folhas ou brocadora de caules. A endofagia de capítulos de Asteraceae por agromizídeos também ocorre, embora seja pouco documentada na literatura sobre o grupo (Spencer 1963, 1965, 1966, 1973; Spencer et al. 1992).

A associação desses herbívoros com as suas plantas hospedeiras é bem conhecida dentre as espécies minadoras de folhas devido à sua importância econômica, mas em levantamentos de agromizídeos endófagos de capítulos existem poucas informações sobre as plantas hospedeiras (Spencer 1965, 1966, 1990). Além disso, existe também pouca informação sobre a distribuição espacial e especialização alimentar destas espécies (Lewinsohn 1988).

Parte da deficiência do conhecimento sobre as interações dos agromizídeos endófagos de capítulos e suas plantas hospedeiras deve-se à metodologia utilizada para coletar a maioria dos espécimes. Grande parte das descrições foi realizada com base em adultos capturados sobre a vegetação e, em alguns casos, coletados sobre os capítulos de asteráceas (Spencer 1965). A criação de imaturos a partir dos capítulos das plantas hospedeiras é citada raramente nos artigos onde as espécies são encontradas (Valladares et al. 1982, Lewinsohn 1988) e, sendo assim, é comum que várias espécies não apresentem qualquer registro de planta hospedeira. Apesar desta deficiência, novos estudos onde os capítulos das asteráceas foram coletados, garantem que uma das maiores vantagens de se trabalhar com insetos endófagos reside no fato de que não são necessários experimentos ou observações de alimentação para estabelecer sua associação

com as plantas hospedeiras, uma vez que as larvas destas espécies empupam na planta hospedeira e dela emergem os indivíduos adultos (Lewinsohn 1988, Lewinsohn et al. 2001, Prado et al. 2002).

Já foram realizados vários levantamentos e revisões de espécies de agromizídeos da América do Norte, nos quais foram descritas 13 espécies associadas a capítulos de compostas, todas pertencentes ao gênero *Melanagromyza* Hendel (Spencer 1969, Spencer & Stegmaier 1973, Spencer & Steyskal 1986). Lewinsohn (1988, 1991) encontrou em localidades serranas e litorâneas da região Sudeste do Brasil 14 espécies de agromizídeos em capítulos de asteráceas, das quais 11 pertenciam a *Melanagromyza* e três a *Liriomyza* Mik., tendo este sido registrado, por ele, pela primeira vez atacando flores de asteráceas no Novo Mundo.

Em um levantamento sobre a diversidade e composição de asteráceas em alguns remanescentes de cerrados de São Paulo, realizado de 2000 a 2002, Almeida et al. (2005) identificaram 89 morfoespécies de asteráceas, sendo que 74 foram identificadas até espécie. Eles observaram que a maioria (87%) dessas espécies pertencem às tribos Vernonieae (35%), Eupatorieae (28%), Heliantheae (10%), Senecioneae (7%) e Mutisieae (7%). Essas tribos de asteráceas são reconhecidamente representadas por espécies hospedeiras de espécies já identificadas de agromizídeos endófagos de capítulos (Spencer 1966, 1973; Spencer & Steyskal 1986, Lewinsohn 1988).

Almeida et al. (2006) observaram que dentre as espécies endófagas de capítulos de asteráceas apenas *Xantacyura chrysur* (Thomson) e *Melanagromyza* spp. foram encontradas em todas as localidades de coleta. Entretanto, apesar de ser uma família importante dentro desse grupo de endófagos, ainda não se conhece realmente quais e quantas são as espécies de agromizídeos associadas a estas plantas hospedeiras. A falta de informação sobre a composição de espécies das comunidades destes endófagos deve-se à dificuldade de identificação dos indivíduos até espécie. Como sua morfologia externa é muito semelhante (Fig. 1), a melhor forma de identificação dos

indivíduos é através da análise da morfologia do aparelho reprodutor dos machos (edeago, Fig. 2) (Spencer & Steyskal 1986).

Por existir uma alta diversidade de tribos de asteráceas nos remanescentes de cerrado do estado de São Paulo (Almeida et al. 2005) que potencialmente podem ser plantas hospedeiras de agromizídeos endófagos de capítulos (Spencer 1966, Lewinsohn 1988), neste capítulo são apresentadas as espécies de agromizídeos que se alimentam dos capítulos de asteráceas nesse ambiente e serão apresentadas suas plantas hospedeiras. Para todas as espécies de agromizídeos, são fornecidas ainda características morfológicas importantes assim como sua distribuição geográfica conhecida.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e obtenção do material analisado

Os insetos analisados são oriundos de coletas efetuadas de março a maio de 2002, e de março a abril e de julho a agosto de 2004 nos projetos “Diversidade de espécies e de interações em plantas e insetos fitófagos” (Lewinsohn et al. 2001) e “Efeito da degradação de habitat sobre a estrutura de interações entre plantas e insetos fitófagos”(Projeto de Doutorado de Mário Almeida Neto) (ambos estudados no âmbito do Programa BIOTA/Fapesp).

As coletas foram realizadas em áreas de remanescentes de cerrado em doze municípios do estado de São Paulo, a saber: Águas de Santa Bárbara, Agudos, Assis, Bauru, Martinópolis, Mogi-Guaçu, Pedregulho, Rifania, Santa Rita do Passa-Quatro (em 2002), Ibaté, Itirapina (em 2002 e 2004) e São Carlos (em 2004). Esses remanescentes estão inseridos em formações de cerrado com diferentes fitofisionomias que apresentam composição florística distintas, são elas: cerradão, cerrado *sensu stricto* e campo cerrado (Eiten 1971).

Criação dos insetos

A cada coleta, capítulos de asteráceas foram coletados e mantidos em laboratório para a obtenção de indivíduos adultos. Apenas capítulos maduros

foram coletados e armazenados em recipientes de PVC transparentes com 0,5 ou 1 litro de capacidade, com boca larga e tampa de tela para permitir a ventilação e evitar umedecimento excessivo dos mesmos.

A criação de adultos foi mantida em laboratório por no mínimo dois meses (ou período equivalente à emergência dos adultos). O material dos frascos foi triado diariamente inicialmente, sendo este intervalo gradativamente ampliado à medida que as emergências de insetos tornaram-se mais esparsas. Os insetos que emergiram das amostras foram retirados dos potes de criação após serem anestesiados com CO₂. Depois de mortos esses foram montados com alfinete entomológico, em montagem dupla. O material de referência será depositado no Museu de História Natural da Universidade Estadual de Campinas.

Preparação do material

Como a maior parte das descrições das espécies desta família foi baseada apenas no aparelho genital masculino (Spencer & Stegmaier 1973, Spencer et al. 1992) (Fig. 2), inicialmente foram separados os machos das fêmeas, com base na morfologia externa do último segmento do abdome (aparelho reprodutor). Após esta separação foi realizada a dissecação da genitália de todos os indivíduos machos, usando procedimento usual para este grupo (A. P. Prado, comunicação pessoal).

Segundo este procedimento o abdome é retirado e mantido por até 16 horas em solução de KOH (10%) a frio, e em seguida lavado em álcool 70%. A região do epândrio é retirada do pós-abdome e os edeagos (Fig. 2) são dispostos em lâminas e examinados em microscopia ótica. A identificação das espécies já descritas foi feita com base na literatura (e.g., Spencer & Stegmaier 1973, Spencer & Steyskal 1986, Spencer et al. 1992) e por meio da comparação com espécimes das espécies *Melanagromyza minima* Spencer, *M. minimoides* Spencer e *M. chaptaliae* Spencer identificados por Kenneth A. Spencer, obtidos por empréstimo, dos acervos do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZSP) e do Museu Britânico de História Natural (BMNH).

Exemplares de referência de edeagos foram montados em lâminas permanentes com Euparal, fotografados e/ou desenhados. Nos demais espécimes a genitália e abdome, após exame e comparação, foram preservados em glicerina em tubo de genitália montado no mesmo alfinete do adulto.

RESULTADOS

Dos 1405 indivíduos de Agromyzidae coletados, machos e fêmeas, foram identificados 698 indivíduos machos pertencentes principalmente a *Melanagromyza* (691 indivíduos). Apenas seis indivíduos foram identificados como sendo *Liriomyza*; estes indivíduos provinham de apenas uma única amostra de *Mikania cordifolia* (Eupatorieae). Apenas um indivíduo, que emergiu de capítulos de *Lepidaploa psilostachya* (Eupatorieae), foi identificado como sendo *Ophiomyia* Braschnikov. Dos indivíduos identificados, 468 (66%) pertencem a apenas três espécies. Dentre estas espécies *Melanagromyza bidentis* Spencer foi a mais abundante com 199 indivíduos (28,5%), seguida por *M. neotropica* Spencer com 164 indivíduos (23,5%) e *M. floris* Spencer com 105 indivíduos (15%). Em comparação algumas espécies foram representadas por apenas um único indivíduo, são elas *M. chaptaliae* Spencer, *Melanagromyza* sp5 e *Ophiomyia* sp (Tabela 1).

As espécies de agromizídeos endófagos de capítulos que foram estudadas emergiram de 28 espécies de asteráceas distribuídas em 16 gêneros e seis tribos (Eupatorieae, Heliantheae, Mutisieae, Senecioneae e Vernonieae) (Tabela 1). A tribo com o maior número de espécies de agromizídeos associados foi Eupatorieae, com seis das 15 espécies identificadas. Outras oito espécies de plantas hospedeiras apresentaram interação com no máximo duas espécies de agromizídeos e nove espécies apresentaram interação com apenas uma única espécie de agromizídeo endófago de capítulo.

Foram também registradas 35 novas ocorrências de associação de agromizídeos dos três gêneros *Liriomyza*, *Melanagromyza* e *Ophiomyia* em

plantas hospedeiras, i.e., pela primeira vez estas interações são relatadas (Tabela 2).

Caracterização bionômica das espécies

São apresentadas a seguir, em ordem alfabética, as espécies pertencentes à *Liriomyza*, *Melanagromyza* e *Ophiomyia*, identificadas neste trabalho, que emergiram dos capítulos de asteráceas coletados.

Gênero *Liriomyza* Mik

Liriomyza Mik, 1894: 284.

Espécie tipo: *Liriomyza urophorina* Mik.

Foram identificados apenas seis indivíduos pertencentes a esse gênero, todos muito semelhantes, tanto na morfologia interna quanto externa, a um grupo de indivíduos que emergiu de duas espécies de *Chromolaena* (Eupatorieae) coletadas por Lewinsohn (1988). Todos os indivíduos coletados no atual trabalho emergiram de uma única amostra de *Mikania cordifolia* (Eupatorieae).

Gênero *Melanagromyza* Hendel

Melanagromyza Hendel, 1920: 120. Ref.- Spencer, 1966: 3-60, 1969: 64.

Espécie tipo: *Agromyza aeneoventris* Fallén, 1823:4.

***Melanagromyza bidentis* Spencer**

Melanagromyza bidentis Spencer, 1966: 7.

Adulto: espécie pequena, com asa medindo de 1,6 – 1,9 mm de comprimento, mesonoto preto com reflexo verde metálico e esquama cinza. Esta espécie já foi registrada nos Estados Unidos (Flórida), Venezuela, Costa Rica e Brasil em *Bidens pilosa* e *Verbesina laciniata* (Heliantheae). No presente trabalho os indivíduos coletados desta espécie apresentaram interação com um total de nove espécies, pertencentes a dois gêneros, um da tribo Eupatorieae e outro da tribo Vernonieae.

***Melanagromyza chaptaliae* Spencer**

Melanagromyza chaptaliae Spencer, 1966: 8.

Adulto: espécie de tamanho médio, com asa medindo 1,8 mm de comprimento, esquama e franja da esquama brancas com reflexos prateados. Esta espécie foi encontrada por Spencer nos Estados Unidos (Flórida) em *Chaptalia dentata* (Mutisieae) e por Lewinsohn (1988) no Brasil em *C. nutans* e em *Porophyllum ruderale* (Tageteae). O único indivíduo encontrado no presente trabalho emergiu de *C. interrigma*.

***Melanagromyza erechitidis* Spencer**

Melanagromyza erechitidis Spencer, 1966: 10.

Adulto: espécie grande quando comparada a outras espécies do gênero. O comprimento da asa varia entre 2,1 – 2,3 mm, mesonoto preto metálico, esquama cinza com franja preta. Sua distribuição é conhecida apenas nos Estados Unidos (Flórida) e no Brasil em *Erechites hieracifolia* (Senecioneae) e em mais oito espécies de plantas pertencentes a esta mesma tribo, além de mais seis espécies hospedeiras da tribo Eupatorieae e duas da tribo Astereae. Neste estudo, os indivíduos emergiram de duas espécies da tribo Senecioneae, *E. hieracifolia* e *Hoehnephytum trixoides*.

***Melanagromyza floris* Spencer**

Melanagromyza floris Spencer, 1963: 313. Ref.- 1966 : 10

Adulto: espécie pequena com coloração preta e verde metálica, asa medindo 1,75 – 2 mm de comprimento, esquama e franja brancas. Apresenta distribuição conhecida nas Américas (Bahamas, Brasil, Costa Rica, Cuba, Estados Unidos (Flórida), Jamaica, México, Porto Rico, Trinidad e Venezuela) em *Bidens pilosa*, *Calendula* sp., *Wedelia paludosa* e *Wulffia baccata* (Heliantheae) e *Conyza maximus* (Astereae). Todos os indivíduos emergiram de plantas da tribo Heliantheae, sendo 103 indivíduos da espécie *Bidens gardneri* e apenas dois da espécie *Aspilina* sp.

***Melanagromyza minima* Malloch**

Agromyza minima Malloch, 1913 : 328

Melanagromyza minima Shewell, 1953: 468. Ref.- Frick, 1957: 200; 1959: 364; Spencer, 1963: 317; 1966: 12.

Melanagromyza longicaudalis Spencer, 1963 : 316. Ref.- Spencer, 1966 : 12.

Adulto: espécie pequena, com a asa medindo entre 1,9 – 2,0 mm de comprimento, sua morfologia externa e interna é muito semelhante à de *M. bidentis*. Apresenta o mesonoto preto com reflexos de verde a azul metálico, esquama cinza com franja preta. Com distribuição conhecida nas Américas (Antigua, Brasil, Costa Rica, Estados Unidos (Flórida), Jamaica, México, República Dominicana e Trinidad) nas plantas hospedeiras *Chromolaena odorata* (Eupatorieae), *Wedelia paludosa* e *W. trilobata* (Heliantheae). Os indivíduos dessa espécie emergiram de três espécies da tribo Heliantheae, *Bidens gardneri*, *Viguiera robusta* e *V. arenaria*.

***Melanagromyza minimoides* Spencer**

Melanagromyza minimoides Spencer, 1966: 13.

Adulto: espécie pequena, abdome preto e verde metálico, comprimento da asa entre 1,6 – 2,2 mm, com a esquama cinza. Esta espécie também apresenta muita semelhança, seja na morfologia externa quanto na interna, à *M. bidentis* e *M. minima*. Foi registrada na Venezuela e nos Estados Unidos em levantamentos realizados por Spencer (1966), na Argentina em um trabalho realizado por Valladares et al. (1982) e no Brasil em um levantamento realizado por Lewinsohn (1988) nas plantas hospedeiras *Aster simmondsii* e *Baccharis trinervis* (Asteraeae); *Helenium nudiflorum* (Helenieae); *Bidens pilosa*, *Borrchia frutescens*, *Melanthera deltoidea*, *Rubdeckia laciniata*, *Verbesina laciniata*, *Wedelia paludosa* e *Wulffia baccata* (Heliantheae); *Cyrtocymura scorpioides*, *Lepidaploa salzmännii*, *Lessingianthus parvifolius*, *Vernonanthura petiolaris* e *Lychnophora passerina* (Vernonieae). Foram identificados apenas dois indivíduos desta espécie: um emergiu de *Bidens gardneri* e o outro de *Wulffia stenoglossa*, duas espécies de planta hospedeira pertencentes à tribo Heliantheae. Edeago e epândrio (Fig. 3)

Complexo *Melanagromyza minimoides*

***Melanagromyza* sp1**

Adulto: espécie muito semelhante a *M. minimoides*, asa medindo 1,6 - 1,8 mm de comprimento, com diferenças na forma e membrana do edeago (Fig. 3a, 4b). Todos os indivíduos desta espécie emergiram de *Bidens gardneri* (Heliantheae).

***Melanagromyza* sp2**

Adulto: comprimento da asa de 1,4 – 1,7 mm, espécie semelhante também a *M. minimoides* com diferenças na forma do edeago (Fig. 5a) e na forma do epândrio, este semelhante ao de *M. neotropica* (Fig. 5b e 10b). Os indivíduos emergiram de plantas da tribo Mutisieae (*Gochnatia polymorpha*, *G. pulchra* e *Trixis verbasciformis*) e Eupatorieae (*Campuloclinium chlorolepis* e *Mikania cordifolia*).

***Melanagromyza* sp 3**

Adulto: espécie também semelhante à *M. minimoides* e o edeago semelhante ao de *Melanagromyza* sp2 (Fig. 6a, b) com variação na morfologia do sustilo (Fig. 6c) e da membrana do edeago. A asa medindo entre 1,4 - 1,9 mm de comprimento. Os indivíduos emergiram de *Chrysolaena platensis*, *Lepidaploa salzmännii*, *Vernonanthura ferruginea*, *V. membranacea* e *V. phosphorica*, todas pertencentes à tribo Vernonieae.

***Melanagromyza* sp4**

Adulto: asa medindo 1,5 – 1,6 mm, espécie semelhante à *M. minimoides* com diferença importante na morfologia do edeago (Fig. 7a) e na inserção das cerdas no epândrio (Fig. 7b). Todos os seis indivíduos emergiram de *Baccharis dracunculifolia* (Astereae).

***Melanagromyza neotropica* Spencer**

Melanagromyza neotropica Spencer, 1973: 219.

Adulto: espécie grande, abdome preto com reflexos verde e dourados, asa medindo 2,2 – 2,6 mm de comprimento. Apresenta distribuição conhecida nas Américas (Brasil, Costa Rica, México e Venezuela), onde a biologia do inseto e sua planta hospedeira ainda não eram conhecidas. No atual trabalho, esta espécie emergiu principalmente (157 indivíduos) de capítulos de *Bidens gardneri* (Heliantheae), e apenas seis indivíduos emergiram de capítulos de outras três espécies pertencentes à tribo Eupatorieae (*Campuloclinium chlorolepis*, *Chromolaena odorata* e *C. pedunculosa*). Edeago e epândrio (Fig. 10)

***Melanagromyza wedeliae* Spencer**

Melanagromyza wedeliae Spencer in Spencer & Stegmaier, 1973: 54.

Adulto: espécie média, asa medindo 2,3 mm de comprimento, apresentando a última porção da veia M_{3+4} curta, abdome preto e verde metálico, escuridão cinza com a margem das franjas pretas. Esta espécie tinha sua ocorrência registrada, até o momento, apenas nos Estados Unidos (Flórida), nas espécies hospedeiras *Wedelia paludosa* e *Senecio confusus* (Senecioneae). O único indivíduo desta espécie, no trabalho atual, emergiu de capítulo de *Trixis vauthieri* (Heliantheae).

***Melanagromyza* sp5**

Adulto: espécie semelhante, tanto na morfologia interna (Fig. 8a, 8b) quanto externa, a *M. neotropica* (Fig. 10a), com asa medindo 1,7mm de comprimento. O único indivíduo encontrado desta morfoespécie emergiu de capítulos de *Chrysolaena platensis* (Vernonieae).

Gênero *Ophiomyia* Braschnikov

Agromyza Fallén, (subgênero) *Ophiomyia* Braschnikov, 1897.

Espécie tipo: *Agromyza publicaria* Meigen, 1830 [misid.,=*Agromyza maura* Meiger, 1830]

Ophiomyia Braschnikov. Ref. - Hendel, 1920: 128 (como gênero).

Ophiomyia sp

Adulto: asa com 1,7 mm de comprimento, formas do edeago, do nono esternito e do epândrio bem diferentes das espécies de *Ophiomyia* já descritas (Fig. 9). O único indivíduo coletado emergiu de capítulos de *Lepidaploa psilostachya* (Eupatorieae).

DISCUSSÃO

Das quinze morfoespécies de agromizídeos identificadas neste trabalho, oito (53,3%) foram identificadas até espécie e as outras sete (46,6%) foram separadas apenas até gênero. Como observado por Spencer e Stegmaier (1973) a maioria das espécies identificadas (93,3%) pertence ao gênero *Melanagromyza*, que é considerado o segundo maior gênero da família Agromyzidae, com mais de 280 espécies descritas, sendo a maioria delas descritas para as regiões tropicais, onde este gênero é o maior da família. A maior parte das espécies descritas deste gênero é brocadora de caules, mas nas regiões tropicais estão concentradas as espécies endófagas de capítulos de asteráceas. Spencer (1990), baseado apenas nas características comportamentais e morfológicas esta diferença de hábitos alimentares, sugere que estes grupos de espécies podem não ser monofiléticas (Spencer 1990).

Melanagromyza minimoides sempre foi considerada muito semelhante, em sua morfologia externa e interna, a *M. bidentis* e *M. minima* (Lewinsohn 1988; Spencer 1963, 1966, 1973; Spencer & Stegmaier 1973; Spencer & Steyskal 1986;

Spencer et al. 1992). No trabalho atual, os dois indivíduos desta espécie foram identificados através da similaridade das formas do edeago, forma e número de cerdas no epândrio e sustilo, com tipos identificados por Spencer (1966). Esta espécie já foi considerada polífaga em outros levantamentos, por estar associada a capítulos de várias espécies pertencentes a mais de seis tribos de asteráceas. Apesar disso, acreditamos que *M. minimoides*, na verdade, pode ser um complexo de espécies muito semelhantes tanto na morfologia externa quanto interna. Isto porque, a partir de separação mais detalhada com base nas variações morfológicas não só do edeago, mas também do epândrio e suas cerdas, é possível separar esses indivíduos, inicialmente classificados como *M. minimoides*, em outras quatro morfoespécies, aqui denominadas como *Melanagromyza* sp1 a sp4.

As principais diferenças entre *M. minimoides* (Fig. 3) e *Melanagromyza* sp1 (Fig.4) são: (1) a membrana que recobre o edeago em *Melanagromyza* sp1 é muito mais longa, (2) a porção distal da mesma é mais alargada que a membrana de *M. minimoides*. Além disso, o edeago é semelhante, porém menor, que em *M. minimoides*. Já *Melanagromyza* sp2, quando comparada a *M. minimoides*, apresenta o edeago proporcionalmente menor (Fig. 5a). A porção distal do edeago não é arredondada e o formato do gancho grande do epândrio (Fig. 5b) é semelhante ao de *M. neotropica* (Fig. 10b). Além disso, a membrana que recobre o edeago é mais longa. Os indivíduos desta morfoespécie, que emergiram da tribo Eupatorieae, apresentam toda a estrutura do aparelho reprodutor proporcionalmente maior (2X) que os indivíduos que emergiram da tribo Mutisieae.

Melanagromyza sp3 apresenta o edeago semelhante a *Melanagromyza* sp2, mas existem diferenças importantes na forma do apândrio e principalmente na porção distal da membrana que recobre o edeago (Fig. 6). Em todos os indivíduos, esta membrana se apresenta mais afinada na extremidade terminal com aspecto colabado. *Melanagromyza* sp4, como as morfoespécies anteriores, apresenta o edeago muito semelhante a *M. minimoides*, por esse motivo pode ser facilmente confundido com esta durante a separação. A maior variação morfológica pode ser observada na disposição das cerdas no epândrio e uma protuberância em forma de aba distendida na porção distal do edeago (Fig. 7).

Outra espécie que será descrita é *Melanagromyza* sp5, que apresenta o

edeago muito semelhante ao de *M. neotropica* (Fig. 10), mas a porção distal do edeago em forma de leque o diferencia das outras espécies descritas (Fig. 8a, 8b).

Das espécies pertencentes a *Melanagromyza* identificadas neste trabalho, apenas *M. erechitidis* apresentou interação com a mesma espécie de planta hospedeira onde já é conhecida sua endofagia. As outras doze espécies de agromizídeos identificadas neste trabalho emergiram de espécies onde ainda não havia sido registrada a interação. Esse fato foi encontrado também por Prado et al. (2002), estudando as associações de tefritídeos endófagos de capítulos de asteráceas e suas plantas hospedeiras.

Neste estudo foram registradas novas espécies de plantas hospedeiras para agromizídeos dos gêneros *Liriomyza* e *Melanagromyza* (Tabela 2). É importante ressaltar que neste trabalho a espécie *Melanagromyza minimoides* é considerada um complexo de espécies.

Podemos observar que os dados disponíveis na literatura para os agromizídeos endófagos foram coletados em regiões biogeográficas bem diferentes das do trabalho atual, como por exemplo, nos Estados Unidos (Flórida), Jamaica, Costa Rica e Venezuela. No Brasil, os dados dessas interações foram obtidos em áreas litorâneas e em áreas de altitude (Lewinsohn 1988); para áreas de cerrados, esses são os primeiros registros dessas interações. Essa pequena variação no uso das plantas hospedeiras, mesmo em regiões biogeográficas diferentes, sugere que o número de hospedeiras potenciais de um determinado taxon de agromizídeo pode ser filogeneticamente restrito, como sugerido por Zwölfer (1982, 1988), Straw (1989), e Lewinsohn et al. (1991).

Apesar de uma grande porcentagem de espécies de agromizídeos se associar à plantas relacionadas filogeneticamente, mesmo em regiões tão distintas, a espécie *M. bidentis* foi encontrada associada apenas a uma tribo de asterácea onde ainda não havia sido registrada sua endofagia. Spencer (1966, 1973) encontrou esta espécie associada apenas a capítulos de plantas da tribo Heliantheae, e no presente trabalho todos os indivíduos coletados emergiram de plantas das tribos Vernonieae e Eupatorieae, esta última considerada por Bremer (1984) como grupo-irmão de Heliantheae.

Dentre as 15 espécies de agromizídeos identificadas neste trabalho, apenas uma foi identificada como sendo de *Liriomyza*. Esse gênero é,

possivelmente, o maior gênero de agromizídeos neotropicais, onde a grande maioria das espécies é minadora de folhas (Spencer 1963, 1973; Spencer & Steyskal 1986). Em um dos primeiros levantamentos sobre a endofagia de capítulos de asteráceas realizados no Brasil, Lewinsohn (1988) registrou pela primeira vez o hábito de endofagia de capítulos em espécies de *Liriomyza* americanas. Essas espécies de endófagos foram encontradas associadas às tribos Astereae, Eupatorieae e Vernonieae. Além disso, como no trabalho atual, foi observada uma baixa taxa (0,5%) de infestação por *Liriomyza* em capítulos de asteráceas.

Pela primeira vez no Brasil foi registrada a associação de uma espécie de *Ophiomyia* em capítulos de asteráceas, apesar deste gênero ser bem representado na região Neotropical (Spencer & Stegmaier 1973). Grande parte das espécies descritas deste gênero é minadora de folhas e caule, comedora de sementes e galhadora de caule (Greathead 1968, Spencer & Stegmaier 1973) e segundo Spencer & Stegmaier (1973) pouco se sabe sobre a biologia e a associação de cerca de 40% das espécies descritas. O espécime pertencente a esse gênero não apresenta semelhança alguma na forma do edeago com qualquer outra espécie, deste gênero, já descrita (Fig. 10).

Seis das 15 espécies coletadas ainda não foram descritas e isso nos mostra o quão pouco se sabe sobre a diversidade de agromizídeos neotropicais. As descrições e os resultados obtidos neste estudo permitirão que estas espécies sejam descritas em breve, por apresentarem variações morfológicas importantes que nos permitem separá-las em espécies distintas (A. P. Prado, comunicação pessoal). Levando em consideração a alta diversidade de espécies de plantas pertencentes à família Asteraceae nas regiões neotropicais, que são potencialmente hospedeiras de agromizídeos endófagos de capítulos, e a alta especialização alimentar da maioria das espécies da família Agromyzidae, podemos, como Spencer (1965), supor que conhecemos apenas uma pequena porcentagem das espécies de agromizídeos endófagos de capítulos de asteráceas na região Neotropical.

REFERÊNCIAS

- Almeida, A. M., C. R. Fonsceca, P. I. Prado, M. Almeida-Neto, S. Diniz, U. Kubota, M. R. Braun, R. L. G. Raimundo; L. A. Anajos, T. G. Mendonça, S. M. Futada & T. M. Lewinsohn. 2005. Diversidade e ocorrência de Asteraceae em cerrados de São Paulo. *Biota Neotrop.* 5(2). <http://www.biotaneotropica.org.br/v5n2/ptabstract?article=BN00105022005> . ISSN 1676-0603.
- Braschnikov, W. C. 1897. Zur Biologie und Systematik einiger Arten minerender Dipteren. *Izv. Mosk. Sel'.-Khoz Inst.* 3: 19-43.
- Fallén, C. F. 1823. *Agromyzides sveciae*. *Berlingians Lundae* (=Lund). *Dipt. Suec.* 2(37): 1-10.
- Eiten, G. 1971. Cerrado vegetation of Brazil. *Bot. Rev.* 38: 201-341.
- Frick, K. E. 1957. Nomenclature changes and type designations of some New World Agromyzidae (Diptera). *Ann. Ent. Soc. Amer.* 50: 198-205.
- Frick, K. E. 1959. Synopsis of the species of Agromyzidae leaf miner described from North America (Diptera). *Proc. U. S. Nat. Mus.* 108: 347- 465.
- Greathead, D. J. 1968. A study in East Africa of the bean flies (Dipt., Agromyzidae) affecting *Phaseolus vulgaris* and their natural enemies, with the description of a new species of *Melanagromyza* Hend. *Bull. Entomol. Res.* 59: 541-561.
- Hendel, F. 1920. Die paläarktischen Agromyziden (Prodomus einer Monographie). *Arch. Naturgesch. A.* 84(7): 109-174.
- Lewinsohn, T. M. 1988. Composição e tamanho de faunas associadas a capítulos de compostas. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- Lewinsohn, T. M. 1991. Insects in Flower Heads of Asteraceae in Southeast Brazil: a Case Study on Tropical Species Richness. *In* Price, P. W.; T. M. Lewinsohn, G. W. Fernandes. & W. W. Benson. *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. John Wiley, New York.
- Lewinsohn, T. M., P.I. K. L. Prado & A. M. Almeida. 2001. Inventários Bióticos Centrados em Recursos: Insetos Fitófagos e Plantas Hospedeiras, p.174-187. *In* Garay, I. & B. Dias (orgs.). *Conservação da Biodiversidade em*

- Ecossistemas Tropicais. Editora Vozes, Petrópolis.
- Malloch, J. R. 1913. A revision of the species of *Agromyza* Fallén, and *Cerodonth Rondani*. Ann. Ent. Soc. Amer. 6: 269-336.
- Mik, J. 1894. Ueber eine neue *Agromyza*, deren Larven in den Blütenknospen von *Lilium martagon* leben. Wien. Ent. Ztg. 13: 284-290.
- Prado, P. I., T. M. Lewinsohn, A. M. Almeida, A. L. Norrbom, B. D. Buys, A.C. Macedo & M. B. Lopes. 2002. The fauna of Tephritidae (Diptera) from capitula of Asteraceae in Brazil. Proc. Entomol. Soc. Wash. 104(4):1007-1028.
- Shewell, G. E. 1953. Notes on the types of some American Agromyzidae (Diptera). Con. Ent. 85: 462-470.
- Spencer, K. A. 1963. A synopsis of the Neotropical Agromyzidae. Trans. R. Entomol. Soc. Lond. 115 (12): 291-389.
- Spencer, K. A. 1965. The species-host relationship in the Agromyzidae (Diptera) as an aid to Taxonomy, p. 101- 106. In XIIth International Congress of Entomology. Int. Conp. London.
- Spencer, K. A. 1966. Notes on the Neotropical Agromyzidae (Diptera). Pap. Avulsos Zool. Secretaria da Agricultura. São Paulo. 19: 142-150.
- Spencer, K. A. 1969. The Agromyzidae of Canada and Alaska. Mem. Ent. Soc. Canada 64: 1-311.
- Spencer, K. A. 1973. The Agromyzidae (Diptera) of Venezuela. Rev. Fac. Agrom. VIII (2): 5-107.
- Spencer, K. A. 1990. Host specialization in the World Agromyzidae (Diptera). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Spencer, K. A., M. Martinez & J. Etienne. 1992. Les Agromyzidae (Diptera) de Guadeloupe. Ann. Soc. Entomol. Fr. 28: 251-302.
- Spencer, K. A. & C. E. Stegmaier. 1973. Arthropods of Florida (EUA) and Neighboring Land Areas, Vol. 7. Agromyzidae of Florida (EUA) with a Supplement on Species from the Caribbean. Florida (EUA)
- Spencer, K. A. & G. C. Steyskal. 1986. Manual of the Agromyzidae (Diptera) of the United States. U. S. Department of Agriculture, Dep. Agr., Agriculture Handbook . nº 638. Washington D.C., E.U.A.
- Straw, N. A. 1989. The timing of oviposition and larval growth by two tephritid fly species in relation to the host-plant development. Ecol. Entomol. 14: 443-462.

- Valladares, G., N. Diaz, & L. De Santis. 1982. Tres notas sobre Dipteros agromicidos de la Replubica Argentina y sus himenopteros parasitoides (Insecta). Rev. Soc. Ent. Argentina. Tomo 41 (1-4): 319-330.
- Zwölfer, H. 1982. Life systems and strategies of resource exploitation in tephritids. CEC/IOBC Symposium, Athens.
- Zwölfer, H. 1988. Species richness, species packing, and evolution in insect-plant systems, p. 301-319. *In* Schulze, E. D. & H. Zwölfer, (eds.). Potential and limitations of ecosystems analysis. Springer-Verlag. Berlin.

Tabela 1. Espécies de agromizídeos identificadas, suas plantas hospedeiras (espécie e tribo). Tribo- A - Astereae, E - Eupatorieae, H - Heliantheae, M - Mutisieae, S - Senecioneae e V – Vernonieae.

Tribo	Taxon planta	<i>Liriomyza</i> sp.	<i>Melanagromyza bidentis</i>	<i>Melanagromyza chaptaliae</i>	<i>Melanagromyza erectitidis</i>	<i>Melanagromyza floris</i>	<i>Melanagromyza minima</i>	<i>Melanagromyza minimoides</i>	<i>Melanagromyza neotropica</i>	<i>Melanagromyza wedeliae</i>	<i>Melanagromyza</i> sp1	<i>Melanagromyza</i> sp2	<i>Melanagromyza</i> sp3	<i>Melanagromyza</i> sp4	<i>Melanagromyza</i> sp5	<i>Ophiomyia</i> sp	Total Global
A	<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.														6		6
E	<i>Campuloclinium chlorolepis</i> (Baker) K&R								4			2					6
	<i>Chromolaena chaseae</i> (B. Robinson) K&R		6														6
	<i>C. odorata</i> (L.) K&R		36						1								37
	<i>C. pedunculosa</i> (Hook & Arn.) K&R		44						1								45
	<i>C. pungens</i> (Gardner) K&R		54														54
	<i>C. squalida</i> (DC.) K&R		12														12
	<i>C. verbenacea</i> (DC.) K&R		6														6
	<i>Mikania cordifolia</i> (L.F.) Willd	6										21					27
H	<i>Aspilia</i> indet.					2											2
	<i>Bidens gardneri</i> Baker					103	12	1	157		15						288
	<i>Viguiera arenaria</i> Baker						41										41
	<i>Viguiera robusta</i> Gardn.						5										5
	<i>Viguiera</i> sp.1						6										6
	<i>Wulffia stenoglossa</i> (Cass.) DC.							1									1
M	<i>Chaptalia integerrima</i> (Vell.) Burkart			1													1
	<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabrera											2					2
	<i>Gochnatia pulchra</i> (Spreng.) Cabrera											6					6
	<i>Trixis vauthieri</i> DC.									2							2
	<i>Trixis verbasciformis</i> Less.											14					14
S	<i>Erechtites hieracifolius</i> (L.) Raf.				27												27
	<i>Hoehnephtum trixoides</i> (Gardn.) Cabrera				10												10
V	<i>Chrysolaena herbacea</i> (Vell.) H. Rob.												3		1		4
	<i>Lepidaploa salzmännii</i> (DC.) H. Rob.											1					1
	<i>Lepidaploa psilostachya</i> (DC.) H. Rob.															1	1
	<i>Vernonanthura ferruginea</i> (Less.) H. Rob.		22										7				29
	<i>Vernonanthura membranacea</i> (Gardn.) H. Rob.		18										38				56
	<i>Vernonanthura phosphorica</i> (Vell.) H. Rob.		1										2				3
Total		6	199	1	37	105	64	2	164	2	15	45	51	6	1	1	698

K&R- abreviação de King & Robinson

Tabela 2. Novos registros de ocorrência de agromizídeos em diferentes plantas hospedeiras, em remanescentes de cerrado no estado de São Paulo. Obs.: No presente estudo *Melanagromyza minimoides* é considerada um complexo de espécies ainda não descritas. Ver texto para maiores explicações. Tribo E = Eupatorieae, V = Vernonieae, M = Mutisieae, S = Senecioneae, H = Heliantheae, A = Astereae.

<i>Agromyzidae</i>		<i>Plantas hospedeiras</i>	
<i>Espécie</i>	<i>Tribo</i>	<i>Espécie</i>	<i>Município de coleta</i>
<i>Liriomyza</i> sp.	E	<i>Mikania cordifolia</i>	Itirapina
<i>Melanagromyza bidentis</i>	E	<i>Chromolaena chaseae</i>	Ibaté, São Carlos
		<i>C. odorata</i>	Águas Sta. Bárbara, Itirapina, São Carlos
		<i>C. pedunculosa</i>	Águas Sta. Bárbara, Agudos, Ibaté, Itirapina, Mogi Guaçu, São Carlos
		<i>C. pungens</i>	Águas Sta. Bárbara, Ibaté, Itirapina, Pedregulho, Sta. R. P. Quatro, São Carlos
		<i>C. squalida</i>	Itirapina, Pedregulho, Sta. R. P. Quatro, São Carlos
		<i>C. verbenacea</i>	Bauru
	V	<i>Vernonanthura ferruginea</i>	Itirapina, São Carlos
<i>M. chaptaliae</i>	M	<i>V. membranacea</i>	Assis, Bauru, Itirapina, Pedregulho, Rifania, São Carlos
		<i>V. phosphorica</i>	Itirapina
		<i>C. interrigma</i>	São Carlos
<i>M. erechitidis</i>	S	<i>Hoehnephytum trixoides</i>	Itirapina
<i>M. floris</i>	H	<i>Aspilia</i> sp.	Pedregulho
		<i>Bidens gardneri</i>	Águas Sta. Bárbara, Agudos, Assis, Itirapina, Martinópolis, Pedregulho, São Carlos
<i>M. minima</i>	H	<i>Bidens gardneri</i>	Itirapina, Martinópolis, Pedregulho, São Carlos

<i>Agromyzidae</i>	<i>Plantas hospedeiras</i>		Município de coleta
<i>Espécie</i>	<i>Tribo</i>	Espécie	
		<i>Viguiera arenaria</i>	Itirapina, São Carlos
		<i>V. robusta</i>	Ibaté, São Carlos
<i>M. minimoides</i>	H	<i>Bidens gardneri</i>	Itirapina
		<i>Wulffia stenoglossa</i>	Itirapina
<i>Melanagromyza</i> sp1	H	<i>Bidens gardneri</i>	Assis, Itirapina, São Carlos
<i>Melanagromyza</i> sp2	M	<i>Gochnatia polymorpha</i>	Itirapina
		<i>G. pulchra</i>	Ibaté, São Carlos
		<i>Trixis verbasciformis</i>	Itirapina, São Carlos
	E	<i>Campuloclinium chlorolepis</i>	Pedregulho
		<i>Mikania cordifolia</i>	Ibaté, Itirapina, São Carlos
<i>Melanagromyza</i> sp3	V	<i>Chrysolaena herbacea</i>	Itirapina
		<i>Lepidaploa salzmännii</i>	Assis
		<i>Vernonanthura ferruginea</i>	Itirapina, São Carlos
		<i>V. membranacea</i>	Agudos, Itirapina, Mogi Guaçu, São Carlos
		<i>V. phosphorica</i>	Itirapina
<i>Melanagromyza</i> sp4	A	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Mogi Guaçu, São Carlos
<i>Melanagromyza</i> sp5	V	<i>Chrysolaena herbacea</i>	Itirapina
<i>M. neotropica</i>	E	<i>Campuloclinium chlorolepis</i>	São Carlos
		<i>Chromolaena odorata</i>	Mogi Guaçu
		<i>C. pedunculosa</i>	Itirapina
<i>M. wedeliae</i>	H	<i>Trixis vauthieri</i>	Martinópolis
<i>Ophiomyia</i> sp	H	<i>Lepidaploa psilostachya</i>	Itirapina

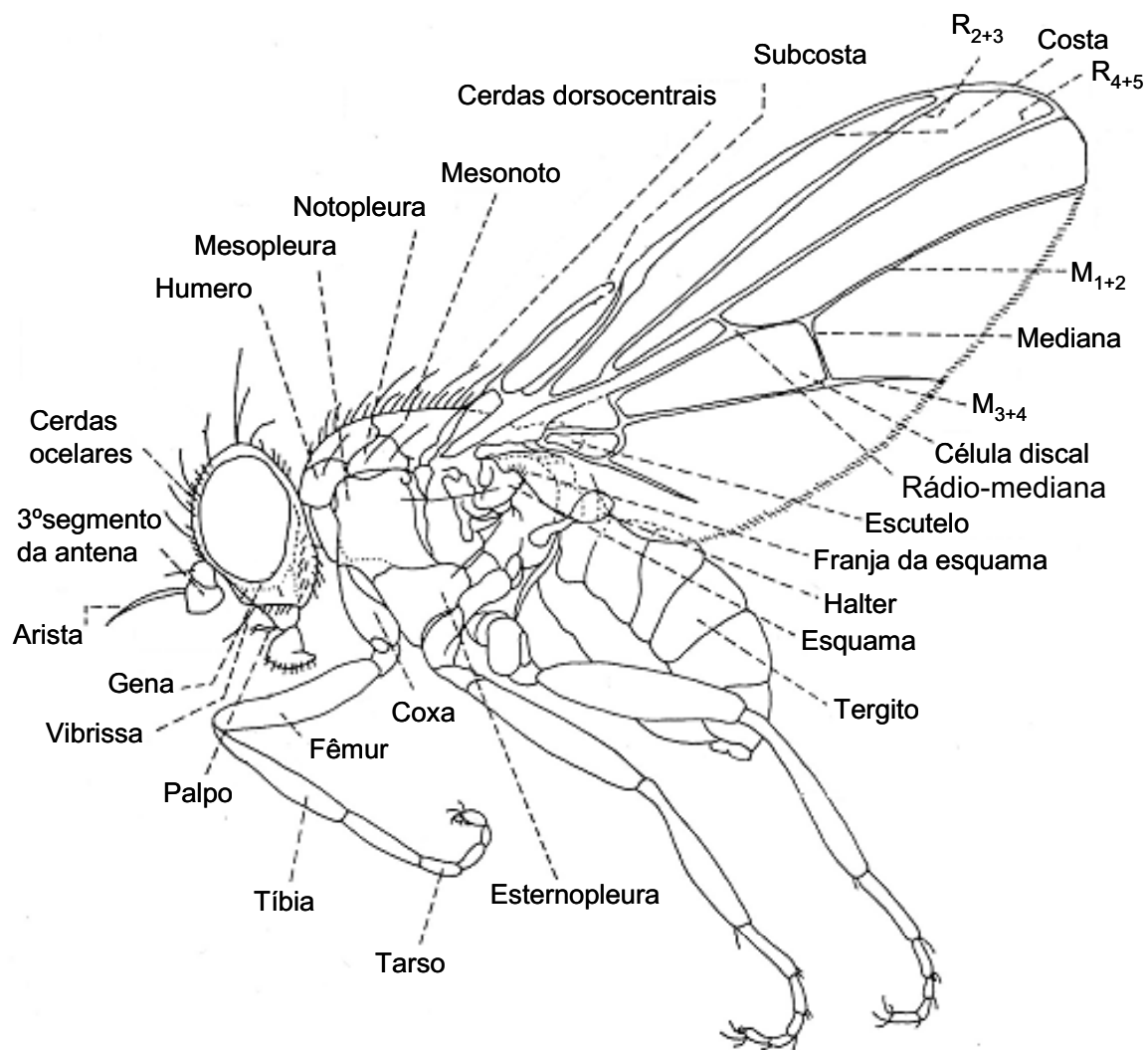


Figura 1. Vista lateral de um macho de *Melanagromyza* (adaptado de Spencer & Steyskal 1986).

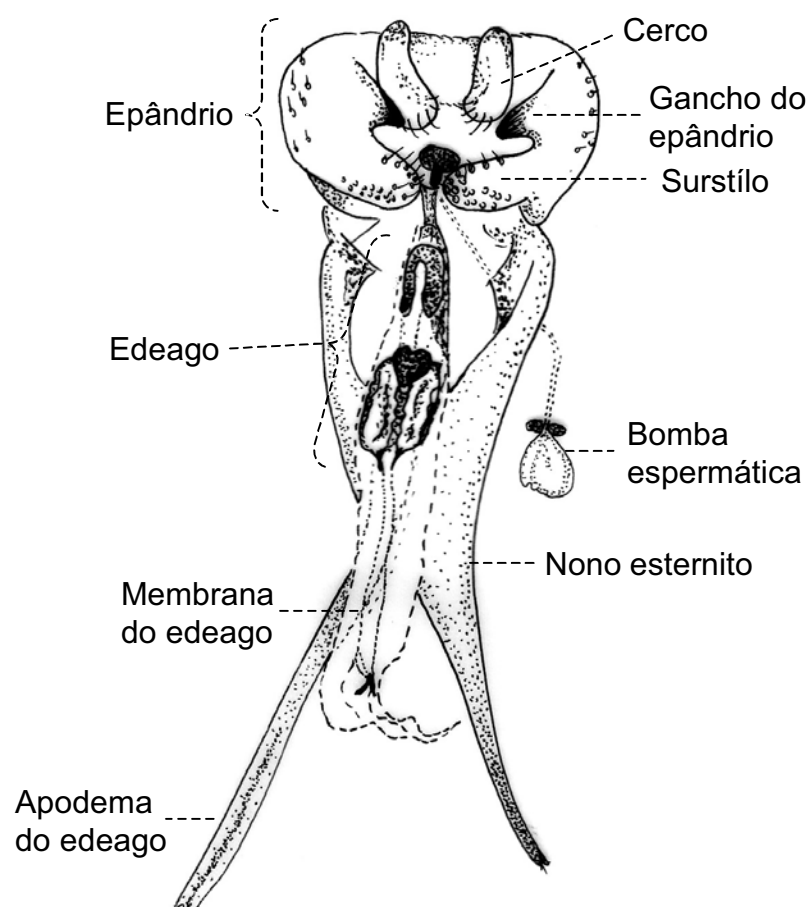


Figura 2. Vista frontal da genitália, e suas estruturas, de um macho de *Melanagromyza bidentis* Spencer.

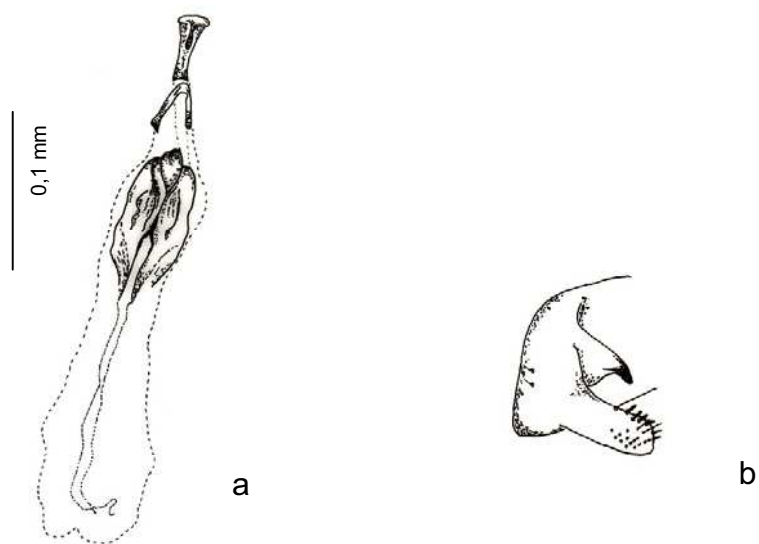


Figura 3 – *Melanagromyza minimoides*: a, edeago, vista frontal; b, epândrio, vista frontal.

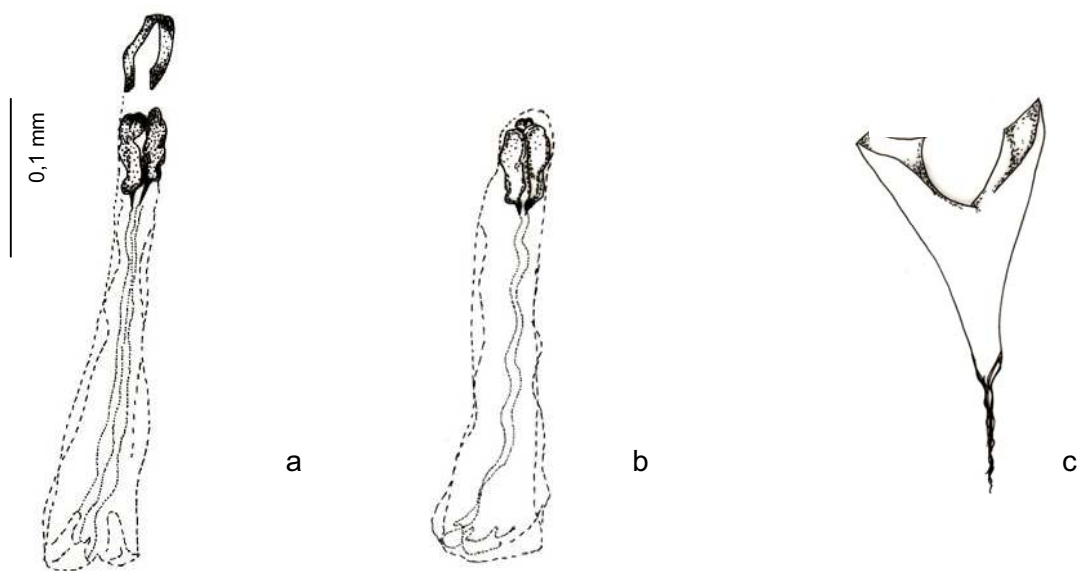


Figura 4 - *Melanagromyza* sp1: a, edeago, vista lateral; b, edeago, vista frontal; c, nono esternito

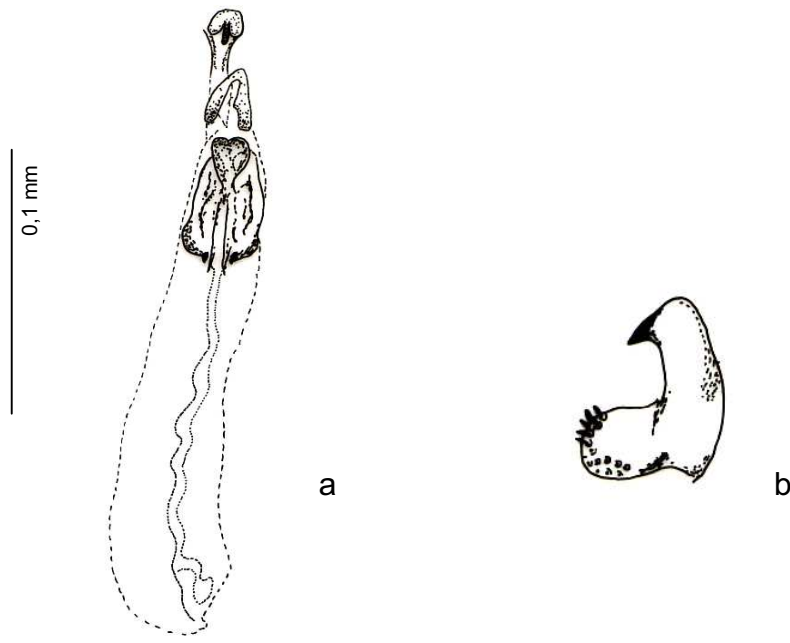


Figura 5 - *Melanagromyza* sp2: a, edeago, vista frontal: b, epândrio, vista frontal.

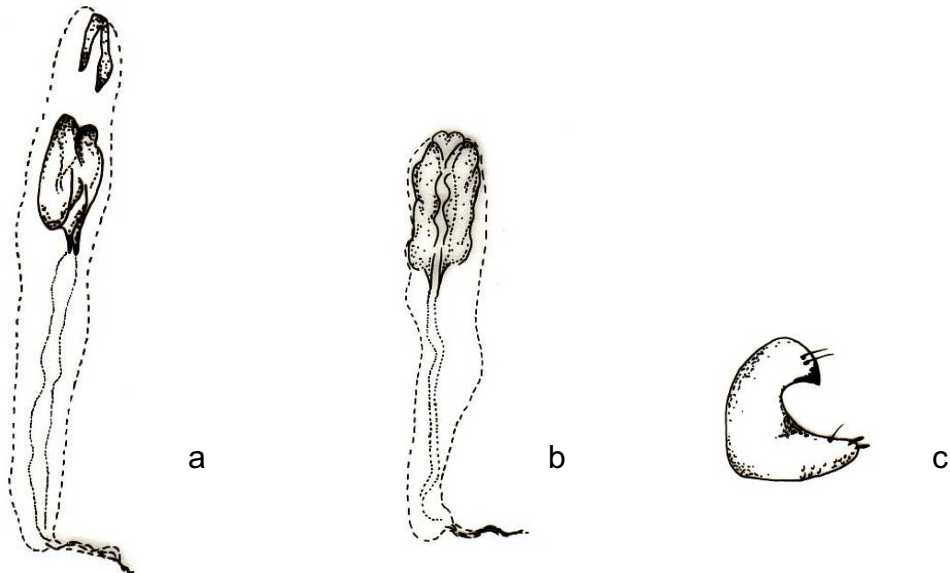


Figura 6 - *Melanagromyza* sp3: a, edeago, vista lateral; b, edeago, vista frontal, c epândrio, vista frontal.

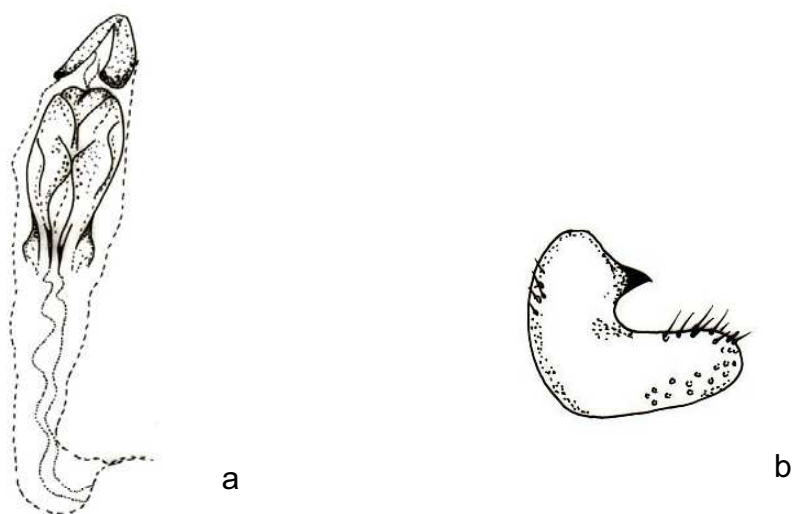


Figura 7 - *Melanagromyza* sp4: a, edeago, vista frontal; b, epândrio, vista frontal.



Figura 8 - *Melanagromyza* sp5: a, edeago, vista frontal; b, edeago, vista lateral.

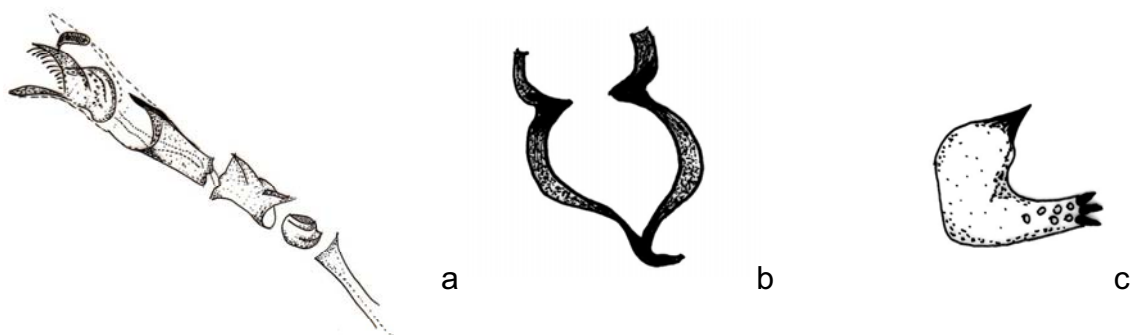


Figura 9 – *Ophiomyia* sp.: a, edeago, vista lateral; b, nono esternito, vista frontal, c, epândrio, vista frontal.

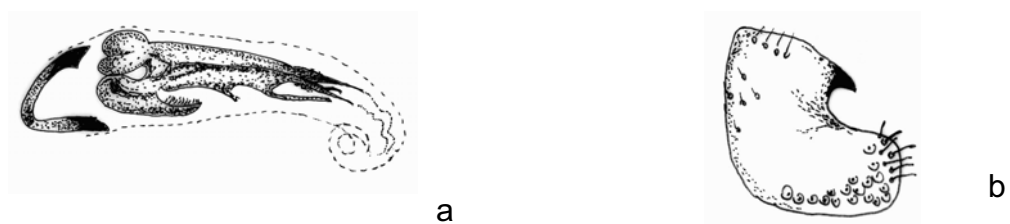


Figura 10 - *Melanagromyza neotropica* a, edeago, vista lateral; b, epândrio, vista frontal.

Capítulo 2. A ESPECIALIZAÇÃO ALIMENTAR EM AGROMIZÍDEOS ENDÓFAGOS DE CAPÍTULOS DE ASTERÁCEAS

INTRODUÇÃO

A maioria das espécies de insetos herbívoros tende a ser especializada no uso de suas plantas hospedeiras, alimentando-se de uma ou poucas espécies (Strong et al. 1984; Jaenike 1990; Bernays & Chapman 1994; Funk et al. 2002). A especialização alimentar pode estar relacionada ao tipo de comportamento alimentar do inseto herbívoro. Os herbívoros que se alimentam no interior de estruturas da planta hospedeira (endófagos), como minadores de folhas, galhadores de folhas ou caule e brocadores de caules ou raízes, apresentam uma relação mais íntima com esta quando comparados aos que não apresentam este hábito (exófagos). Na endofagia o herbívoro passa uma fase do seu desenvolvimento, geralmente como larva, dentro de estruturas da planta hospedeira, e por esse motivo está mais exposto às defesas químicas e físicas da planta. Por essa razão, experimentos mostram que os insetos endófagos podem apresentar maior especificidade alimentar que os insetos exófagos (Mattson et al. 1988, Cornell 1989, Gaston et al. 1992).

Segundo Spencer (1965), a maioria das espécies minadoras de folhas da família Agromyzidae é monófaga, ou seja, alimenta-se de uma ou mais espécies de plantas relacionadas em um mesmo gênero, ou oligófagas que alimentam-se de plantas de gêneros diferentes pertencentes a uma mesma família. Em um levantamento realizado na Flórida, Spencer e Stegmaier (1973) observaram que das 66 espécies de agromizídeos minadores e endófagos de capítulos em que se conhecia a planta hospedeira do inseto, 34 eram monófagas, 28 oligófagas e apenas quatro espécies eram polífagas. As espécies desta família que se desenvolvem e se alimentam em capítulos florais, como é o caso das endófagas de capítulos de asteráceas, são na sua maioria monófagas restritas, ou seja, associam-se apenas a uma única espécie de planta hospedeira (Spencer 1965,

1990). Spencer (1965) chega a considerar até que indivíduos encontrados em capítulos de hospedeiras novas devem ser considerados como uma espécie nova de inseto, devido à alta especificidade alimentar do grupo.

Apesar da maioria das espécies de insetos endófagos estar associada apenas a uma única espécie de planta, como é o caso dos agromizídeos, outras estão associadas a várias espécies relacionadas em gêneros ou até famílias de plantas hospedeiras diferentes. O número de estudos sobre essas espécies de insetos, considerados oligófagos ou polífagos, tem aumentado nas últimas décadas. O resultado desses trabalhos tem mostrado que muitas das espécies generalistas são, na verdade, um conjunto de populações especialistas locais que utilizam diferentes espécies de plantas hospedeiras em diferentes localidades (Fox & Morrow 1981; Thompson & Pellmyr 1991; Singer et al. 1992; Thompson 1993; Sword & Dopman 1999; Lewinsohn et al. 2005).

A utilização diferencial de plantas hospedeiras, entre as localidades, por uma espécie de inseto pode ser resultado da diferenciação genética no uso do recurso alimentar das populações, ou ainda ser devida a diferenças ecológicas entre as localidades, como por exemplo, a diferença da presença e/ou a abundância diferencial das plantas hospedeiras entre localidades (Jaenike 1989, Thompson 1993, Mayhew 1997, Prado & Lewinsohn 2000). Poucos experimentos testaram a variação genética no comportamento de oviposição entre as populações de um inseto herbívoro. Os estudos existentes mostram evidências das influências genéticas, biogeográficas e ecológicas nos padrões locais de escolha de hospedeiras (Jaenike 1989, Thompson 1993, Almeida et al. 2004).

A estrutura geográfica da especialização alimentar de uma espécie de inseto herbívoro é influenciada não apenas pela variação espacial na abundância da planta hospedeira (Courtney & Forsberg 1988) mas também pela variação espacial na qualidade da planta hospedeira e na adaptação local da população do inseto (Jaenike 1990, Mayhew 1997, Awmack & Leather 2002). Muitas vezes, a planta hospedeira mais utilizada localmente por uma espécie oligófaga de inseto não é necessariamente a sua hospedeira principal, isso pode ser causado pela ausência ou escassez da planta hospedeira principal no local (Singer 1983, Singer et al. 1989). O inverso também pode ocorrer, ou seja, mesmo a planta hospedeira sendo a mais abundante na localidade ela pode não ser necessariamente a planta

mais usada, devido à presença da planta hospedeira principal na localidade.

Como a seleção da planta hospedeira é espacialmente variável entre os insetos herbívoros oligófagos, e a abundância da planta hospedeira não prediz necessariamente o comportamento de oviposição das fêmeas, acredita-se que a dieta de uma população de insetos no campo não é uma propriedade apenas dos insetos, mas também um fenômeno emergente que resulta da interação entre o inseto e as suas plantas hospedeiras (Singer et al. 1989, Strauss & Karban 1998, Prado & Lewinsohn 2000).

Devido à dificuldade de identificação dos agromizídeos endófagos de capítulos, a especialização alimentar desses insetos ainda não foi suficientemente bem estudada, além disso, a estrutura geográfica dessas associações ainda é desconhecida. No presente capítulo pretende-se discutir o padrão de especialização alimentar desses endófagos com o objetivo de responder as seguintes questões: (i) Qual o grau de especialização entre os agromizídeos endófagos de capítulos de asteráceas?; (ii) Existe especialização local em espécies oligófagas e polífagas de *Melanagromyza*? e (iii) A ocorrência e a abundância dessas espécies de agromizídeos oligófagos e polífagos estão correlacionadas com a ocorrência e a abundância das suas plantas hospedeiras?

MATERIAL E MÉTODOS

Para identificar o grau de especialização alimentar das espécies de agromizídeos, foram utilizados os dados de interação entre agromizídeos e suas plantas hospedeiras dos projetos “Diversidade de espécies e de interações em plantas e insetos fitófagos” (Projeto temático 98/05085-2, BIOTA/Fapesp) e “Efeito da degradação de habitat sobre a estrutura de interações entre plantas e insetos fitófagos” (Projeto de Doutorado de Mário Almeida Neto - BIOTA/Fapesp). A identificação das espécies de agromizídeos destes dois projetos foi realizada no Capítulo 1 desta dissertação (Tabela 1, Capítulo 1).

Para responder às outras questões propostas neste capítulo foram utilizados apenas os dados coletados pelo projeto “Efeito da degradação de habitat sobre a estrutura de interações entre plantas e insetos fitófagos” (Tabela 1). Neste projeto foram amostrados 20 fragmentos de cerrado no estado de São Paulo nos municípios de Ibaté, Itirapina e São Carlos (Tabela 2). Em cada fragmento, 2250 m² de área foram amostrados. Esta área total corresponde à soma de 15 transeções de 30m x 5m. As localizações das transeções foram sorteadas ao longo do perímetro e para o interior dos fragmentos. Para se estimar a riqueza e abundância das asteráceas na área amostrada, foram registradas a presença e abundância de cada espécie (em floração ou frutificação) nas transeções. As espécies que não ocorreram nas transeções também foram registradas. Pelo menos um testemunho de cada espécie foi coletado para confirmação da identificação. As coletas foram realizadas em três épocas do ano, nas 20 localidades, durante os picos de floração das diferentes tribos de asteráceas. As coletas foram realizadas nos meses de abril/maio e agosto/setembro de 2003 e janeiro e fevereiro de 2004.

Neste trabalho, a classificação da especialização alimentar adotada considera espécies de insetos **monófagas restritas** aquelas que emergiram, ou seja, se alimentam de apenas uma única espécie de planta hospedeira, **monófagas** as que emergiram de espécies de hospedeiras relacionadas em apenas um único gênero, **oligófagas** as que emergiram de plantas hospedeiras relacionadas em gêneros diferentes em uma mesma tribo e **polífagas** as que emergiram de plantas hospedeiras de diferentes tribos da família Asteraceae.

Para investigar a existência de especialização local nas espécies oligófagas ou polífagas, foram utilizados os dados de abundância relativa das espécies de agromizídeos que apresentaram interação com mais de duas espécies de plantas hospedeiras, e com o número de indivíduos total maior que 40 (*Melanagromyza bidentis* Spencer, *M. minima* Malloch e *Melanagromyza* sp2). Com esses dados foram construídos gráficos com a distribuição das abundâncias relativas das plantas hospedeiras por localidade e as abundâncias relativas dos insetos, levando-se em consideração o tamanho da amostra de capítulos para cada espécie de planta hospedeira por localidade e por época de coleta. Para isso, a

abundância absoluta do inseto foi dividida pelo valor do peso seco das amostras de capítulos de cada espécie de planta hospedeira em cada localidade de onde o inseto emergiu. Foram utilizados dados apenas das localidades e das épocas de coleta nas quais emergiram no mínimo quatro indivíduos de cada uma dessas três espécies de *Melanagromyza*. Foi realizado o teste de Qui-quadrado de aderência para confirmar a variação na especialização alimentar dos insetos nas localidades. A H_0 é de que os insetos são mais abundantes em plantas mais abundantes em cada localidade. Para isso consideramos que não houve erro na medida de abundância das plantas.

Para verificar a relação entre a distribuição das interações, foram construídos gráficos com a frequência da presença das plantas hospedeiras e dos insetos endófagos oligófagos ou polífagos (*M. bidentis*, *M. minima* e *Melanagromyza* sp2) nas 20 localidades amostradas.

RESULTADOS

Das quinze espécies identificadas de agromizídeos, sete emergiram de apenas uma única espécie de planta hospedeira (*Liriomyza* sp, *Melanagromyza chaptaliae* Spencer, *M. wedeliae* Spencer, *Melanagromyza* sp1, *Melanagromyza* sp4, *Melanagromyza* sp5 e *Ophiomyia* sp). Cinco emergiram de espécies de plantas relacionadas em uma única tribo de asterácea (*M. erechitidis* Spencer, *M. floris* Spencer, *M. minima* Malloch, *M. minimoides* Spencer e *Melanagromyza* sp3) e três emergiram de plantas hospedeiras de mais de uma tribo (*M. bidentis*, *M. neotropica* Spencer e *Melanagromyza* sp2) (Tabela 1, Fig. 1).

A frequência da presença das plantas hospedeiras e das três espécies oligófagas e polífagas de *Melanagromyza* (*Melanagromyza* sp2, *M. bidentis* e *M. minima*) não estavam diretamente relacionadas, pois as plantas estavam presentes em muitas localidades em que os insetos não foram observados (Fig. 2).

M. bidentis emergiu de oito espécies de plantas hospedeiras, pertencentes

a apenas dois gêneros de duas tribos de asteráceas. Localmente, *M. bidentis* apresentou diferença na distribuição da abundância relativa dos indivíduos nas espécies de plantas hospedeiras (Fig. 3). Dentre as oito localidades observadas, apenas em Loc04 e em Loc11 os insetos apresentaram maior distribuição entre as hospedeiras potenciais da localidade, emergindo de todas as espécies de hospedeiras presentes nas localidades nas coletas realizadas em abril e maio de 2003; apesar de apresentarem uma distribuição nas plantas hospedeiras diferentes das esperadas apenas em Loc11. Nas outras localidades os indivíduos não emergiram de todas as plantas hospedeiras potenciais presentes.

Em Loc05, Loc06 e Loc09 os indivíduos emergiram tanto de espécies hospedeiras do gênero *Vernonanthura* quanto *Chromolaena*. Mas em Loc01, Loc08 e Loc13 os indivíduos emergiram apenas de plantas do gênero *Chromolaena*, mesmo com a presença de plantas do gênero *Vernonanthura*. As abundâncias relativas dos insetos, corrigidas pelo esforço amostral de coleta das plantas hospedeiras, não foram correlacionadas com as abundâncias das plantas hospedeiras nas localidades, sendo que muitas vezes a planta mais utilizada localmente apresentava menor abundância (Loc09, Loc11 e Loc 13). Nas localidades Loc05 ($\chi^2=0,103$; g.l.=3; $p=0,75$), Loc06 ($\chi^2=0,774$; g.l.=7; $p=0,86$) e Loc08 ($\chi^2=2,98$; g.l.=10; $p=0,843$) os valores de qui-quadrado e 'p' não foram significativos, ou seja, os insetos não estavam utilizando o recurso de acordo com a abundância da planta hospedeira.

Melanagromyza minima, que emergiu de três espécies de plantas hospedeiras (*Bidens gardneri*, *Viguiera arenaria* e *V. robusta*), distribuídas em dois gêneros de uma mesma tribo (Heliantheae), apresentou sua distribuição diretamente relacionada à ocorrência de *V. arenaria* em todas as localidades em que esta planta estava presente (Fig. 4). Localmente esta espécie emergiu, na maioria das localidades, apenas de *V. arenaria*, mesmo com a presença das outras hospedeiras. Apenas em Loc05 emergiram indivíduos das duas plantas hospedeiras presentes na localidade (Tabela 3 e Fig. 4). Em Loc05, *M. minima* apresentou abundância relativa semelhante à abundância relativa das plantas hospedeiras ($\chi^2=0,669$; g.l.=17; $p=0,41$). Nas localidades onde *V. arenaria* estava ausente e *V. robusta* presente, mesmo com a presença de *B. gardneri*, os

indivíduos emergiram apenas de *V. robusta* (Tabela 3). Nas demais localidades, mesmo com a presença de *B. gardneri*, os indivíduos emergiram apenas de *V. arenaria* (Tabela 3 e Fig. 4).

Melanagromyza sp2 foi registrada em todas as suas plantas hospedeiras presentes na Loc14. Mesmo assim, a frequência desta espécie foi significativamente distinta das abundâncias das plantas hospedeiras ($\chi^2=8,14$; g.l.=15; $p=0,016$), porque *Trixis verbasciformis*, mesmo não sendo a planta mais abundante, apresentou uma maior proporção de uso. Em Loc08 esta espécie emergiu de todas suas hospedeiras presentes, com exceção de *Campuloclinium chlorolepis*. Em Loc18 os indivíduos emergiram apenas de *Mikania cordifolia*, mesmo não sendo esta a planta hospedeira localmente mais abundante (Fig. 5).

DISCUSSÃO

Tal como os agromizídeos minadores de folhas e as espécies endófagas de capítulos já descritas, as espécies de agromizídeos endófagas de capítulos identificadas neste trabalho também apresentaram alta especialização alimentar, alimentando-se de apenas poucas espécies de plantas hospedeiras (Spencer & Stegmaier 1973, Spencer & Steykal 1986, Scheffer & Wiegmann 2000). O que podemos observar é que 47% do total das espécies identificadas são monófagas restritas, associadas a apenas uma única espécie de asterácea. Dentre as espécies de agromizídeos que se alimentam de mais de uma espécie de planta hospedeira de uma mesma tribo, nenhuma se restringe a um único gênero, o que foi observado é que sempre a espécie está relacionada a mais de um gênero dentro da tribo (Fig. 1).

Como em outros grupos de agromizídeos minadores, a monofagia também foi o padrão alimentar mais comum. A polifagia geralmente está envolvida em processos de especiação do inseto nas diferentes espécies de plantas hospedeiras (Spencer 1990). Este é o caso de algumas das espécies minadoras de *Phytomyza*, onde a polifagia pode ter duas origens independentes: ela pode estar associada a uma especiação incipiente ou a condições estáveis de uma real expansão da dieta do inseto. É interessante ressaltar que, neste gênero de

agromizídeo minador, a especiação ocorreu com uma nova planta hospedeira pouco relacionada filogeneticamente com a hospedeira principal do inseto (Scheffer & Wiegmann 2000). Este pode ser o caso de *M. bidentis*, que está associada a plantas hospedeiras relacionadas em dois gêneros, cada um pertencente a uma tribo.

Dentre as espécies de agromizídeos que emergiram de mais de duas espécies de plantas hospedeiras, *M. neotropica*, ainda não deve ser considerada como uma espécie generalista, apesar de ter emergido de plantas hospedeiras de mais de uma tribo. Isso porque 157 dos 164 indivíduos emergiram de uma única espécie de planta hospedeira (*Bidens gardneri*) (Tabela 1, Capítulo 1). Os registros de emergência nas outras três espécies de plantas hospedeiras podem ser devido à um processo de substituição de planta hospedeira, a um erro na oviposição da fêmea (Singer 1983, Larsson & Ekbohm 1995) ou ainda a algum erro de triagem do material.

As abundâncias locais das três espécies do gênero *Melanagromyza* analisadas nem sempre estavam diretamente relacionadas com as abundâncias locais das suas plantas hospedeiras (Figs. 3-5). A proporção maior desses insetos endófagos em plantas localmente menos abundantes pode ser indício de que algum fator pode estar influenciando a seleção da planta hospedeira, mostrando que esses herbívoros não tendem a ovipor nas plantas mais abundantes localmente como ocorre em outras espécies de insetos herbívoros. Esse comportamento pode ser devido à variação espacial da adaptação local das populações de cada espécie ou também devido à variação espacial do desempenho na planta hospedeira (sobrevivência e crescimento) durante os estágios de desenvolvimento do inseto (Jaenike 1990, Kuussaari et al. 2000).

Este estudo também mostrou que existe diferenciação geográfica no uso de hospedeiras entre os agromizídeos endófagos de capítulos, e que a maioria das espécies oligófagas ou polífagas regionais não apresentaram este comportamento localmente. Como em outros grupos de herbívoros, o grau de especialização alimentar das espécies de *Melanagromyza* oligófagas ou polífagas varia de acordo com a escala espacial em que as espécies são estudadas. Além disso, as populações de cada espécie apresentam diferentes restrições alimentares e comportamentos na seleção de hospedeira para oviposição pelas fêmeas (Jones

1977, Singer 1982, Courtney & Forsberg 1988, Janz & Nylin 1997, Lewinsohn et al. 2005). Podemos observar que as três espécies de *Melanagromyza* polífagas ou oligófagas regionais (*M. bidentis*, *M. minima* e *Melanagromyza* sp2) podem ser consideradas em algumas localidades como monófagas e até monófagas restritas, isso porque apresentaram interação com um menor número de plantas hospedeiras localmente que regionalmente, mesmo com a presença de espécies hospedeiras alternativas na localidade (Figs.3-5).

Dentre as espécies polífagas ou oligófagas que estão associadas a mais de uma família de planta hospedeira na região, *M. bidentis* apresentou um comportamento interessante, pois estava associada a apenas dois gêneros de plantas hospedeiras, pertencentes a tribos diferentes (Tabela 1). Spencer (1965) comenta que em casos como este a espécie pode ser considerada como um possível conjunto de espécies crípticas. Apesar disso, através da morfologia do edeago e das estruturas associadas, que são inicialmente a única forma de separação das espécies, não é possível separar os dois possíveis conjuntos de espécies.

Outra espécie que apresentou um comportamento interessante foi *M. minima*, que estava associada a três espécies de uma mesma tribo (Heliantheae) e tanto regionalmente quanto localmente sua abundância relativa foi sempre maior em *Viguiera*, independentemente de sua abundância local (Fig. 4). Podemos observar que esta espécie utilizou-se de *V. arenaria* e *V. robusta*, de acordo com a presença da hospedeira nas localidades (Tabela 3). Além disso, *M. minima* emergiu de *V. arenaria* em todas as localidades onde esta planta foi coletada (Tabela 3, Fig. 2). Esta espécie estava associada a *B. gardneri* apenas em localidades onde *V. arenaria* e *V. robusta* não estavam presentes, com exceção da Loc05 (Fig. 4). Sendo assim *B. gardneri* pode, possivelmente, ser uma hospedeira alternativa de *M. minima*. Alguns trabalhos mostram que, ao ovipor nas plantas hospedeiras, fêmeas tendem a ser menos discriminantes quando a planta hospedeira principal é rara localmente, ou seja, fêmeas de uma população que tendem a concentrar a oviposição em apenas uma única planta hospedeira irão utilizar uma outra espécie apenas quando a hospedeira principal é rara ou ausente localmente (Jones 1977, Singer 1982, Singer 1983, Rausher 1983, Courtney & Forsberg, 1988).

A espécie *Melanagromyza* sp2 aparentemente não apresentou nenhum padrão na utilização das plantas hospedeiras, como visto em *M. bidentis* e *M. minima*, apesar de também apresentar especialização local no uso das espécies de plantas hospedeiras.

Nesse capítulo podemos concluir que a maioria das espécies de agromizídeos associadas a capítulo de asteráceas é especialista. Dentre as espécies oligófagas e polífagas observamos alguns casos de especialização local, seja devido à presença da planta hospedeira principal na localidade, ou devido a outro fator que esteja influenciando a oviposição das fêmeas. Além disso, mesmo em casos onde localmente observou-se polifagia local, o uso das plantas hospedeiras foi diferencial, e não acompanhou proporcionalmente a abundância da hospedeira, ou seja, plantas mais abundantes localmente não foram necessariamente as mais utilizadas por essas espécies de endófagos de capítulos.

REFERÊNCIAS

- Almeida, A. M., P. I. Prado & T. M. Lewinsohn. 2004. Geographical distribution of Eupatorieae (Asteraceae) in south – eastern and south brazilian mountain range. *Pant Ecol.* 174 (1): 163-181.
- Awmack, C. S. & S. R. Leather. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annu. Rev. Entomol.* 47: 817-844.
- Bernays, E. A. & R. F. Chapman. 1994. Host-plant selection by phytophagous insects. Chapman and Hall, London.
- Cornell, H. V. 1989. Endophagy-ectophagy ratios and plant defence. *Evol. Ecol.* 3: 64-67.
- Courtney, S. P. & Forsberg, J. 1988. Host use by pierid butterflies varies with host density. *Funct. Ecol.* 2: 67-75.
- Fox, L. R. & P. A. Morrow. 1981. Specialization: species property or local phenomenon? *Science.* 211: 887-893.
- Funk, D. J., K. E. Filchak & J. L. Feder. 2002. Herbivorous insects: model systems for the comparative study of specialization ecology. *Genetica.* 116: 251-267.
- Gaston, K. J., D. Reavey & G. R. Valladares. 1992. Intimacy and fidelity: internal and external feeding by the British microlepidoptera. *Ecol. Entomol.* 17: 86-88.
- Jaenike, J. 1989. Genetic population structure of *Drosophila tripunctata*: Patterns of variation and covariation of traits affecting resource use. *Evolution.* 43: 1467-1482.
- Jaenike, J. 1990. Host specialization in phytophagous insects. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 21: 243-273.
- Janz, N. & S. Nylin. 1997. The role of female search behaviour in determining host plant range in plant feeding insects: a test of the information processing hypothesis. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 264: 701-707.
- Jones, R. R. 1977. Movement patterns and egg distribution in cabbage butterflies. *J. Anim. Ecol.* 46: 195-212.
- Kuussaari, M., M. Singer & I. Hanski. 2000. Local specialization and landscape-level influence on host use in an herbivorous insect. *Ecology.* 81: 2177-2185.

- Larsson, S. & B. Ekbom. 1995. Oviposition mistakes in herbivorous insects – Confusion or a step toward a new host giant. *Oikos*. 72(1): 155-160.
- Lewinsohn, T. M., V. Novotny & Y. Basset. 2005. Insects on plants: Diversity of herbivore assemblages revisited. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36: 597-620.
- Mattson, W. J., R. K. Lawrence, R. A. Haack, D. A. Herms & P. J. Charles. 1988. Defensive strategies of woody plants against different insect-feeding guilds in relation to plant ecological strategies and intimacy of association with insects. p. 3-38. *In* Mattson, W. J. & C. Bernard-Daga. Mechanisms of woody plant defenses against insects. Search for pattern. Springer, New York, EUA.
- Mayhew, P. J. 1997. Adaptive patterns of host-plant selections by phytophagous insects. *Oikos*. 79: 417-428.
- Prado, P. I. K. L. & T. M. Lewinsohn. 2000. Associações inseto-planta no nível local e regional: Tephritidae e Vernonieae na Serra do Espinhaço. p.405-422. *In* Martins, R. P., T. M. Lewinsohn & M.S. Barbeiros (eds.). Ecologia e comportamento de insetos. Série Oecologia Brasiliensis, vol. VIII. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil.
- Rausher, M. D. 1983. Ecology of host-selection behaviour in phytophagous insects. p 223- 257. *In* R. F. Denno & M. S. McClure. Variable plants and herbivores in natural and managed systems. Academic Press, New York, EUA.
- Scheffer, S. J. & B. M. Wiegmann. 2000. Molecular Phylogenetics of the Holly Leaf miners (Diptera: Agromyzidae: *Phytomyza*): Species Limits, Speciation, and Dietary Specialization. *Mol. Phylogenet. Evol.* 17(2): 244-255.
- Singer, M. C. 1982. Quantification of host preference by manipulation of oviposition behaviour in the butterfly *Euphydryas editha*. *Oecologia*. 52: 224-229.
- Singer, M. C. 1983. Determinants of multiple host use by a phytophagous insect population. *Evolution*. 37: 389-403.
- Singer, M. C., D. Ng, D. Vasco & C. D. Thomas. 1992. Rapidly evolving associations among oviposition preferences fail to constrain evolution of insect diet. *Am. Nat.* 139: 9-20.
- Singer, M. C., C. D. Thomas, H. L. Billington & C. Parmesan. 1989. Variation among conspecific insect populations in the mechanistic basis of diet width.

- Anim. Behav. 37: 751-759.
- Spencer, K. A. 1965. The species-host relationship in the Agromyzidae (Diptera) as an aid to Taxonomy, p. 101-106. *In* XIIth International Congress of Entomology. Int. Conp. London, 1964.
- Spencer, K. A. 1990. Host specialization in the World Agromyzidae (Diptera). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Spencer, K. A. & C. E. Stegmaier. 1973. Arthropods of Florida (EUA) and Neighboring Land Areas, Vol. 7. Agromyzidae of Florida (EUA) with a Supplement on Species from the Caribbean, Florida (EUA)
- Spencer, K. A. & G. C. Steykal. 1986. Manual of the Agromyzidae (Diptera) of the United States. U. S. Dep. Agri. Res. Serv. Handb.
- Strauss, S. Y. & R. Karban. 1998. The strength of selection: intraspecific variation in host-plant quality and the fitness of herbivore, p 156-180. *In* Mopper, S. & S. Y. Strauss (eds.). Genetic structure and local adaptation in natural insect populations: effects of ecology, life history and behavior. Chapman and Hall, New York, EUA.
- Strong, D. R., J. H. Lawton & R. Southwood. 1984. Insects on plants. Harvard University Press, Cambridge.
- Sword, G. A. & E. B. Dopman. 1999. Developmental specialization and geographic structure of host plant use in a polyphagous grasshopper, *Schistocerca emarginata* (=lineata) Orthoptera: Acrididae). Oecologia.120: 437-445.
- Thompson, J. N. 1993. Preference hierarchies and the origin of geographic specialization in host use in swallowtail butterflies. Evolution. 47 (5): 1585-1594
- Thompson, J. N. & O. Pellmyr. 1991. Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. Ann. Rev. Entomol. 36: 65-89.

Tabela 1. Espécies de agromizídeos do projeto “Efeito da degradação de habitat sobre padrões comunitários e propriedades de redes tróficas entre plantas e insetos fitófagos” identificadas , suas plantas hospedeiras (espécie e tribo). Tribo- A - Astereae, E - Eupatorieae, H - Heliantheae, M - Mutisieae, S - Senecioneae e V – Vernonieae.

Tribo	taxon planta	<i>Liriomyza</i> sp.	<i>Melanagromyza bidentis</i>	<i>Melanagromyza chaptaliae</i>	<i>Melanagromyza erechitidis</i>	<i>Melanagromyza floris</i>	<i>Melanagromyza minima</i>	<i>Melanagromyza minimoides</i>	<i>Melanagromyza neotropica</i>	<i>Melanagromyza</i> sp1	<i>Melanagromyza</i> sp2	<i>Melanagromyza</i> sp3	<i>Melanagromyza</i> sp4	<i>Melanagromyza</i> sp5	<i>Ophiomyza</i> sp	Total
A	<i>Baccharis dracunculifolia</i>												5			5
E	<i>Campuloclinium chlorolepis</i>								4							4
	<i>Chromolaena chaseae</i>	6														6
	<i>Chromolaena odorata</i>	13														13
	<i>Chromolaena pedunculosa</i>	16							1							17
	<i>Chromolaena pungens</i>	37														37
	<i>Chromolaena squalida</i>	8														8
	<i>Lepidaploa psilostachya</i>														1	1
	<i>Mikania cordifolia</i>	3								21						24
H	<i>Bidens gardneri</i>				22	7	1	151	10							191
	<i>Viguiera arenaria</i>					41										41
	<i>Viguiera robusta</i>					5										5
	<i>Wulffia stenoglossa</i>						1									1
M	<i>Chaptalia integerrima</i>		1													1
	<i>Gochnatia polymorpha</i>										2					2
	<i>Gochnatia pulchra</i>										6					6
	<i>Trixis verbasciformis</i>										13					13
S	<i>Erechtites hieracifolius</i>			27												27
	<i>Hoehnephytum trixoides</i>			10												10
V	<i>Chrysolaena herbacea</i>											3		1		4
	<i>Vernonanthura ferruginea</i>	22									7					29
	<i>Vernonanthura membranacea</i>	8									35					43
	<i>Vernonanthura phosphorica</i>	1									2					3
Total		3	111	1	37	22	53	2	156	10	42	47	5	1	1	491

Tabela 2. Municípios e coordenadas das localidades onde foram coletados parte dos dados utilizados neste estudo.

Código da localidade	Município	Coordenadas
Loc01	São Carlos	22°05'46"S 47°49'57"W
Loc02	São Carlos	22°07'04"S 47°50'46"W
Loc03	São Carlos	22°00'21"S 47°51'48"W
Loc04	São Carlos	22°02'08"S 47°52'54"W
Loc05	Itirapina	22°15'56"S 47°47'48"W
Loc06	Itirapina	22°16'45"S 47°48'50"W
Loc07	Itirapina	22°15'15"S 47°45'47"W
Loc08	Ibaté	21°58'09"S 47°56'56"W
Loc09	São Carlos	22°07'56"S 47°48'54"W
Loc10	São Carlos	22°04'06"S 47°52'35"W
Loc11	Itirapina	22°09'57"S 47°48'08"W
Loc12	São Carlos	21°58'59"S 47°54'34"W
Loc13	São Carlos	22°06'50"S 47°49'07"W
Loc14	São Carlos	22°10'03"S 47°47'16"W
Loc15	Itirapina	22°19'02"S 47°48'22"W
Loc16	Itirapina	22°16'49"S 47°49'16"W
Loc17	São Carlos	22°04'06"S 47°52'56"W
Loc18	São Carlos	21°57'56"S 47°53'16"W
Loc19	Itirapina	22°08'37"S 47°47'55"W
Loc20	Itirapina	22°17'32"S 47°48'20"W

Tabela 3. Presença de *Melanagromyza minima* e suas plantas hospedeiras em quatorze localidades nos municípios de Ibaté, Itirapina e São Carlos.

		<i>Bidens gardneri</i>	<i>Viguiera arenaria</i>	<i>Viguiera robusta</i>
Loc01	planta	X	X	
	inseto		X	
Loc05	planta	X	X	
	inseto	X	X	
Loc06	planta	X		
	inseto	X		
Loc08	planta	X		X
	inseto			X
Loc09	planta	X	X	
	inseto		X	
Loc10	planta		X	
	inseto		X	
Loc11	planta	X	X	
	inseto		X	
Loc13	planta	X	X	
	inseto		X	
Loc14	planta	X		X
	inseto			X
Loc15	planta	X		
	inseto	X		
Loc17	planta	X	X	
	inseto		X	
Loc18	planta	X		X
	inseto			X
Loc19	planta	X	X	
	inseto		X	
Loc20	planta	X	X	X
	inseto		X	

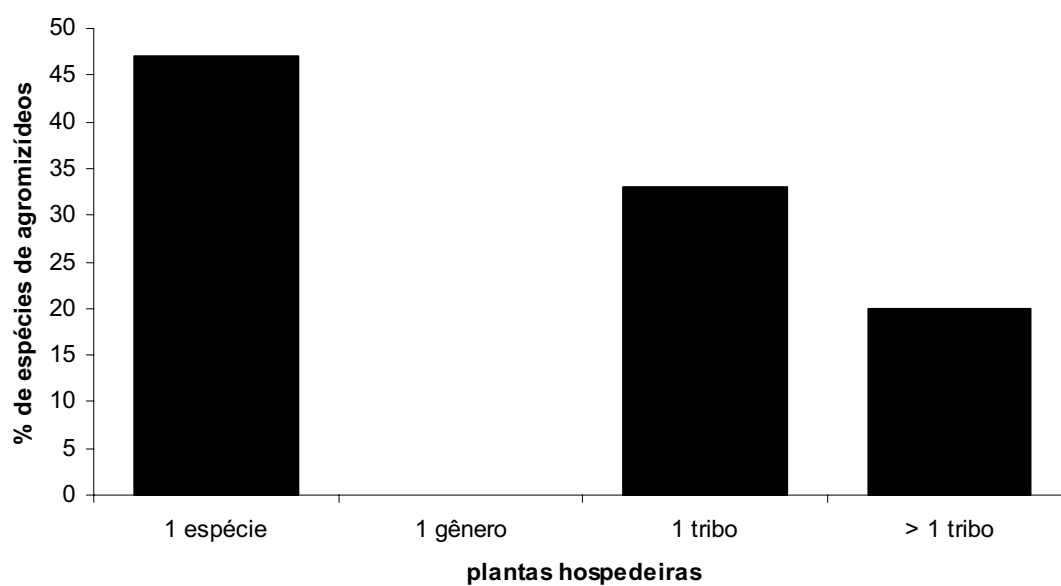


Figura 1. Porcentagem de espécies de agromizídeos relacionados a uma única espécie de planta hospedeira, hospedeiras relacionadas em um único gênero, uma única tribo e mais de uma tribo.

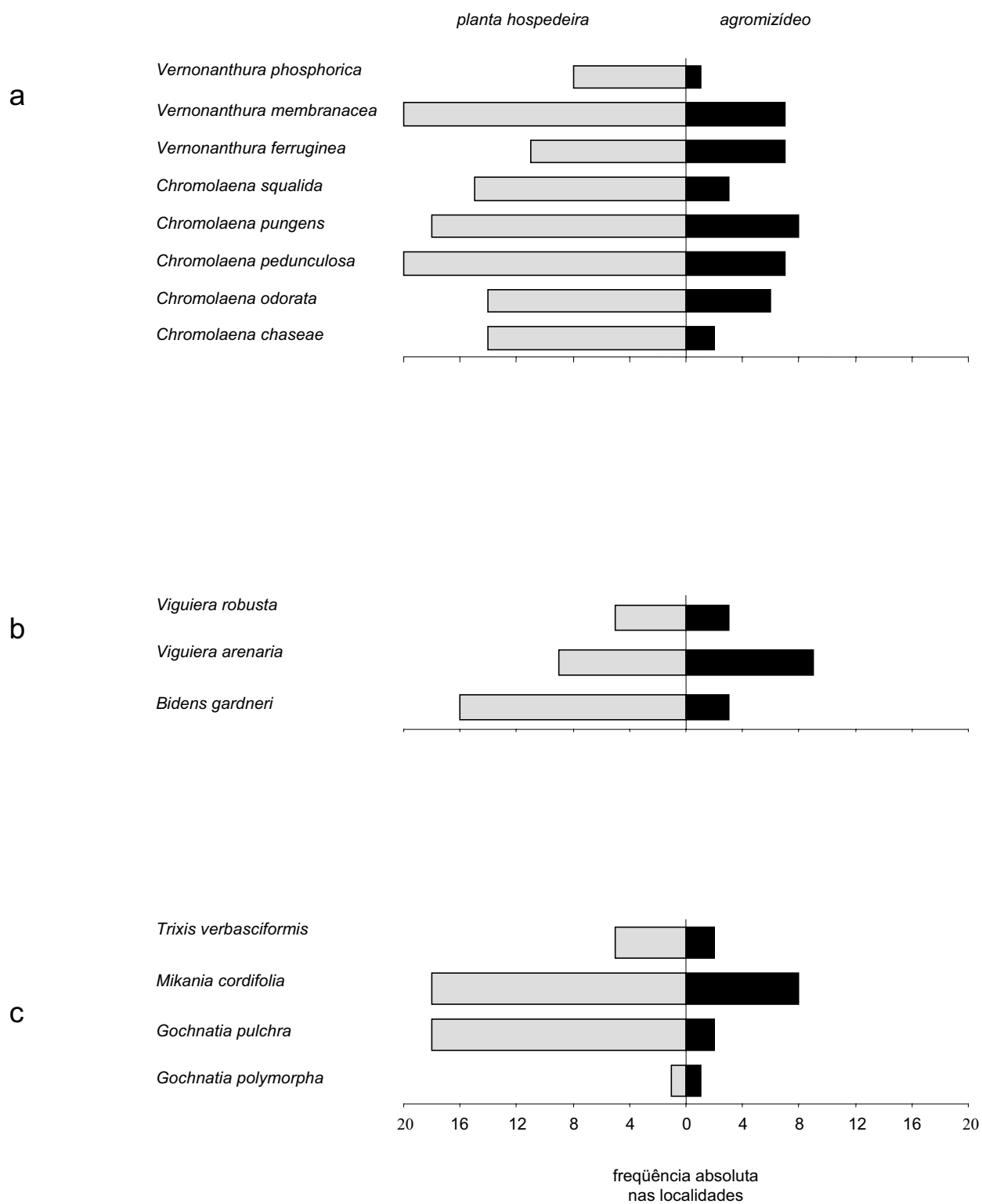
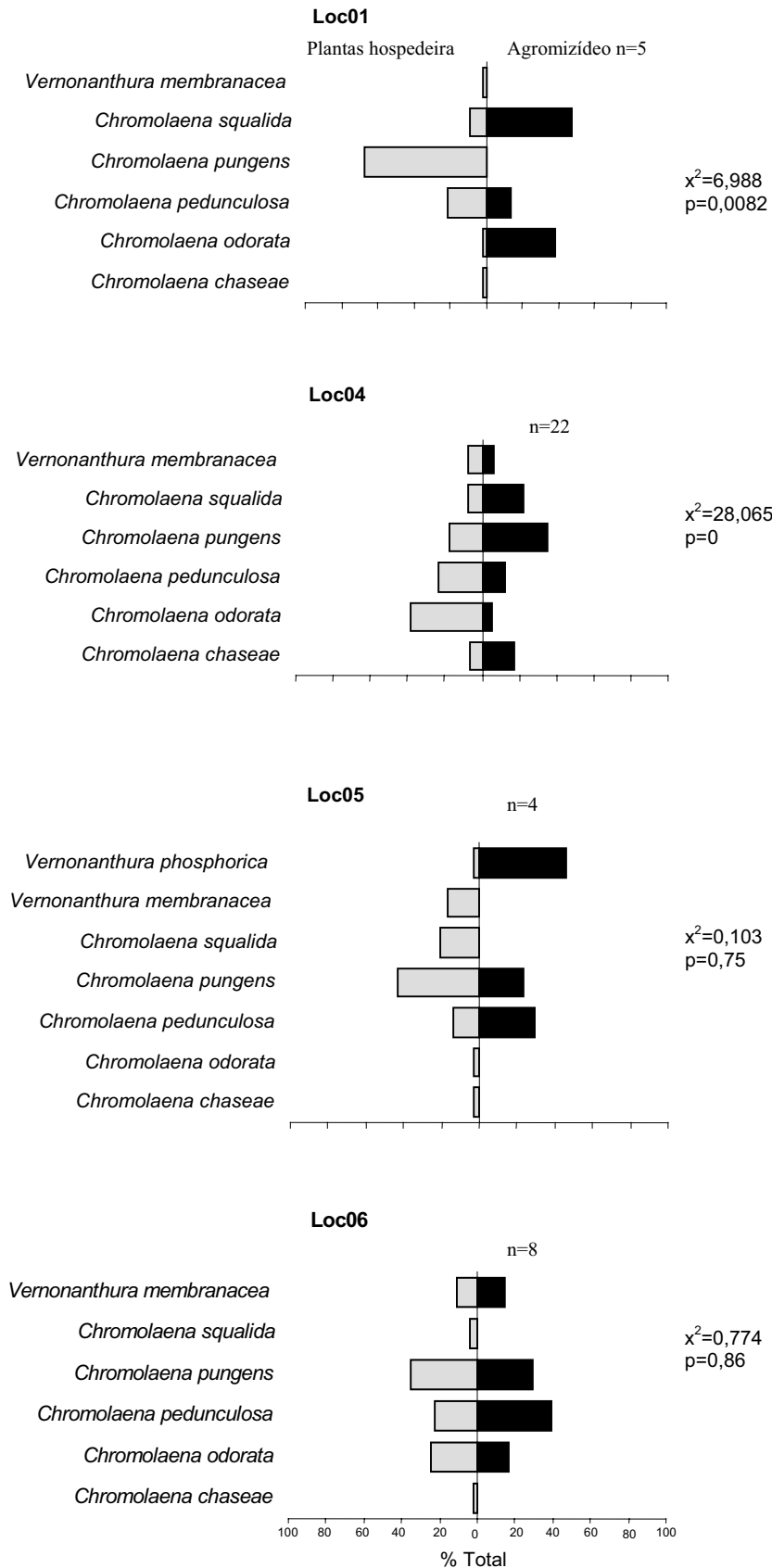


Figura 2. Frequência absoluta de ocorrência da planta hospedeira e espécie de endófago nas 20 localidades nos municípios de Ibaté, Itirapina e São Carlos; a, *Melanagromyza bidentis*; b, *M. mínima* e c, *Melanagromyza* sp.2 .

FIGURA 3



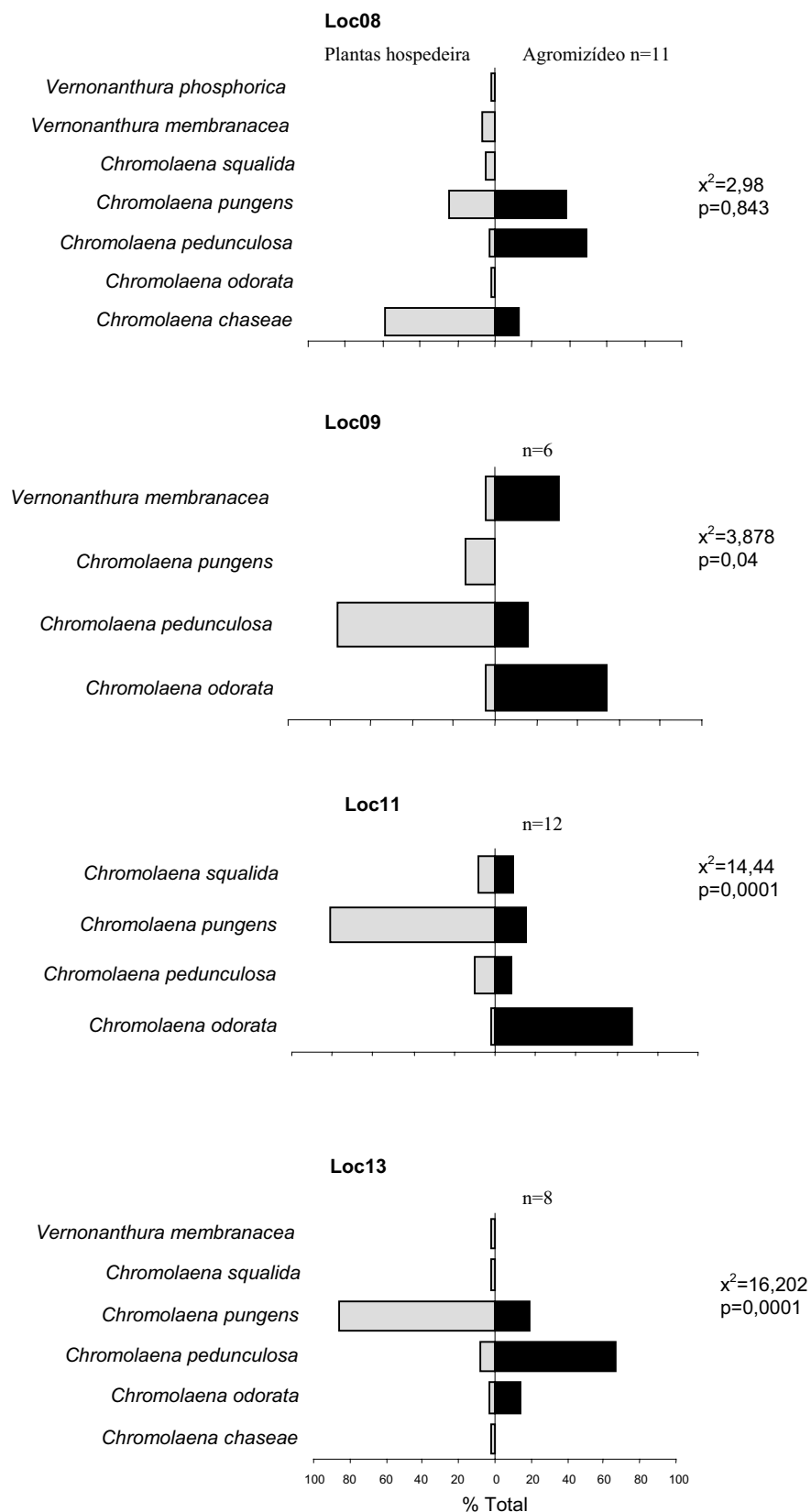


Figura 3. Abundância relativa de *Melanagromyza bidentis*, levando-se em consideração o esforço amostral (número de indivíduos / peso da amostra coletada), e abundância relativa das plantas hospedeiras nas localidades coletadas em Abril/Maio 2003.

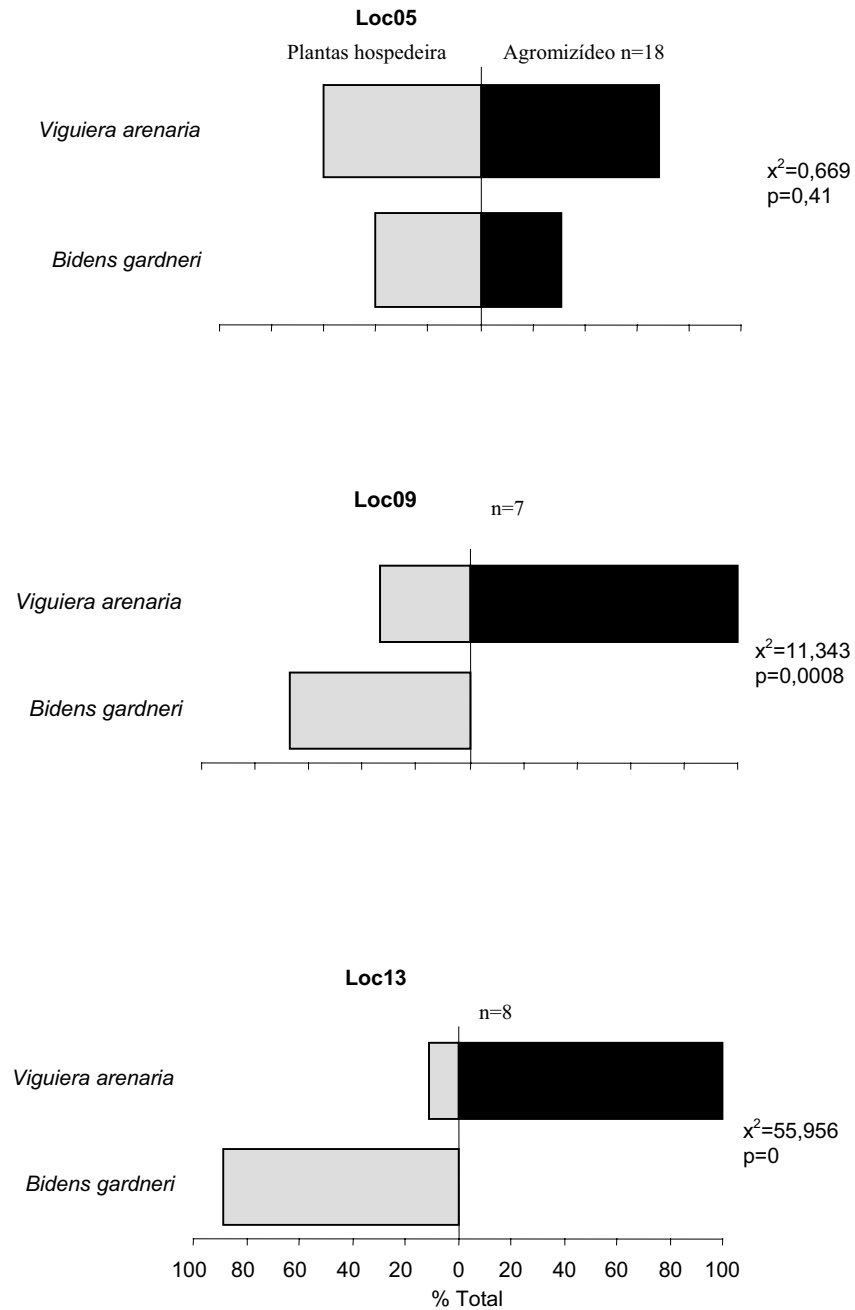


Figura 4. Abundância relativa de *Melanagromyza minima*, levando-se em consideração o esforço amostral (número de indivíduos / peso da amostra coletada), e abundância relativa das plantas hospedeiras nas localidades coletadas em Jan/Fev 2004.

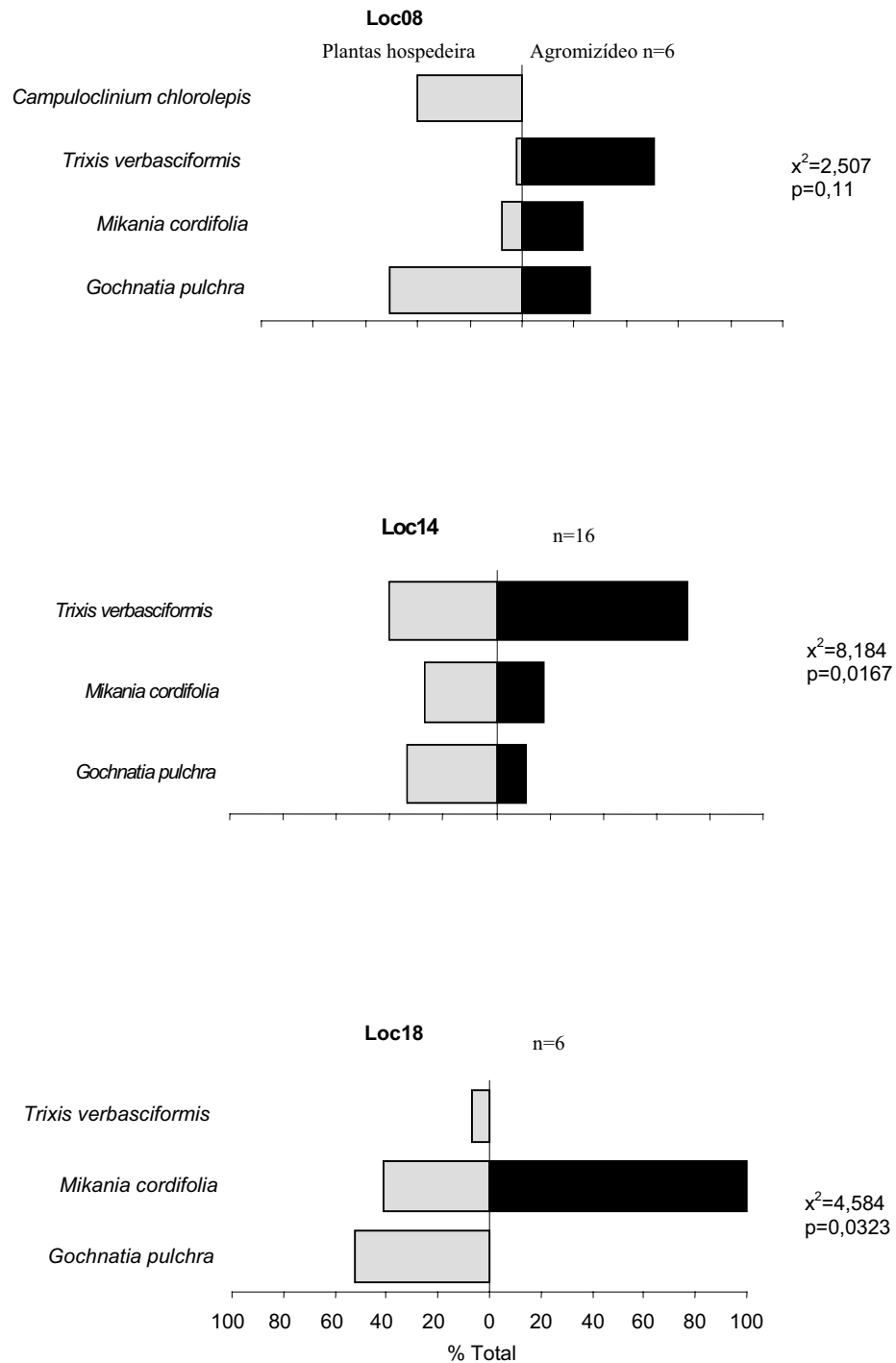


Figura 5. Abundância relativa de *Melanagromyza* sp2, levando-se em consideração o esforço amostral (número de indivíduos / peso da amostra coletada), e abundância relativa das plantas hospedeiras nas localidades coletadas em Abr/Mai 2004.

INTRODUÇÃO

A identificação de organismos até espécie é uma parte fundamental da maioria dos trabalhos em diferentes ramos da Biologia. Esta identificação é a base de levantamentos sobre a biodiversidade (Weeks & Gaston 1997; Lewinsohn 2006) e é muito importante em trabalhos sobre controle biológico de pragas (Lattin & Knutson 1982, Hawksworth 1994), na formulação de legislações na área de conservação (May 1990), em monitoramentos de espécies indicadoras de poluição e vetoras de doenças (Chalmers 1996), e em inúmeras outras áreas de estudos e aplicações.

Apesar de ser uma etapa obrigatória em muitas áreas da Biologia por possibilitar o acesso à informação sobre a biologia e ecologia do organismo que está sendo estudado, a Taxonomia clássica não está conseguindo suprir toda a demanda de identificações, caracterizações, classificação e descrições dessas espécies (Weeks et al. 1999).

A Taxonomia clássica é feita predominantemente por taxonomistas especializados, geralmente em um ou poucos grupos taxonômicos. Além disso, para um pesquisador não acostumado com a rotina taxonômica, a identificação desses organismos geralmente não é simples. Alguns problemas importantes da Taxonomia clássica, destacados por Gaston e O'Neill (2004), incluem:

- a falta de uma lista unificada de espécies descritas;
- a natureza fortemente enviesada do conjunto de espécies que tem sido descritas;
- o grande número de espécies descritas, reconhecidas como sinônimas de espécies já descritas anteriormente, e o esforço necessário para este serviço de revisão;
- a distribuição desigual de recursos financeiros destinados para a pesquisa taxonômica;
- o declínio geral na formação de taxonomistas;
- a dificuldade na identificação de muitos dos táxons;

- a dificuldade em usar os produtos da taxonomia tradicional, como coleções de referência adequadas, e a dificuldade de interpretar a terminologia científica complexa, e ainda
- o enorme número de espécimes (mesmo de espécies comuns) para os quais a rotina de identificação tradicional ainda é necessária.

Esta situação leva a Taxonomia a ser considerada uma barreira para o desenvolvimento de diversos ramos da Biologia, impossibilitando-os de crescer e desenvolverem-se sozinhos. Mas esse “impedimento taxonômico” pode ser atenuado criando-se alternativas para que os pesquisadores não taxonomistas, que precisem deste serviço, possam desenvolver suas pesquisas sem depender totalmente do trabalho do taxonomista (Weeks & Gaston 1997, Weeks et al. 1999, Godfray 2002, Knapp et al. 2002, Wheeler et al. 2004, Gaston & O'Neill 2004, mas veja DeCarvalho et al. 2005).

Algumas alternativas estão sendo testadas, como a identificação genética do espécime através de um “código de barras” molecular, como sugerido por Hebert et al. (2003) e Hebert e Gregory (2005); o acesso on-line a chaves de identificação simplificadas, com imagens detalhadas de estruturas importantes para a identificação da espécie (Gaston & O'Neill 2004); programas de identificação de imagens computadorizadas do espécime a ser identificado (Tabela 1); ou por novas metodologias que auxiliem na identificação e classificação das espécies, como a utilização de novas características morfológicas e variação nas formas inter e intraespecífica.

A técnica de análise de imagem, em particular, tem avançado muito nos últimos anos, aumentando a possibilidade da automatização, ou semi-automatização, de grande parte da rotina da identificação taxonômica (Gaston & O'Neill 2004). O preço de programas e de “softwares” que realizam estas análises tem caído significativamente nos últimos anos, de modo que, assim, a utilização de técnicas de processamento de imagem e análise destas imagens tem se tornado possível em diversos ramos da Biologia Aplicada (Tabela 1). Esta nova metodologia gera a oportunidade de se automatizar diversos processos que envolvem inspeção visual repetitiva, como classificação, identificação ou caracterização dos espécimes (Simpson et al. 1992, van de Vooren et al 1992, Dubuisson et al. 1994, Houle et al. 2003). Além disso, a automatização destes

processos pode trazer uma maior consistência e validade aos resultados obtidos por um pesquisador que não seja experiente na identificação ou caracterização dessas espécies (Weeks & Gaston 1997).

Apesar de ser uma alternativa para a Taxonomia tradicional, essas novas alternativas têm gerado uma grande discussão sobre a sua real importância e confiabilidade (Godfray 2002, Knapp et al. 2002, Wheeler et al. 2004, DeCarvalho et al. 2005). Na Entomologia, outras metodologias de análise de imagem, como a morfometria geométrica, utilizam imagens de asas para estudos da biologia e ecologia de insetos, além de classificar, identificar espécies de mosquitos, abelhas, vespas ou lepidópteros (Brown 1979, Rohlf & Archie 1984, Byers 1989, Yu et al. 1992, Diniz-Filho & Malaspina 1995, Baylac et al. 2003). Isto ocorre porque a morfologia das asas de insetos, especialmente em dípteros, difere bastante entre grande parte dos grupos taxonômicos. Tais diferenças podem ser derivadas a partir de um padrão ancestral comum (Ross 1965, Snodgrass 1993, Haas & Tolley 1998).

As ferramentas metodológicas alternativas de identificação são importantes, principalmente quando se trabalha com grupos de difícil identificação pela Taxonomia tradicional, como é o caso de agromizídeos, em que a identificação é feita, como em várias outras famílias, principalmente com base em diferenças interespecíficas na morfologia do aparelho reprodutor masculino (Spencer 1966, Spencer & Steyskal 1986). Além de diminuir o tempo gasto para a identificação desses indivíduos, essas novas metodologias podem permitir que um número maior de pesquisadores estude ou identifique, ao menos parcialmente, estes grupos de insetos sem um treinamento extenso no grupo.

Quando tratamos da identificação de espécies de Agromyzidae, essa vantagem é de extrema importância, pois além de ser um grupo de identificação complexa, espécies minadoras desta família são pragas de diversas espécies de plantas cultivadas, sejam elas ornamentais, como *Chrysanthemum* spp. (Chow & Heinz 2006, Spencer 1973, 1987, Zoebisch & Schuster 1987, Shepard et al. 1998), ou de consumo alimentar (Shepard et al. 1998, Chow & Heinz 2005).

No atual capítulo, iremos confrontar metodologias alternativas de classificação de indivíduos de nove espécies de agromizídeos estreitamente aparentadas para responder às seguintes perguntas: (i) qual é o grau de

coincidência entre a similaridade aferida entre indivíduos pelos diferentes métodos empregados? (ii) qual a capacidade de discriminação e identificação de espécies muito próximas destes diferentes métodos?

Os métodos aqui comparados incluem um conjunto de medidas morfológicas externas, analisadas por meio de procedimentos multivariados comuns; a morfometria geométrica, já bem estabelecida em estudos precedentes com asas de dípteros; e, por fim, três métodos de detecção e análise de forma, que empregam algoritmos recentemente desenvolvidos e ainda em fase de exploração. Como padrão de referência para avaliar a eficiência destes métodos, foram utilizados somente indivíduos masculinos e todos eles foram dissecados para identificação com base em sua genitália.

A análise de morfometria geométrica das asas foi realizada em colaboração com Luciane Hatadani, orientada pelo Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko (Departamento de Genética e Biologia Molecular, UNICAMP). Os estudos de reconhecimento e análises de forma foram feitos em colaboração com Fernanda Andrade Andaló, orientada pelo Prof. Dr. Ricardo da Silva Torres (Instituto de Computação, UNICAMP), cujo projeto de mestrado, "Identificação de insetos dípteros (tefrítídeos e agromizídeos) por análise de imagens de asas" inclui a especificação e implementação de descritores baseados em forma, textura e cor para recuperação, registro e análise das imagens, como método para apoio de reconhecimento de espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Organismos estudados

Neste estudo foram investigadas nove espécies do gênero *Melanagromyza* (Diptera, Agromyzidae). Todas estas espécies têm larvas endófagas de capítulos de asteráceas, sendo morfológicamente e ecologicamente muito afins.

Foram estudadas as seguintes espécies: *Melanagromyza bidentis* Spencer, *M. erechitidis* Spencer, *M. floris* Spencer, *M. minima* (Malloch), *M. neotropica* Spencer e *M. minimoides* Spencer. Esta última abrange um complexo

de espécies crípticas ainda não descritas que, embora indistinguíveis externamente, podem ser separadas pela morfologia de sua genitália masculina (Capítulo 1). Aqui, consideraremos que o complexo *minimoides* compreende quatro morfoespécies, denominadas *Melanagromyza* sp1 a sp4.

Ao todo, foram utilizados 116 indivíduos destas espécies (Tabela 2), criados de amostras de plantas obtidas em remanescentes de cerrado nos municípios de Ibaté, Itirapina e São Carlos no estado de São Paulo (Capítulo 2, Tabela 2).

Métodos de medição

Três métodos foram usados para caracterização e separação dos 116 indivíduos estudados. Para o primeiro método, foram medidas cinco estruturas morfológicas externas de cada indivíduo. Para os outros dois métodos, a Morfometria Geométrica e a Análise de Forma, a asa esquerda de todos os indivíduos foi retirada e montada em lâmina e incluída em Euparal. Todas as asas foram fotografadas com máquina digital Nikon® (Coolpix ®995) em microscópio Nikon®, com aumento de 40X.

Medidas corporais (MMC)

Foram obtidas cinco medidas morfológicas de estruturas da cabeça e tórax dos indivíduos: largura da fronte, comprimento e largura dos olhos, comprimento da gena e comprimento do tórax (Figura 1). Essas estruturas foram escolhidas com base na literatura sistemática do grupo (Spencer 1966, 1990, Spencer & Stegmaier 1973). As medidas foram repetidas três vezes, com intervalo de no mínimo vinte dias entre elas, e o valor utilizado pelas análises foi a média das três medidas. A repetição das medidas foi feita para se verificar a exatidão do processo de medição. Uma característica adicional foi o número de cerdas no epândrio de cada indivíduo (Figura 2 do Capítulo 1).

Morfometria geométrica (MG)

Para a morfometria geométrica, foram selecionados 12 marcos de referência (“*landmarks*” ou marcos anatômicos, Bookstein et al. 1985, Monteiro e Reis 1999), em pontos de intersecção de veias homólogas das asas, onde cada marco é localizado por um par de coordenadas (x,y) em um plano cartesiano

(Figura 2). A localização dos marcos nas imagens das asas, e a medição das distâncias lineares entre eles, foram realizadas no programa tpsDig2 versão 2.04 (Rohlf 2005).

Análises de padrão de forma de asa (AF)

Para análise de padrão de forma de asa, foram utilizados três descritores diferentes.

Beam-angle statistics (BAS)

Este descritor é baseado em *beams*, que são feixes de linhas conectando um dado ponto de referência com o resto dos pontos que circunscrevem o contorno do objeto de interesse. O ângulo entre cada par de *beams* é tratado como uma variável aleatória em cada ponto do contorno. Após a representação do contorno bidimensional em uma função unidimensional, o algoritmo de correspondência ótima (OCS) é utilizado para medir a similaridade entre os descritores de diferentes imagens. O objetivo deste descritor é minimizar a distância entre dois vetores para observar as deformações de forma do objeto analisado (Arica & Vural 2003).

Dimensão Fractal Multiescala (FRAC)

Este descritor caracteriza a auto-similaridade de objetos abstratos e reais. Ao analisar um fractal, verifica-se que determinadas partes, quando ampliadas, são idênticas ao sistema fractal como um todo. Assim, têm-se fragmentos geométricos similares repetindo-se de tal forma que se mantêm invariantes em qualquer escala. A dimensão utilizada é a de Minkowski-Bouligand, onde a forma analisada é representada em termos do conjunto 'S' de coordenadas cartesianas de cada elemento da forma; e seja 'Sr' sua dilatação por 'r'. 'Ar' é a área da respectiva versão dilatada da forma, i.e. 'Sr' (Torres et al. 2004). A dimensão fractal de Minkowski-Bouligand é definida como (Tricot 1995) :

$$F = 2 - \lim_{r \rightarrow 0} ((\log(A(r)))/(\log(r)))$$

O valor estimado de F é uma indicação de quanto a forma contém sua própria dilatação.

Tensor scale (TSD)

É um descritor de forma baseado no conceito de “tensor scale”, um parâmetro morfométrico que resulta na representação unificada das estruturas locais de espessura, orientação e anisotropia. Em qualquer ponto de uma imagem, seu “tensor scale” é representado pela maior elipse (2D), ou elipsóide (3D), centrada no ponto e dentro de uma mesma região homogênea. As imagens são representadas pelo histograma normalizado da orientação local (o ângulo da elipse) em regiões de alta anisotropia e espessura dentro de um determinado intervalo. A medida de similaridade entre duas imagens envolve correlação, registro e diferença absoluta da área entre seus histogramas de orientação das elipses.

Análise de dados

Matrizes de distâncias

Matrizes de distância são matrizes triangulares cujos valores representam a diferença entre cada par de indivíduos, conforme o método de avaliação de sua semelhança. Foram construídas cinco matrizes de distância entre os 116 indivíduos de *Melanagromyza* estudados, a partir da aplicação das diferentes metodologias acima descritas.

Medidas corporais (MMC)

Para normalizar as medidas corporais, estas foram transformadas para o logaritmo do número de cerdas no epândrio, e para a raiz quadrada das cinco medidas lineares (largura e comprimento de olho, largura da fronte, comprimento da gena e comprimento do tórax). Transformações são tradicionalmente aplicadas a dados morfométricos por tornar lineares as relações alométricas (Huxley 1972; Bookstein et al. 1985). Após estas transformações, foi realizada uma análise de correlação entre as seis medidas.

Morfometria geométrica (MG)

O cálculo da matriz de distâncias entre os indivíduos foi precedido pelo seu alinhamento por meio da superimposição de Procrustes; para isto, foi utilizada a superimposição generalizada por quadrados mínimos (“Generalized Least Squares Procrustes Superimposition”, GLS). Inicialmente, todas as configurações

de marcos dos indivíduos foram centralizadas na origem, ou seja, o centróide dos 12 marcos (centro de massa) de cada asa foi posicionado no ponto (0,0) para alinhamento das diferentes imagens. Em seguida, o tamanho de todos os indivíduos foi padronizado por meio da divisão das coordenadas de cada marco pelo tamanho do centróide do indivíduo (Rohlf 1999). Após essa padronização, foi escolhida uma configuração (indivíduo) como referência e as demais configurações foram rotacionadas de modo a minimizar a soma do quadrado das distâncias entre os marcos de cada configuração e seus homólogos na asa do indivíduo referência. Esse procedimento remove os efeitos de desalinhamento e de tamanho das configurações, ou seja - diferenças de posição, rotação e tamanho das asas - para extrair apenas as diferenças de forma entre elas.

Depois da superimposição de Procrustes, foram calculadas as distâncias de Procrustes entre os indivíduos estudados. A distância de Procrustes é aproximadamente igual à raiz quadrada do somatório do quadrado das distâncias entre os marcos de referência homólogos. Portanto, esta distância é a diferença total de forma entre duas configurações, representadas no espaço de formas de Kendall. A matriz de distâncias de Procrustes, representando as diferenças de forma entre cada par de indivíduos, foi calculada através do programa tpsSmall versão 1.20 (Rohlf 2003).

Análises de forma (AF)

A análise de forma de asa a partir dos três descritores, BAS, FRAC e TSD, produz diretamente as respectivas matrizes de distância, que foram analisadas entre si e em comparação com as duas matrizes acima descritas.

Congruência entre matrizes de distância

As cinco matrizes de distância, que utilizam cada indivíduo independentemente como OTU (“operational taxonomic unit”, Sneath & Sokal, 1963), foram comparadas, duas a duas, através do teste de Mantel (1967). Este teste calcula a congruência entre dois conjuntos de distâncias distintas para os mesmos objetos, representadas em matrizes de mesma dimensão. Com esta análise, aferimos se metodologias diferentes convergem em suas medidas de diferenças entre os indivíduos, sem qualquer referência à sua identificação

específica.

O teste utiliza o coeficiente de correlação paramétrica (r) que varia de -1 (correlação negativa completa) a +1 (correlação positiva completa). A significância é avaliada comparando-se a correlação observada entre os elementos das duas matrizes, com a distribuição de correlações obtida por quando uma delas é aleatorizada. Para se avaliar a probabilidade em relação à hipótese nula de não-correlação entre as matrizes, a correlação observada entre cada par foi comparada com a distribuição de correlações em 5000 aleatorizações (Monte Carlo), por contagem direta das correlações de valor igual ou maior à correlação observada (McCune & Grace 2002). Os testes de Mantel foram executados no programa PC-Ord v.4 (McCune & Mefford 1999).

A qualidade das classificações alternativas

Para avaliar a eficiência de cada método em recuperar uma classificação informal, pré-existente, foram realizadas duas análises multivariadas a partir de cada uma das cinco matrizes de distância entre os 116 indivíduos estudados. Primeiro, uma análise de ordenação, o Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS, Non Metric Multidimensional Scaling); segundo, uma análise de agrupamento, com algoritmo de agregação por médias não-ponderadas de grupos (GA ou UPGA).

Os resultados destas análises foram utilizados para avaliar a capacidade dos diferentes métodos de separar os indivíduos conforme sua identificação real, estabelecida com base na sua morfologia genital. A identificação real não entrou como critério “a priori” (i.e., não foi feita uma análise discriminante, ou equivalente) mas foi sobreposta a posteriori, respectivamente, aos gráficos de ordenação e aos dendrogramas produzidos diretamente a partir das matrizes de distância de cada método. Não foi feito nenhum teste de convergência entre os grupos formados nas análises multivariadas e as espécies identificadas com base na genitália. Por fim, os resultados dos dois métodos multivariados foram combinados, projetando no gráfico de ordenação grupos selecionados produzidos nas análises de agregação, em dois níveis de distância escolhidos para melhor discriminação.

Todas as análises foram realizadas no programa Primer v.6 (Clarke & Gorley 2006).

RESULTADOS

Correlação das medidas corporais dos indivíduos

Nas medidas corporais, após transformação, foi encontrada correlação significativa entre quatro das medidas utilizadas: comprimento e largura do olho, comprimento de tórax e largura de frente. Ao contrário, o comprimento de gena e o número de cerdas no epândrio não mostraram correlação significativa com as demais medidas (Figura 3).

A análise de componentes principais (PCA) mostrou que os três primeiros eixos representam mais de 97% da variação das medidas originais, e os autovalores relativizados dos eixos 1 (2.45) e 2 (1.450) foram considerados significativamente maiores que os esperados por uma distribuição aleatória (valores >1). O terceiro eixo foi também retido, por apresentar um valor (0,950) próximo do limiar de significância (Tabela 3). Assim, os três primeiros eixos gerados pela análise de componentes principais foram utilizados para a produção de uma matriz de distância Euclidiana entre os 116 indivíduos, matriz que foi utilizada nas próximas análises.

Congruência entre matrizes de distância

Os testes de Mantel realizados entre as matrizes dos cinco métodos, par a par (Tabela 4), mostraram maior congruência somente em duas combinações: primeiro, as matrizes de medidas corporais (MMC) e morfometria geométrica (MG) ($r_M=0,25$; $p=0,0002$); segundo, entre as análises de forma baseadas em BAS e TSD ($r_M=0,35$; $p=0,0002$). A matriz de similaridade do descritor de forma FRAC apresentou baixa congruência com as demais matrizes ($r_M < 0,12$) mesmo quando significativo. Nenhuma das demais combinações de métodos foi significativamente congruente, conforme o teste de Mantel.

A qualidade das classificações alternativas

As ordenações por Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS) foram eficientes, tendo tido níveis de estresse (distorção) em duas dimensões, desde aceitáveis (0,17) até muito bons (0,02). Com isto, todas as ordenações foram comparadas em duas dimensões apenas (Figuras 4 a 9).

A partir da identificação dos indivíduos baseada em seu aparato genital

(Tabela 5), sobreposta aos resultados das ordenações por NMDS, nota-se que apenas a Análise de Medidas Corporais (MMC) agrupou bem os indivíduos de cada espécie (Figura 4, índice na Tabela 5). Os indivíduos de *Melanagromyza floris*, *M. neotropica*, *M. bidentis* e os do complexo *M. minimoides* (*Melanagromyza* sp1, sp2, sp3 e sp4) apresentaram agrupamentos mais nítidos, apesar de existir uma sobreposição parcial entre eles, especialmente entre *M. bidentis* e o complexo *M. minimoides* (Figura 4). *Melanagromyza erechitidis* e *M. neotropica* se sobrepueram amplamente. Os mesmos padrões foram notados na análise de agrupamento, em que os grupos formados conseguiram separar corretamente uma porcentagem significativa de indivíduos dessas espécies. A maioria dos indivíduos de cada espécie foi concentrada em um dos grupos formados, como se vê nos grupos 1a+b (*M. neotropica*), 1c (*M. floris*), 1d (*M. erechitidis*), 2e (*M. bidentis*) e 2f (*Melanagromyza* sp2) (Figura 10 e Tabelas 6a e 6b).

A morfometria geométrica das asas (MG), na ordenação por NMDS, também conseguiu agrupar indivíduos de mesma espécie (Figura 5), mas os grupos formados se sobrepueram muito mais extensamente que na análise por MMC. Essa diferença foi mais visível quando examinamos a distribuição de indivíduos das diferentes espécies nos grupos formados pela análise de agrupamento (Tabelas 6 e 7). Comparado com MMC, a MG agruparam os indivíduos de cada espécie com bem menos eficiência, de acordo com as porcentagens de indivíduos em cada grupo formado pela análise de agrupamento.

As ordenações por NMDS baseadas em Análises de forma (AF) não foram eficientes na recuperação da identificação real dos indivíduos estudados (Figuras 6 – 8), resultado repetido nas respectivas análises de agrupamento (não mostradas). Os três métodos foram incapazes de discriminar e agrupar corretamente a maioria das espécies (Tabela 8). Apenas algumas espécies foram agrupadas mais eficientemente, mas sem serem separadas. Por exemplo, embora fossem corretamente agrupadas pelo método FRAC (Tabela 8b), *M. neotropica* (n=27, 78% dos quais no Grupo II) e *M. erechitidis* (n=6, 100% no mesmo grupo) não foram separadas entre si. Para este método, no gráfico de ordenação por NMDS, note-se também o claro arqueamento do conjunto de pontos no espaço dos dois eixos considerados (Figura 7).

Para os dois métodos mais efetivos, medidas corporais e morfometria

geométrica, foram combinados os resultados da ordenação por NMDS e da análise de agrupamento. As Figuras 12 e 13 representam visualmente os grupos de indivíduos em espécies resultantes das análises de agrupamento, mostrados nas Tabelas 7 e 8. Os grupos formados em dois níveis escolhidos para melhor separação (mostrados como linhas tracejadas nas Figuras 10 e 11) foram sobrepostos aos gráficos de ordenação por NMDS; grupos formados por indivíduos de mesma espécie tornaram-se assim mais evidentes (Figuras 12 e 13). Para as medidas corporais, numa divisão de nível mais alto na análise de agrupamento ($nd=3$) foram formados dois grandes grupos, um deles composto principalmente por indivíduos de *M. floris*, *M. erechitidis* e *M. neotropica*, e outro por *M. bidentis* junto com o complexo *M. minimoides* (Figs 10 e 12). Em um nível mais fino de dissimilaridade ($nd=1,8$) os indivíduos de *M. floris* (grupo 1c) e *M. neotropica* (grupo 1b) foram bem agrupados, sem sobreposição com grupos correspondentes a outras espécies.

As espécies do complexo *M. minimoides*, reanalisadas separadamente por um NMDS a partir de suas medidas corporais (MMC), apresentaram uma disjunção nítida das morfoespécies *Melanagromyza* sp2 e sp3 (Figura 9). As morfoespécies sp1 e sp4, representadas por poucos indivíduos, ficaram misturadas ao conjunto da sp3; mesmo numa ordenação tridimensional, também não se separam claramente desta última. Por outro lado, ao sobrepor a estes indivíduos, no gráfico de ordenação, a tribo da planta hospedeira da qual foram coletados e criados, pode se constatar que houve uma tendência à diferenciação morfológica entre agromizídeos provenientes de hospedeiras afins, o que por sua vez coincide com a diferenciação, baseada na genitália masculina, das quatro morfoespécies aqui consideradas como complexo *minimoides* (Figura 9).

DISCUSSÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de diferentes métodos de análise de caracteres oferecerem apoio à sistemática, separando indivíduos de espécies diferentes e agrupando-os corretamente em espécies. Os métodos avaliados incluem dois procedimentos bem estabelecidos na prática taxonômica

atual – análise fenética, aplicada a um pequeno conjunto de caracteres externos, e análise geométrica de forma e venação da asa – e três métodos experimentais de análise de contorno e textura, aplicados também a imagens de asas.

O teste experimental destes métodos foi realizado com um conjunto de indivíduos congêneros, que representam parte de um inventário ecológico de insetos ecologicamente afins e que ocorrem em áreas de cerrado de uma região definida. Desta forma, o problema proposto é representativo do que pesquisadores encontram em um inventário ecológico, focado em uma guilda particular (Lewinsohn et al. 2001). Diverge, assim, de muitos estudos sistemáticos que enfocam um grupo maior de espécies, muitas vezes abrangendo um nível taxonômico mais elevado, e que geralmente provêm de uma área geográfica mais extensa e freqüentemente heterogênea ou desconexa, contando com pouca ou nenhuma informação ecológica associada.

Congruência entre indivíduos

O teste de Mantel, aplicado pareadamente às matrizes de distância produzidas por cada método, fornece uma avaliação se dois métodos distintos tendem a convergir na similaridade percebida entre diferentes objetos – no caso, indivíduos. Portanto, no caso estudado, o teste avaliou a congruência entre as análises no nível dos indivíduos, sem considerar sua filiação a diferentes espécies, nem tampouco gerando uma classificação.

A avaliação de significância estatística é obtida por um procedimento de permutação, mas o coeficiente entre matrizes (o r de Mantel, r_M) é um coeficiente paramétrico de correlação, que varia entre -1 e 1 . Apenas duas combinações entre análises resultaram em r_M maiores que $0,2$. Primeiro, duas análises de forma, BAS e TSD, com $r_M = 0,35$; segundo, a análise de medidas corporais e a morfometria geométrica, cujo r_M foi de cerca $0,25$. Embora usando caracteres e algoritmos distintos, estes métodos produziram posicionamentos de similaridade entre indivíduos significativamente mais semelhantes entre si do que se esperaria ao acaso, mas os valores de r_M são bastante baixos, de modo que não se pode concluir que, para qualquer finalidade prática, os resultados em cada par de métodos sejam equivalentes entre si.

Todos os valores de r_M entre os métodos de um destes pares (MMC e

MG) e os do outro par (BAS e TSD), foram inferiores a 0,10 e, com uma exceção marginal, estatisticamente não-significativos ($p > 0,05$; Tabela 4). Isto indica que cada dupla de métodos está capturando atributos distintos dos indivíduos e, conseqüentemente, posicionando-os diferentemente quanto à sua similaridade. Esta conclusão será retomada mais adiante.

O teste de Mantel é geralmente tido como bastante robusto e confiável (McCune e Grace 2002). No entanto, Peres-Neto & Jackson (2001) advogam que a superimposição de Procrustes (aqui, usada como parte da análise de morfometria geométrica) pode ser estendida para testar a congruência entre matrizes, com vantagens sobre o teste de Mantel. No presente estudo, embora esta análise alternativa não tenha sido experimentada, é bastante improvável que produzisse um resultado substancialmente diferente do que apresentamos (Peres-Neto & Jackson 2001).

A eficiência de diferentes métodos para recuperar classificações

Uma vez que o conjunto dos testes de Mantel mostrou não haver congruência forte entre os métodos, eles necessariamente diferem entre si quanto à classificação que geram – ou então, quanto à sua capacidade de recuperar ou detectar a classificação “real” dos indivíduos estudados. Para avaliar o desempenho dos métodos neste sentido, é necessário produzir uma classificação e confrontá-la com a identidade que foi estabelecida independentemente.

De modo geral, os métodos mais convencionais mostraram-se mais eficientes que as análises de forma. A metodologia mais efetiva para classificar indivíduos do gênero *Melanagromyza* foi, sem qualquer dúvida, a análise fenética das medidas corporais (MMC). O conjunto de medidas utilizado foi capaz de separar corretamente a maioria dos indivíduos (Tabela 6 e Figura 10). Ainda assim, a percentagem de classificação de *M. neotropica*, *M. floris*, *M. erectitidis* e *M. bidentis* em grupos próprios variou entre 74% e 88%. Do outro lado, embora alguns grupos sejam formados quase exclusivamente por uma espécie (1b, *M. neotropica*; 1c, *M. floris*), os demais misturam indivíduos de duas ou mais espécies. Por ambas as razões, a correspondência entre grupos formados por medidas corporais, e espécies, é demasiadamente baixa para ser utilizada confiavelmente como método complementar de identificação.

Os dois grupos maiores reconhecidos pela análise de medidas corporais (Tabela 6b e Fig 12) correspondem a espécies que, além de convergirem nas estruturas medidas, apresentam outras semelhanças importantes na forma do edeago e na proporção entre o tamanho do edeago e a membrana que o recobre. Além disso, estes dois grupos se diferenciam quanto ao tamanho de corpo; as espécies *M. bidentis* e as do complexo *M. minimoides* são consistentemente menores que os indivíduos que formam o outro grupo (Spencer & Stegmaier 1973).

Apesar de apresentarem semelhanças morfológicas externas com as espécies do complexo *M. minimoides* (Spencer & Stegmaier 1973), os indivíduos de *M. minima* não se agregaram a elas por nenhum dos cinco métodos. Isto pode ter sido dificultado pelo pequeno número de indivíduos analisados; segundo Weeks et al. (1999), quanto maior o número de indivíduos analisados de cada espécie, maior o sucesso potencial das metodologias para analisar variação e diferenciação nas formas de asas.

Melanagromyza minimoides tem sido considerada uma espécie generalista na associação com suas plantas hospedeiras (Spencer & Stegmaier 1973). Entretanto a possibilidade de se tratar de um complexo de raças hospedeiras, ou mesmo de espécies crípticas, já havia sido aventada (Lewinsohn 1988). No presente estudo, foram detectadas diferenças consistentes na forma do edeago e surstilo, que ainda não haviam sido documentadas e, conseqüentemente, novas espécies derivadas de *M. minimoides* deverão ser descritas. As novas espécies deste grupo seguem o padrão conhecido do gênero, de associação especializada com suas plantas hospedeiras (Spencer 1990; Figura 9). O agrupamento dos indivíduos estudados de *Melanagromyza* sp.2, em contraste com *M. sp.3*, confirma que a separação morfológica entre elas, ainda que sutil, é consistente. Já *M. sp.1* e *M. sp.4* deverão ser mais extensamente investigadas, dado que os poucos indivíduos incluídos no presente estudo não se destacaram morfológicamente de *M. sp.3*, embora suas hospedeiras pertençam a tribos distintas (Figura 9).

Nenhum dos descritores utilizados nas análises de forma (AF) a partir das imagens de asas foi eficiente na classificação dos 116 indivíduos estudados (Figuras 6 – 8 e Tabela 8). Este resultado contrasta com vários estudos anteriores,

que utilizaram imagens de espécimes inteiros ou de determinados órgãos, especialmente asas, e que apresentaram eficiência na classificação de diferentes grupos de organismos (Torres 2004, Torres et al. 2004, e referências na Tabela 1). O que é importante ressaltar é que dentre os descritores que tiveram sucesso de identificação superior a 95%, todos estavam separando apenas poucas espécies ou sub-espécies, o que pode ter influenciado no resultado positivo dos mesmos.

A incapacidade de estes métodos recuperarem a classificação subjacente dos indivíduos indica duas dificuldades. Primeiro, as asas destes agromizídeos oferecem pouca informação de contornos e texturas sobre as quais as análises possam operar (Torres et al. 2004). Segundo Weeks & Gaston (1997) a venação das asas por si só pode não oferecer características suficientes para a identificação de espécies. Em outros grupos de dípteros, como os tefritídeos, a pigmentação e diferenciação de formato de asas, caracteres importantes na identificação de gêneros e espécies (Prado et al. 2004), possibilitam um reconhecimento de forma mais efetivo (Miranda et al. 2005). Nos tefritídeos, os mesmos descritores aqui empregados já mostram uma eficiente separação, principalmente entre gêneros (Fernanda Andaló, dados não publicados).

Em segundo lugar, nas características apreendidas pelas análises de forma a variação interespecífica entre os indivíduos é bastante inconsistente e se sobrepõe à variação intraespecífica. Estas dificuldades podem ter sido agravadas pelo número desigual, além de reduzido em várias espécies, de indivíduos estudados (Tabela 2). Em suma, as asas de *Melanagromyza* estão longe das condições preconizadas para identificação bem-sucedida de organismos por análises de imagens (Weeks & Gaston 1997).

Estudos exploratórios para identificação por imagens têm dado melhores resultados para identificação de famílias ou gêneros (Weeks & Gaston 1997, Gaston & O'Neill 2004, Fernanda Andaló dados não publicados), e têm obtido percentuais elevados de acerto de identificação quando aplicados a pequenos conjuntos de táxons (Weeks et al 1999).

Neste estudo, a morfometria geométrica foi aplicada às mesmas imagens utilizadas para os algoritmos de análise de forma, mas mostrou-se mais eficiente que estes na classificação dos indivíduos. Talvez a determinação, pelo observador, do posicionamento dos marcos de referência sirva para firmar um

conjunto de medidas homólogas e padronizadas que, neste caso, dariam melhor resultado do que a análise integral de contornos e texturas visuais (Houle et al. 2003).

CONCLUSÕES

A metodologia mais promissora para auxiliar na classificação de espécies de *Melanagromyza* foi a de análise fenética baseada em medidas corporais externas. Neste estudo, utilizamos um conjunto pequeno de caracteres, 3 medidas lineares na cabeça e uma de tórax, além de um caráter externo da genitália.

Apesar de ter se mostrado a mais eficiente na classificação do conjunto de indivíduos de *Melanagromyza* aqui estudados, esta metodologia não permite a separação e identificação taxonômica autônoma, devido tanto à sobreposição de indivíduos de diferentes espécies nos grupos formados, como à dispersão de indivíduos coespecíficos entre grupos distintos. O acréscimo de outras variáveis (como o comprimento de antena, medidas de ovipositor das fêmeas e contagem de cerdas de outras estruturas) deve aumentar a eficiência deste método. Isto, por sua vez, pode se mostrar de grande importância, pois a sistemática atual desta família depende criticamente da morfologia do aparelho reprodutor masculino. Uma metodologia alternativa de identificação, além de agilizar a identificação dos machos, talvez amplie a possibilidade de identificação de fêmeas. Isto seria um importante ganho para estudos sobre a biologia e ecologia dos agromizídeos e sua aplicação ao conhecimento de espécies pragas de plantas cultivadas ornamentais e comestíveis, de grande importância econômica, que pertencem a esta família (Spencer 1987, Zebisch & Schuster 1987, Burgio et al. 2005, Chow & Heinz 2006).

Em relação aos outros métodos empregados neste estudo, o conjunto utilizado de indivíduos pode ser considerado um teste bastante crítico. Em muitos grupos de insetos, asas são as primeiras estruturas a considerar para análises de forma, por serem essencialmente bidimensionais, rígidas, e permitirem capturas de imagem com um mínimo de manipulação e dano aos espécimes. Infelizmente porém, para os agromizídeos, as asas não oferecem informações visuais

suficientes para apoiar uma separação e identificação utilizável. Por outro lado, as medidas corporais que se revelaram úteis por meio de análise fenética sugerem que outras estruturas podem se prestar a análises de forma ou morfometria geométrica. Para isto, há duas restrições a considerar: a necessidade de mais manipulação para posicionamento correto das estruturas, quase sempre tridimensionais, e as deformações e defeitos de muitos espécimes que teriam que ser excluídos, ao menos de estudos exploratórios. No entanto, cabeça, pernas e outras estruturas oferecem possibilidades de fixar “landmarks”, ou então de análise integral de forma, e merecem ser explorados também por meio de captura e análise de imagens.

REFERÊNCIAS

- Arica, N. & F. T. Y. Vural, 2003. BAS: A Perceptual Shape Descriptor Based on the Beam Angle Statistics. *Pattern Recogn. Lett.* 24 :1627–1639.
- Baylac, M., C. Villemant & G. Simbolotti 2003. Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. *Biol. Jour. Linn. Soc.* 80: 89-98.
- Brown, K. R. 1979. Comparative wing morphometrics of some calyptrate Diptera. *J. Aust. Ent. Soc.* 18: 289-303.
- Bookstein, F. L., B.Chernoff, R. Elder, J. Humphries, G. Smith & R. Strauss. 1985. Morphometrics in evolutionary biology, the geometry of size and shape change, with examples from fishes. Special Publication 15. Academy of Natural Sciences Press, Philadelphia.
- Burgio, G., A.Lanzoni & A.Masetti. 2005. Spatial patterns and sampling plan for *Liriomyza huidobrensis* (Diptera : Agromyzidae) and related parasitoids on lettuce. *Environ. Entomol.* 34 : 178-183.
- Byers, G. 1989. Homologies in wing venation of primitive Diptera and Mecoptera. *Proc. Ent. Soc. wash.* 91: 497-501.
- Chalmers, N. R. 1996. Monitoring and inventorying biodiversity: collections, data and training. *In* Di Castri, F & T. Younes. 1996. Biodiversity science and development: toward a new partnership. CAB International, Wallingford, pp. 171-179.
- Chow, A. & K. M. Heinz. 2005. Using hosts of mixed sizes to reduce male-biased sex ratio in the parasitoid wasp, *Diglyphus isaea*: *Entomol. Exp. App.* 117: 193-199
- Chow, A. & K. M. Heinz. 2006. Control of *Liriomyza langei* on *Chrysanthemum* by *Diglyphus isaea* produced with a standard or modified parasitoid rearing technique. *J. Appl. Entomol.* 130 : 113-121
- Clarke, K.R. & R.N. Gorley. 2006. PRIMER v6 - User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK.

- De Carvalho, M. R., F. A. Bockmann, D. S. Amorim, M. De-Vivo, M. Toledo-Piza, N. A. Menezes, J. L. Figueredo, R. M. C. Castro, A. C. Gill, J. D. McEachran, L. J. V. Compagno, R. C. Schelly, R. Britz, J. G. Lungdberg, R. P. Vari & G. Nelson. 2005. Revisiting the taxonomic impediment. *Science* 307:353.
- Diniz-Filho, J. A. F. & O. Malaspina. 1995. Evolution and population structure of Africanized honey bees in Brazil: evidence from spatial analysis of morphometric data. *Evolution* 49:1172-1179.
- Dubuisson, M. P., A. K. Jain, & M. K. Jain. 1994. Segmentation and classification of bacterial culture imagens. *J. Microbiol. Meth.* 19: 279-295.
- Gaston, K. J. & M. A. O'Neill. 2004. Automated species identification: why not? *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 359:655-667.
- Godfray, H. C. J. 2002. Challenge for taxonomy. *Nature* 417:17-19.
- Haas, H. L. & K. A. Tolley. 1998. Geographic variation of wing morphology in tree Eurasian populations of the fruit fly, *Drosophila lummei*. *J. Zool. Lond.* 245: 197-203.
- Hawksworth, D. L. (org.). 1994. The identification and characterization of pest organisms. CAB International, Wallingford.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball & J. R. De Waard. 2003. Biological identification through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270: 313-321.
- Hebert, P. D. N. & T. R. Gregory. 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Syst. Biol.* 54: 852-859.
- Houle, D., J. Mezey, P. Galpern & A. Carter. 2003. Automated measurement of drosophila wings. *BMC Evol. Biol.* 3:25-38.
- Huxley, J. L. 1972. Problems of relative growth. 2a. ed. (reimpressão). Dover, New York.
- Knapp, S., R. M. Bateman, N. R. Chalmers, C. J. Humphries, P. S. Rainbow, A. B. Smith, P. D. Taylor, R. Vane-Wright & M. Wilkinson. 2002. Taxonomy needs evolution, not revolution. *Nature* 419:559.

- Latin, J. D. & L. Knutson. 1982. Taxonomic information and services on arthropods of importance to human welfare in Central and South America. FAO Plant Protection Bull. 30:92-95.
- Lewinsohn, T. M. 1988. Composição e tamanho de faunas associadas a capítulos de compostas. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- Lewinsohn, T. M. (org.). 2006. Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira. 2 vols. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- Lewinsohn, T. M., P. I. K. L. Prado & A. M. Almeida. 2001. Inventários bióticos centrados em recursos: insetos fitófagos e plantas hospedeiras. In: I. Garay & B. F. S. Dias (orgs.), Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais. Editora Vozes, Petrópolis, pp. 174-189.
- Mantel, N. A. 1967. The detection of disease clustering and generalized regression approach. Cancer Res. 27: 209-220.
- May, R. M. 1990. Taxonomy as destiny. Nature 347:129-130.
- McCune, B. & J. B. Grace. 2002. Analysis of Ecological Communities. MJM Software Design, Gleneden Beach, Oregon, EUA.
- McCune, B. & M. J. Mefford. 1999. PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data, Version 4. MJM Software Design, Gleneden Beach, Oregon, EUA.
- Miranda, P., R. S. Torres & A. X. Falcão. 2005. TSD: a shape descriptor based on a distribution of tensor scale local orientation. In: SIBGRAPI'05 (Anais XVIII Brazilian Symposium on Computer Graphics and Image Processing, Natal, RN, Brazil, 2005), p. 139-146
- Monteiro, L. & S. F. Dos Reis. 1999. Princípios de morfometria geométrica. Holos Editora, Ribeirão Preto. 188 pp.
- Peres-Neto, P. R. & D. A. Jackson. 2001. How well do multivariate data sets match? The advantages of a Procrustean superimposition approach over the Mantel test. Oecologia 129: 169-178.

- Prado, P. I., A. L. Norrbom & T. M. Lewinsohn. 2004. New species of *Tomoplagia* Coquillett (Diptera: Tephritidae) from capitula of Asteraceae in Brazil. Neotrop. Entomol. 33 : 189-211.
- Rohlf, F. J. 1999. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. J. Classific. 16 : 197-223.
- Rohlf, F. J. 2003. tpsSmall. Disponível em [http://life.bio.sunysb.edu/morph/ soft-tps.html](http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-tps.html)
- Rohlf, F. J. 2005. tpsDig2. Version 2.04. Disponível em <http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-dataacq.html>
- Rohlf, F. J. & J. W. Archie. 1984. A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (Diptera: Culicidae). Syst. Zool. 33: 302-317.
- Ross, H. H. 1965. A textbook of entomology. 3^a ed. John Wiley. New York, E.U.A.
- Shepard, B., M. Samsundin & A. R. Braun. 1998. Seasonal incidence of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids on vegetables in Indonesia. Int. J. Pest Manag. 44 :43-47.
- Simpson, R.; R. Williams, R. Ellis & P. F. Culverhouse. 1992. Biological pattern recognition by neural networks. Mar. Ecol. Prog. Ser. 79:303- 308.
- Sneath, P. H. A. & R. R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- Snodgrass, R. E. 1993. Principles of insect morphology. Cornell University Press, New York.
- Spencer, K. A. 1966. Notes on the Neotropical Agromyzidae (Diptera). Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia. Secretaria da Agricultura. São Paulo. 19:142-150.
- Spencer, K. A. 1973. The Agromyzidae (Diptera) of Venezuela. Rev. Fac. Agrom. VIII (2): 5-107.

- Spencer, K. A. 1987. Agromyzidae. in: McAlpine, J. F. (org.) Manual of Nearctic Diptera. Vol.2 Ottawa, Ontario.
- Spencer, K. A. 1990. Host specialization in the World Agromyzidae (Diptera). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Spencer, K. A. & C. E. Stegmaier. 1973. Agromyzidae of Florida with a Supplement on Species from the Caribbean. Arthropods of Florida and Neighboring Land Areas, Vol.7. Florida Dept. of Agriculture, Gainesville, Florida.
- Spencer, K. A. & G. C. Steyskal. 1986. Manual of the Agromyzidae (Diptera) of the United States. U. S. Department of Agriculture, Dep. Agr., Agriculture Handbook . nº 638. Washington D.C., E.U.A.
- Torres, R. da S. 2004. Um Ambiente de Gerenciamento de Imagens e Dados Espaciais para Desenvolvimento de Aplicações em Biodiversidade. Tese de Doutorado, Inst. Computação, Unicamp, Campinas.
- Torres, R. da S., A. X. Falcão & L. F. Costa. 2004. A graph-based approach for multiscale shape analysis. Pattern Recogn. 37 : 1163 – 1174
- Tricot, C. 1995. Curves and fractal dimension. Springer, Berlin.
- Van de Vooren, J. G.; G. Polder & G. W. A. M. Van de Heijden. 1992. Identification of mushroom cultivars using image analysis. Trans. ASAE. 35:347-350.
- Weeks, P. J. D. & K. J. Gaston. 1997. Image analysis, neural networks, and the taxonomic impediment to biodiversity studies. Biodivers. Conserv. 6:263-274.
- Weeks, P. J. D., M. A. O'Neill, K. J. Gaston & I. D. Gauld. 1999. Automating insect identification: exploring the limitation of a prototype system. J. Appl. Entomol. 123:1-8.
- Wheeler, Q. D., P. H. Raven & E. O. Willson. 2004. Taxonomy: impediment or expedient? Science 303:285.
- Yu, D. S., E. G. Kokko, J. R. Barron, G. B. Schaalje & B. E. Gowen. 1992. Identification of ichneumonid wasps using image analysis of wing. Syst. Entomol. 17: 389-395.

Zoebisch, T. G. & D. J. Schuster. 1987. Suitability of foliage of tomatoes and three weed hosts for oviposition and development of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae). J. Econ. Entomol. 80:758-762

Tabela 1. Estudos de identificação de espécies, semi-automatizados ou automatizados, baseados em caracteres morfológicos (adaptado de Gaston & O'Neill 2004). O sucesso de cada análise é a porcentagem de indivíduos identificados de forma correta.

* referências em Gaston & O'Neill 2004

taxon	estrutura	número de espécies	sucesso (%)	referência *
Abelhas	várias	1 (2 sub-espécies)	96	Daly et al. (1982)
plantas	pólen	6	>87	Longford et al. (1990)
algas	células	8	>90	Balfoort et al. (1992)
fungos	esporos	1 (8 sub-espécies)	80	Van de Voener et al. (1992)
vespas	asa	5	100	Yu et al. (1992)
fitoplâncton	células	40	>70	Boddy et al. (1994)
dinoflagelados	células	23	56-83	Culverhouse et al. (1996)
fitoplâncton	células	9/14	>83	McCall et al. (1996)
fungos	esporos	16/19	63-79	Morgan et al. (1998)
fitoplâncton	células	5	>90	Pech-Pacheco & Alvarez-Borrego (1998)
aranhas	genitália	6	81	Do et al. (1999)
vespas	asa	5	94	Weeks et al. (1997, 1999a)
mosquitos	asa	49	86	Weeks et al. (1999b)
fitoplâncton	células	34	92	Wilkins et al. (1999)
fitoplâncton	células	62-72	70-77	Boddy et al. (2000)
plantas	pólen	3	83	France et al. (2000)
besouros	asa	15	40-46	Gauld et al. (2000)
abelhas	asa	1 (2 sub-espécies)	100	Gauld et al. (2000)
mosquitos	asa	2	>98	Gauld et al. (2000)
abelhas	asa	4	>95	Arbuckle et al. (2001)
macrolepidopteros	asa	35	83	Watson et al. (2003)

Tabela 2. Número de indivíduos, de cada espécie do gênero *Melanagromyza*, utilizadas nas metodologias de Análise de forma (AF) e Morfometria geométrica (MG).

espécie	Nº de indivíduos
<i>Melanagromyza bidentis</i>	35
<i>Melanagromyza erechitidis</i>	6
<i>Melanagromyza neotropica</i>	27
<i>Melanagromyza floris</i>	9
<i>Melanagromyza minima</i>	8
<i>Melanagromyza</i> sp 1	2
<i>Melanagromyza</i> sp 2	8
<i>Melanagromyza</i> sp 3	19
<i>Melanagromyza</i> sp 4	2
total	116

Tabela 3. Variância extraída dos seis primeiro eixos pela Análise de Componentes principais (PCA) das medidas morfológicas corpóreas (MMC) transformadas. Autovalor relativizado é o autovalor do eixo dividido pelo valor esperado conforme uma distribuição “broken-stick”.

Eixo	autovalor	% de variação	% de variação acumulada	Autovalor relativizado
1	4.479	74.649	74.649	2.450
2	0.885	14.746	89.396	1.450
3	0.475	7.920	97.315	0.950
4	0.101	1.680	98.996	0.617
5	0.032	0.529	99.525	0.367
6	0.028	0.475	100.000	0.167

Tabela 4. Análise de congruência entre as matrizes de dissimilaridade produzidas por cinco métodos de estimativa de semelhança. Valor de coeficiente de Mantel ‘r’ (triângulo superior) e probabilidade associada ‘p’ (triângulo inferior) obtido através de teste de Mantel entre cada par de matrizes de dissimilaridade entre 116 indivíduos de *Melanagromyza* spp.

	MMC	MG	BAS	FRAC	TSD
MMC		0.249	0.062	0.084	0.084
MG	0.0002		0.039	0.117	0.013
BAS	0.04	0.16		0.037	0.347
FRAC	0.03	0.01	0.17		0.042
TSD	0.01	0.38	0.0002	0.15	

Tabela 5. Códigos e símbolos das espécies utilizadas nas análises de ordenação e agrupamento.

Códigos e símbolos	espécies
 bid	<i>Melanagromyza bidentis</i>
 ere	<i>Melanagromyza erechitidis</i>
 neo	<i>Melanagromyza neotropica</i>
 flo	<i>Melanagromyza floris</i>
 min	<i>Melanagromyza minima</i>
 sp1	<i>Melanagromyza</i> sp 1
 sp2	<i>Melanagromyza</i> sp 2
 sp3	<i>Melanagromyza</i> sp 3
 sp4	<i>Melanagromyza</i> sp 4
 cmelmi	espécies do complexo <i>Melanagromyza minimoides</i> : <i>Melanagromyza</i> sp 1, sp 2, sp 3 e sp 4.

Tabela 6. Porcentagem de indivíduos das espécies de *Melanagromyza* agrupados pela análise de agregação em diferentes níveis de dissimilaridade (a. 1,8; b. 3), através da metodologia MMC. outlier – porcentagem de indivíduos que não foram agrupados. Os grupos (G) formados não são iguais em todas as metodologias utilizadas. Os valores em negrito são das espécies que apresentaram ao menos 70% dos indivíduos representados em um mesmo grupo.

a	espécie	a	b	c	d	e	f	gl	outlier
	<i>M. neotropica</i>	7,5	74		18,5				
	<i>M. floris</i>			78		22			
	<i>M. minima</i>				57	43			3
	<i>M. erechitidis</i>	17			83				
	<i>M. bidentis</i>				2	87,5		7,5	
	<i>Melanagromyza</i> sp1			50		50			
	<i>Melanagromyza</i> sp2						75		25
	<i>Melanagromyza</i> sp3				5	63,5	31,5		
	<i>Melanagromyza</i> sp4					50	50		

b	espécie	1	2	outlier
	<i>M. neotropica</i>		100	
	<i>M. floris</i>		100	
	<i>M. minima</i>	22	88	
	<i>M. erechitidis</i>	42	56	
	<i>M. bidentis</i>	95	2	3
	<i>Melanagromyza</i> sp1	50	50	
	<i>Melanagromyza</i> sp2	75		25
	<i>Melanagromyza</i> sp3	95	5	
	<i>Melanagromyza</i> sp4	100		

Tabela 7. Porcentagem de indivíduos das espécies de *Melanagromyza* agrupados pela análise de agregação no nível de dissimilaridade 4,2, através da metodologia MG. outlier – porcentagem de indivíduos que não foram agrupados.

espécie	a	b	c	d	e	f	outlier
<i>M. neotropica</i>			81	16			
<i>M. floris</i>		4	70	26			3,5
<i>M. minima</i>						100	
<i>M. erechitidis</i>		24	24		49		3
<i>M. bidentis</i>	50	50					
<i>Melanagromyza</i> sp1	22	55,5	11				12,5
<i>Melanagromyza</i> sp2	17,5	58	24,5				
<i>Melanagromyza</i> sp3	100						
<i>Melanagromyza</i> sp4	11	70	8		5,5	2,5	3

Tabela 8. Porcentagem de indivíduos das espécies de *Melanagromyza* agrupados pela análise de agregação em diferentes níveis de dissimilaridade (nd), através de análise de forma (AF) com diferentes descritores. a. BAS, nd =4; b. FRAC, nd = 0,035 e c. TSD, nd = 0,165. outlier – porcentagem de indivíduos que não foram agrupados.

a

espécie	GI	GII	GIII	GIV	GV	GVI	GVII	outlier
<i>M. neotropica</i>		7	19	11	22,6	14,5	18,5	7,4
<i>M. floris</i>			22,5	22,5	22,5	22,5		10
<i>M. minima</i>		13,5		13,5	42	28		3
<i>M. erechitidis</i>		33		33		17	17	
<i>M. bidentis</i>	2,5	8	11	33	26	11	2,5	6
<i>Melanagromyza</i> sp1					50	50		
<i>Melanagromyza</i> sp2	25			37,5	25	12,5		
<i>Melanagromyza</i> sp3	10,5	10,5	10,5	21	10,5	32		5
<i>Melanagromyza</i> sp4	50			50				

b

espécie	GI	GII	GIII	GIV	GV	outlier
<i>M. neotropica</i>	18,5	77,5		4		
<i>M. floris</i>	11,5		11,5	67		10
<i>M. minima</i>			12,5	12,5	25	50
<i>M. erechitidis</i>		100				
<i>M. bidentis</i>	8,5	49	8	8	23,5	3
<i>Melanagromyza</i> sp1			50	50		
<i>Melanagromyza</i> sp2		27,5	7,5	27,5		37,5
<i>Melanagromyza</i> sp3	15,5	49	4,5	21,5	4,5	5
<i>Melanagromyza</i> sp4					50	50

c

espèce	GI	GII	GIII	GIV	GV	GVI	GVII	outlier
<i>M. neotropica</i>	4	12,5	16,5	8	12,5	30	16,5	
<i>M. floris</i>	22	34	22			22		
<i>M. minima</i>			12,5		25	12,5	50	
<i>M. erechitidis</i>	33	17	33		17			
<i>M. bidentis</i>	3	20	23	23	8	3	17	3
<i>Melanagromyza</i> sp1		100						
<i>Melanagromyza</i> sp2		25		25	25		25	
<i>Melanagromyza</i> sp3	4,5	21	32	21			16,5	5
<i>Melanagromyza</i> sp4	50			50				

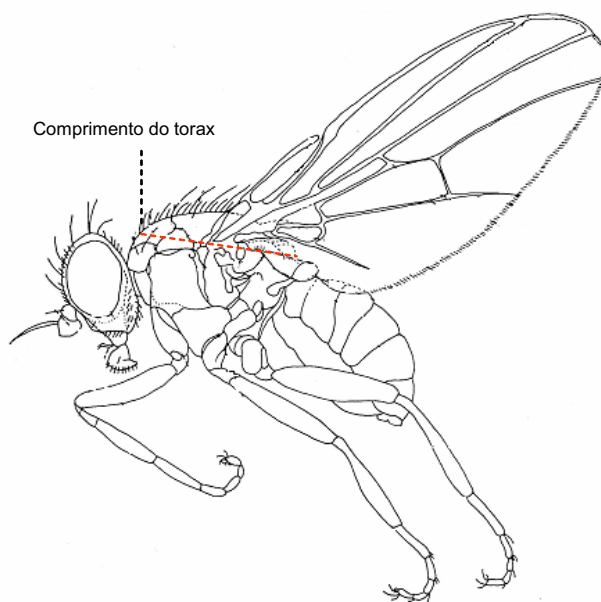
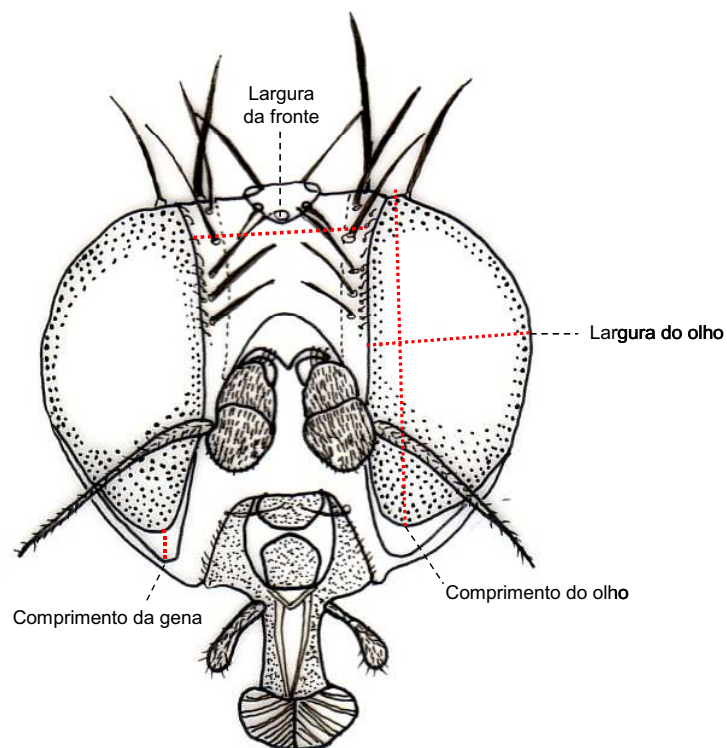


Figura 1. Medidas morfológicas corporais (MMC) realizadas nos 116 indivíduos do gênero *Melanagromyza*.

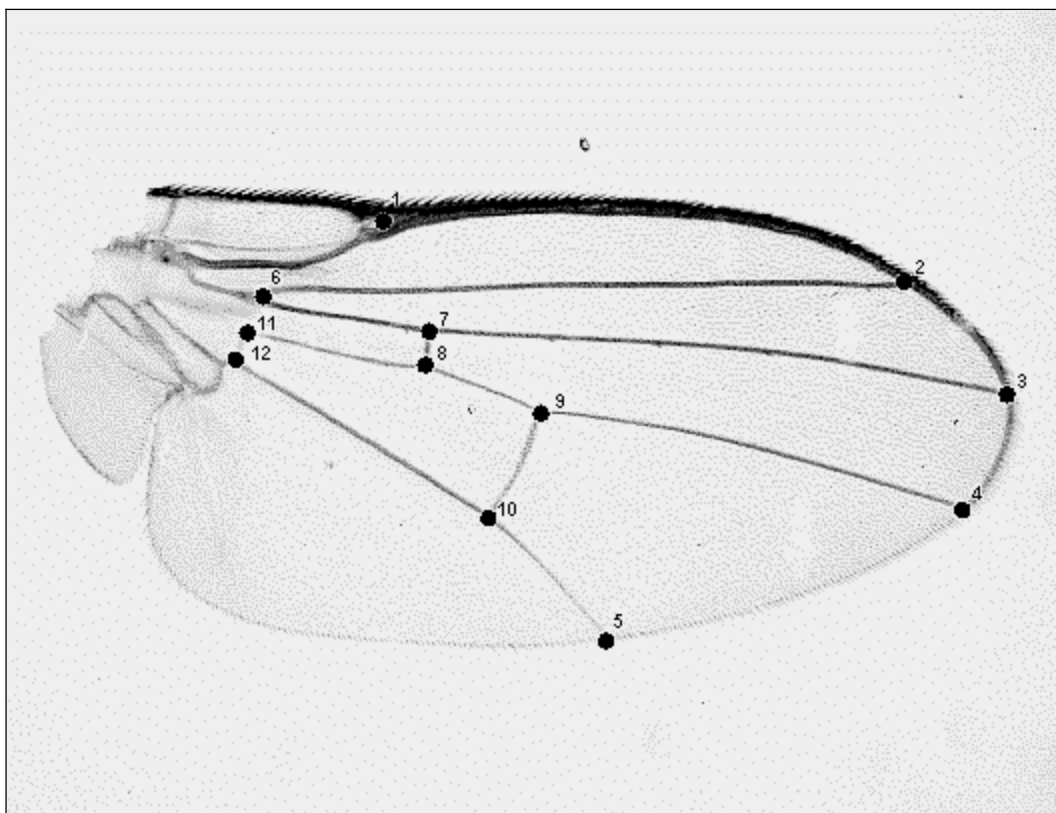


Figura 2. Asa esquerda de *Melanagromyza* spp. e os 12 pontos (*landmarks*) homólogos em todas as 116 asas, utilizados na análise de Morfometria geométrica (MG).

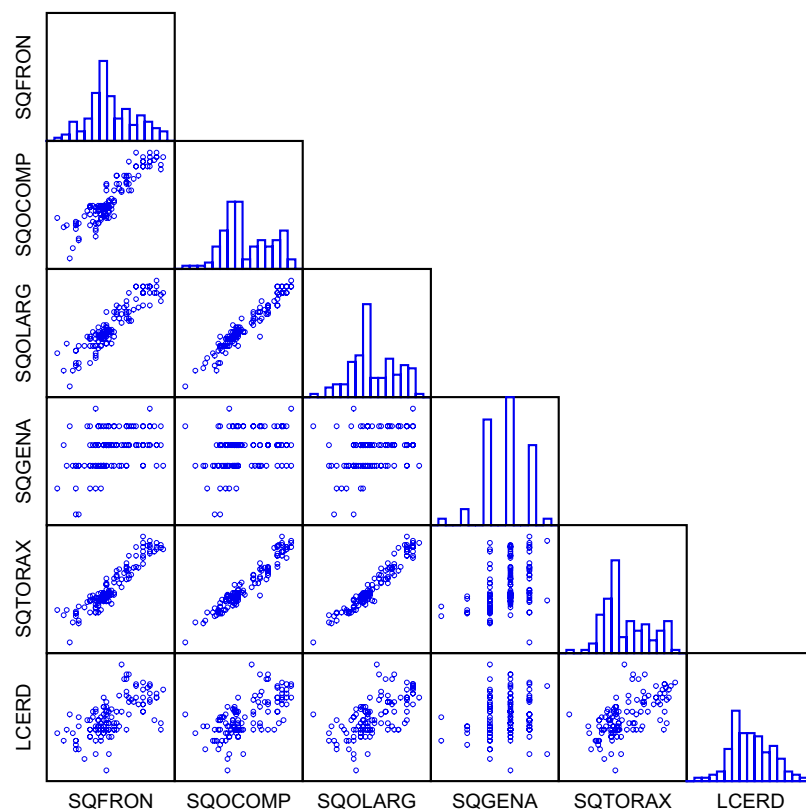


Figura 3. Correlação entre as medidas morfológicas corporais (MMC), transformadas. Raiz quadrada de largura da fronte (sqfron), comprimento e largura do olho (sqcomp e sqlarg), comprimento de gena (sqgena) e comprimento do tórax (sqtorax) e logaritmo do número de cerdas no epândrio (lcerd).

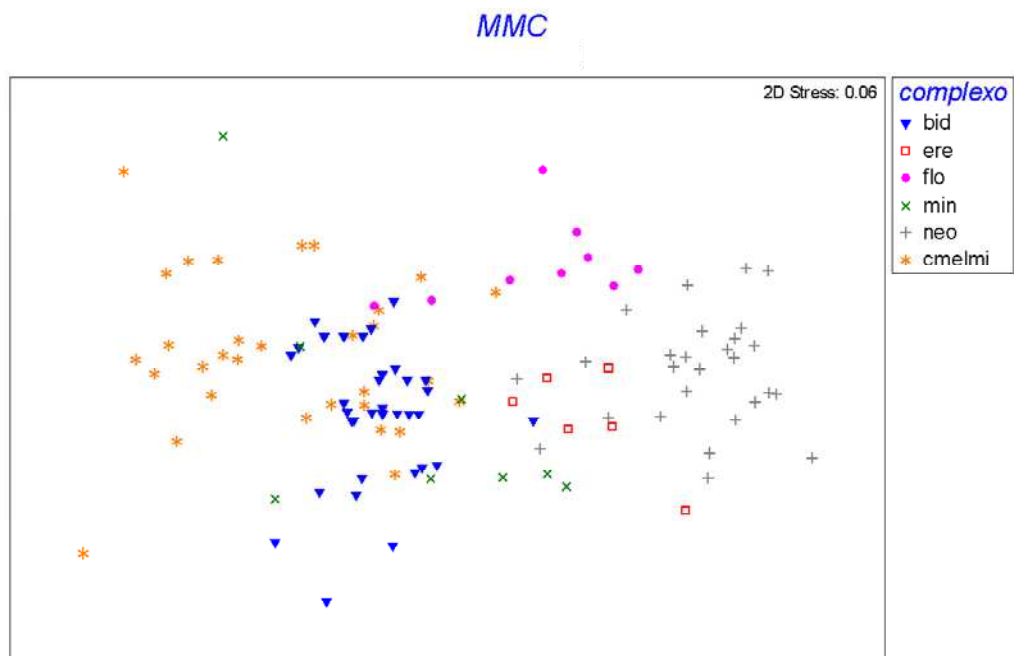


Figura 4. Ordenação por NMDS dos 116 indivíduos, de cinco espécies de *Melanagromyza* e do complexo *Melanagromyza minimoides*, com base em suas medidas morfológicas corporais (MMC)

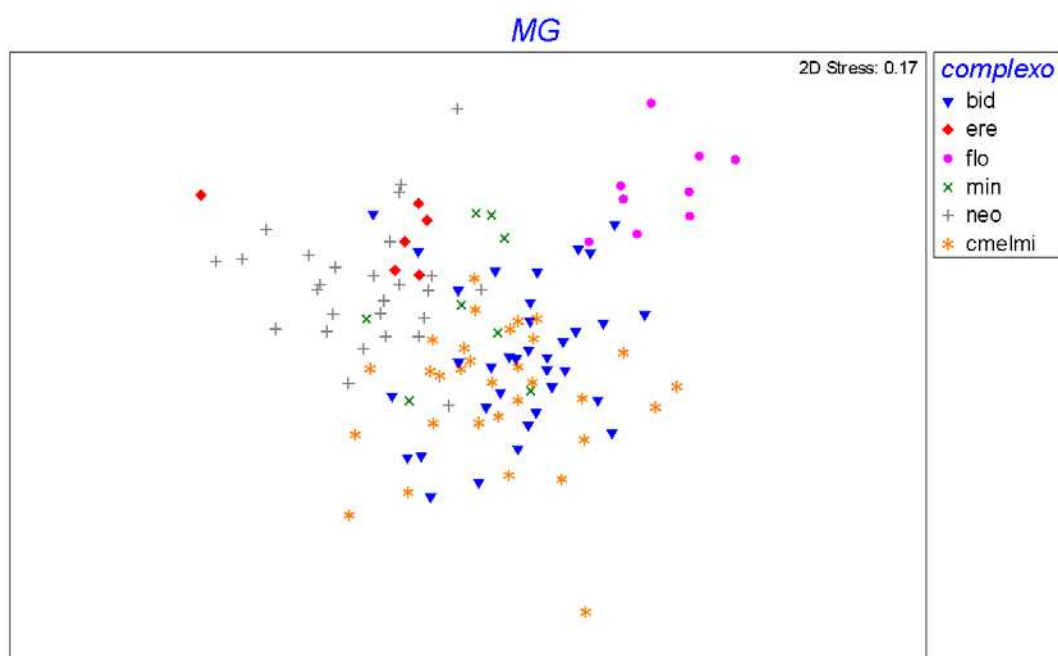


Figura 5. Ordenação por NMDS dos 116 indivíduos, de cinco espécies de *Melanagromyza* e do complexo *Melanagromyza minimoides*, pela metodologia de Morfometria geométrica (MG).

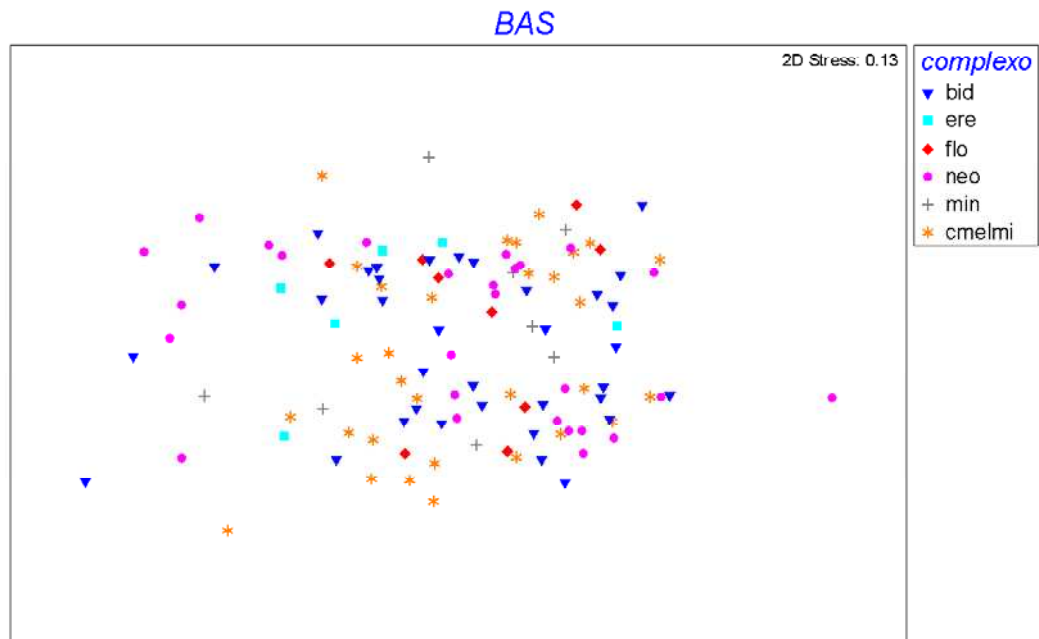


Figura 6. Ordenação por NMDS dos 116 indivíduos, de cinco espécies de *Melanagromyza* e do complexo *Melanagromyza minimoides*, a partir de sua similaridade por Análise de forma (AF) com o descritor BAS.

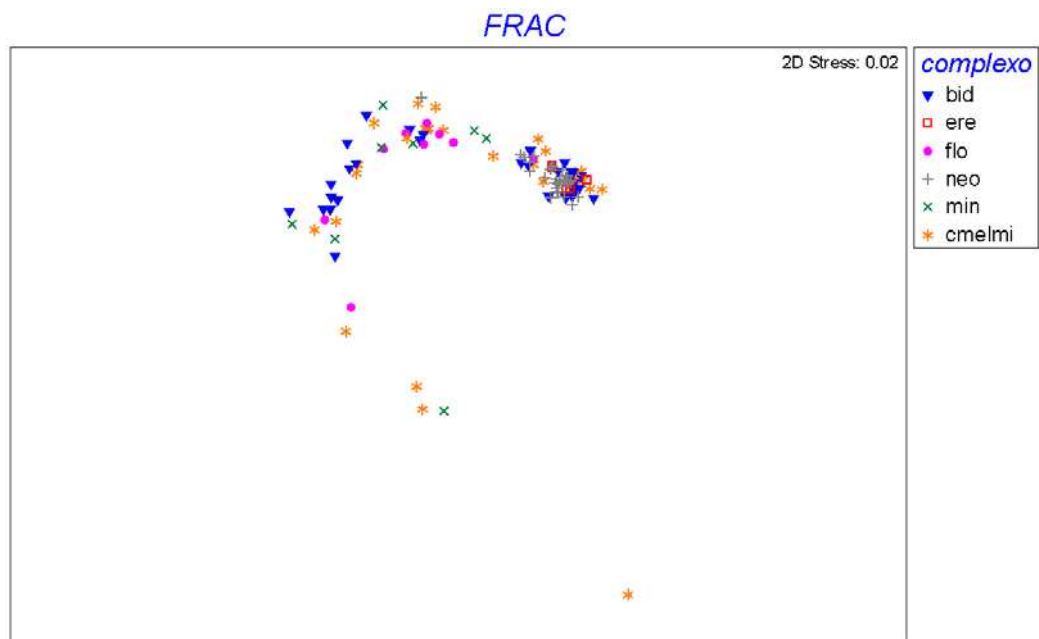


Figura 7. Ordenação por NMDS dos 116 indivíduos, de cinco espécies de *Melanagromyza* e do complexo *Melanagromyza minimoides*, a partir de sua similaridade por Análise de forma (AF) com o descritor FRAC.

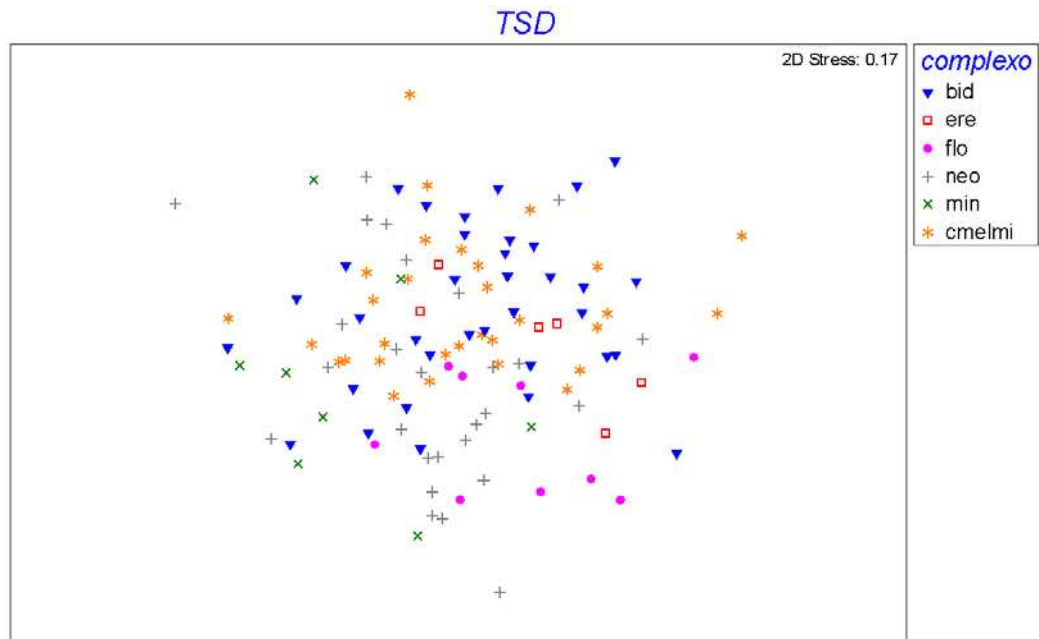


Figura 8. Ordenação por NMDS dos 116 indivíduos, de cinco espécies de *Melanagromyza* e do complexo *Melanagromyza minimoides*, a partir de sua similaridade por Análise de forma (AF) com o descritor TSD.

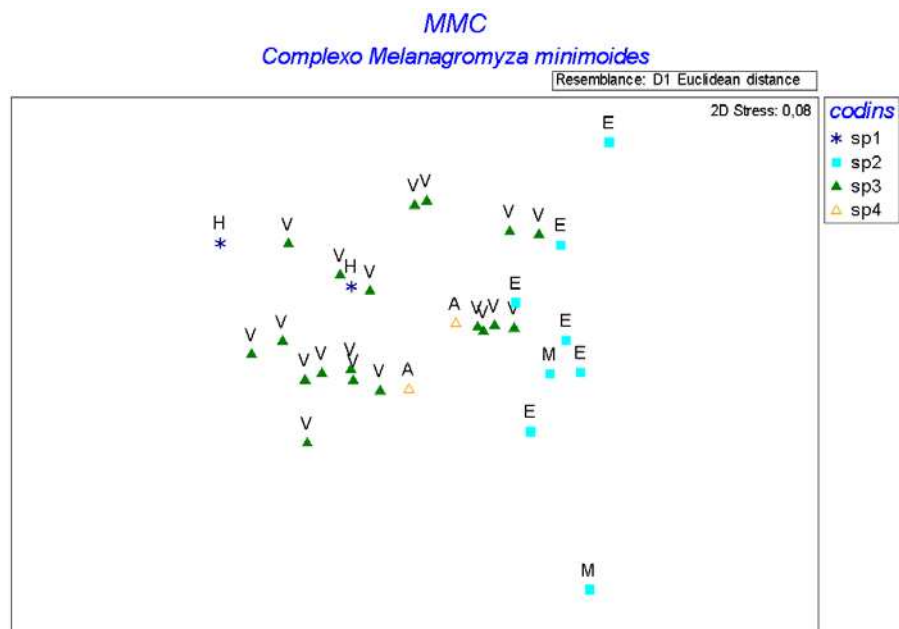


Figura 9. Ordenação de 39 indivíduos do complexo *Melanagromyza minimoides* e a tribo de suas plantas hospedeiras. A, Astereae; E, Eupatorieae; H, Heliantheae; M, Mutisiae e V, Vernonieae.

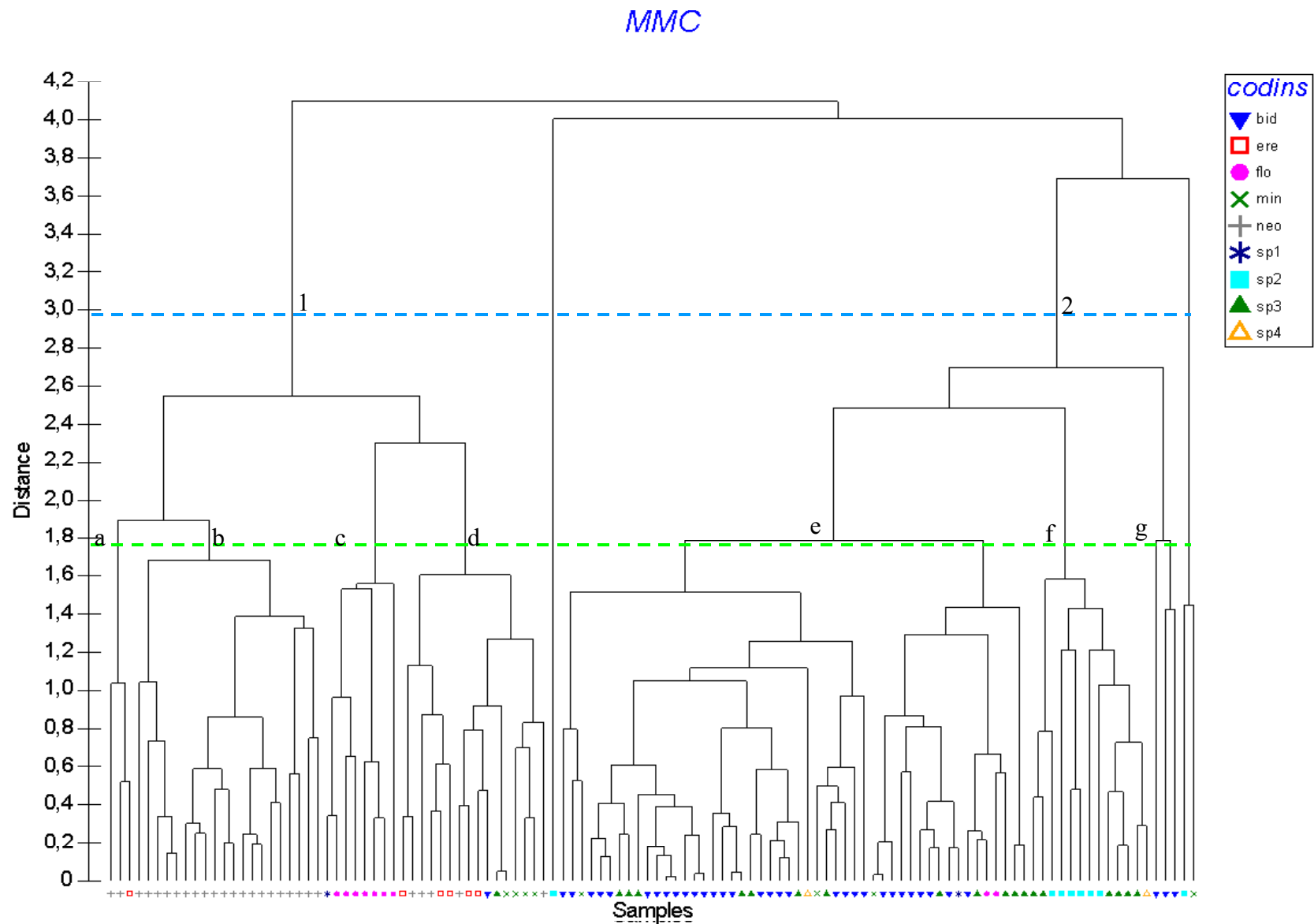


Figura 10. Agrupamento dos 116 indivíduos, das nove espécies de *Melanagromyza*, pela metodologia de Medidas morfológicas corporais (MMC). As linhas marcadas nos níveis de dissimilaridade de 1,8 e 3 foram utilizadas na sobreposição com a análise de ordenação e na formação dos grupos (G) formados.

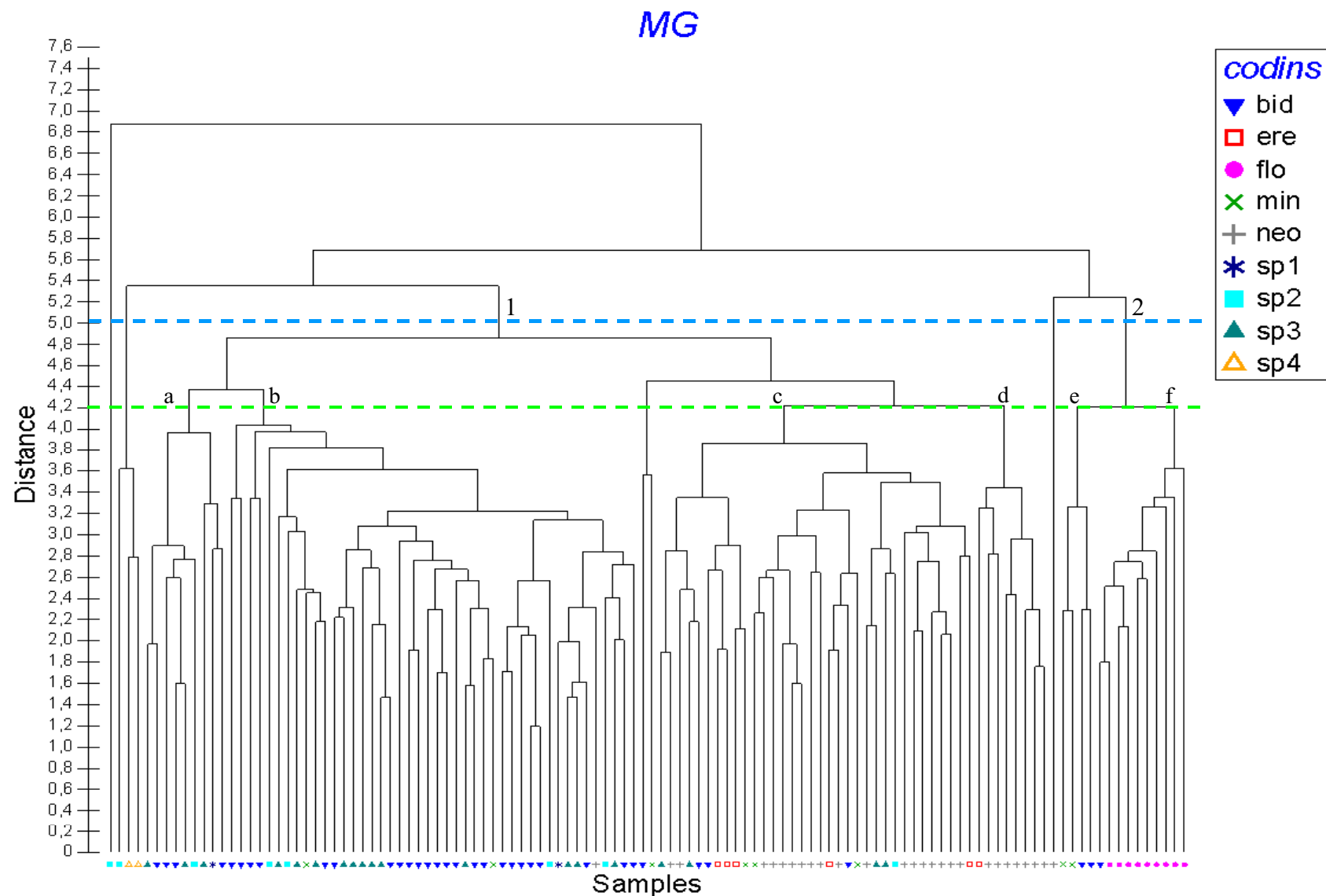


Figura 11. Agrupamento dos 116 indivíduos das nove espécies de *Melanagromyza* pela metodologia de Morfometria geométrica (MG). As linhas marcadas nos níveis de dissimilaridade de 4,2 e 5 foram utilizadas na sobreposição com a análise de ordenação. O nível de 4,2 foi utilizado também na formação dos grupos (GI a GVI).

MMC

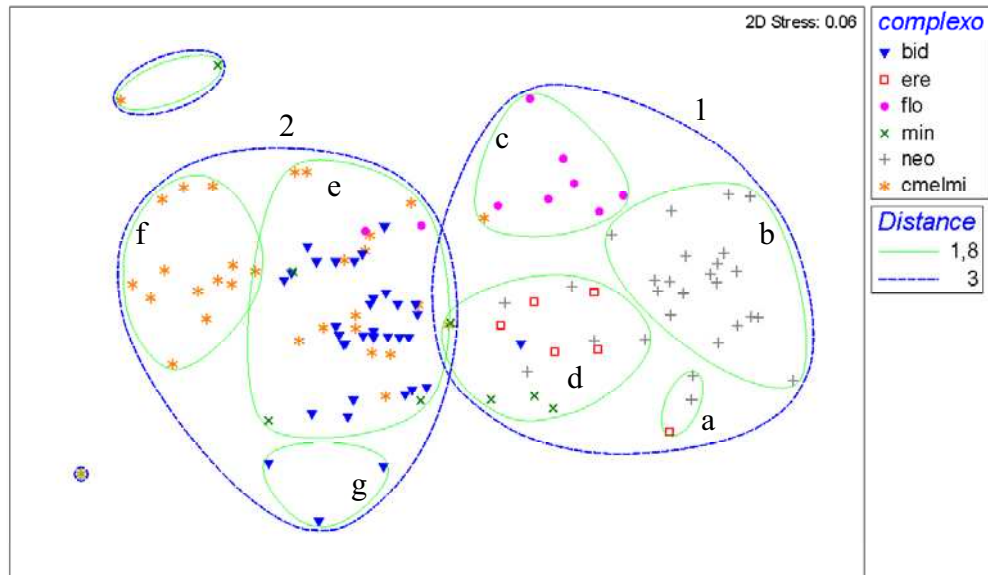


Figura 12. Ordenação por NMDS de indivíduos de 6 espécies de *Melanagromyza* spp, conforme distância euclidiana de suas medidas corporais (MMC). Os contornos tracejados circunferem indivíduos cuja distância é inferior aos valores de referência indicados na legenda.

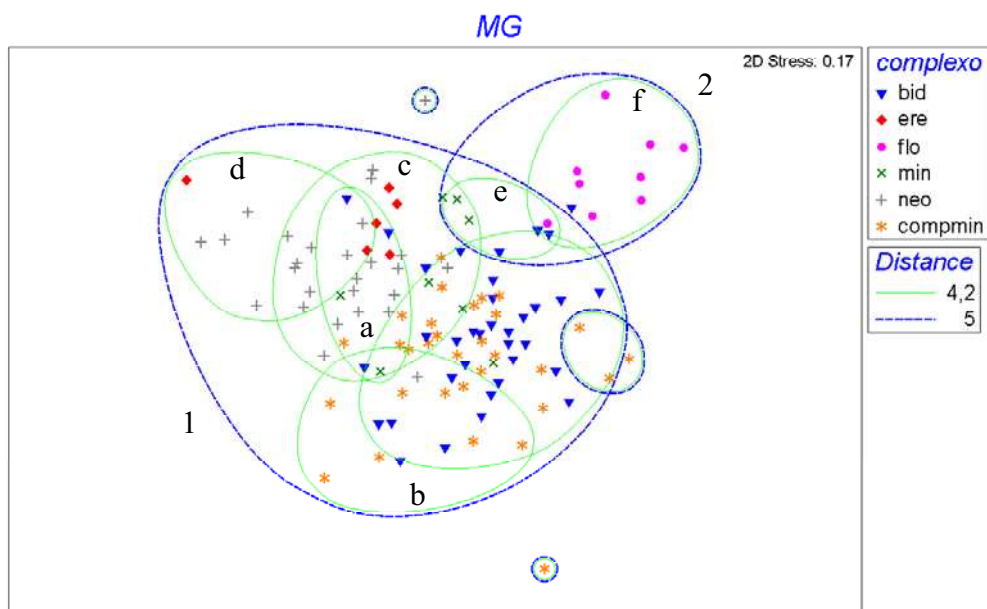


Figura 13. Ordenação por NMDS de indivíduos de 6 espécies de *Melanagromyza* spp, conforme suas semelhanças a partir de morfometria geométrica (MG). Os contornos tracejados circunferem indivíduos cuja distância é inferior aos valores de referência indicados na legenda.

Conclusões finais

Como mostramos (Capítulos 1 e 2) a maioria das espécies de agromizídeos associadas a capítulos de asteráceas é especialista no uso de suas hospedeiras. Dentre as espécies oligófagas e polífagas, observamos alguns casos de especialização local. Além disto, mesmo em casos onde localmente observa-se polifagia, o uso das plantas hospedeiras é diferencial, e não responde apenas à abundância local das plantas hospedeira.

Levando em consideração a alta diversidade de espécies de Asteraceae nas regiões neotropicais, que são potencialmente hospedeiras de agromizídeos endófagos de capítulos, e a alta especialização alimentar da maioria das espécies da família Agromyzidae, podemos supor que conhecemos apenas uma pequena porcentagem das espécies de agromizídeos endófagos de capítulos de asteráceas. Note-se que 43% das espécies encontradas, neste estudo, nos remanescentes de cerrados de São Paulo ainda não foram descritas.

No terceiro capítulo podemos concluir que a metodologia mais promissora para auxiliar a classificação (identificação) de espécies de *Melanagromyza* foi a de análise fenética baseada em medidas corporais externas

Apesar de ter se mostrado a mais eficiente na classificação do conjunto de indivíduos de *Melanagromyza* aqui estudados, esta metodologia não permite a separação e identificação autônoma taxonômica. O acréscimo de outras variáveis deve aumentar a eficiência deste método. Isto, por sua vez, pode se mostrar de grande importância, pois a sistemática atual desta família depende criticamente da morfologia do aparelho reprodutor masculino. Uma metodologia alternativa de

identificação, além de agilizar a identificação dos machos, talvez amplie a possibilidade de identificação de fêmeas. Isto seria um importante ganho para estudos sobre a biologia e ecologia dos agromizídeos e sua aplicação ao conhecimento de espécies pragas de plantas cultivadas ornamentais e comestíveis, de grande importância econômica, que pertencem a esta família.