

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 14/08/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Guilherme Matheus Amaro

História de vida, relações reprodutivas e alométricas no subgrupo *elliptica*
de *Drosophila*, espécies neotropicais com edeagos gigantes.

São José do Rio Preto
2023

Guilherme Matheus Amaro

História de vida, relações reprodutivas e alométricas no subgrupo *elliptica* de *Drosophila*, espécies neotropicais com edeagos gigantes.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lilian Madi-Ravazzi

São José do Rio Preto
2023

A485h Amaro, Guilherme Matheus
 História de vida, relações reprodutivas e alométricas no subgrupo
 elíptica de *Drosophila*, espécies neotropicais com edeagos gigantes. /
 Guilherme Matheus Amaro. -- São José do Rio Preto, 2023
 84 p.

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
 Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio
 Preto
 Orientadora: Lilian Madi Ravazzi

 1. Evolução. 2. *Drosófila*. 3. Genética animal. 4. Alometria. 5.
 Orgãos reprodutores. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Guilherme Matheus Amaro

História de vida, relações reprodutivas e alométricas no subgrupo *elliptica* de *Drosophila*, espécies neotropicais com edeagos gigantes.

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof^ª. Dr^ª. Lilian Madi-Ravazzi
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientadora

Prof. Dr. Mauricio Osvaldo Moura
UFPR - Universidade Federal do Paraná

Prof. Dr. Rogério Pincela Mateus
UNICENTRO - Universidade Estadual do Centro-Oeste

São José do Rio Preto
2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais **Carmen** e **José** por sempre me apoiarem na minha jornada e a toda a minha família, em especial ao meu irmão **Gustavo Matheus Amaro** que me ajudou a solucionar algumas dificuldades que eu tive durante o meu Mestrado, apesar de não trabalharmos na mesma área.

À minha orientadora **Profa Dra. Lilian Madi-Ravazzi** por ter acreditado em mim e me dado uma oportunidade de desenvolver esse trabalho que contribuiu significativamente para o meu crescimento pessoal e profissional, além de todo o conhecimento que me passou desde a Graduação até o Mestrado.

A todos os membros do **Laboratório de Biologia Evolutiva em Insetos** que conviveram comigo durante todo esse tempo e me ajudaram em diversos momentos, me dando apoio e conforto. Obrigado **Bruna Emília** por sempre ter me apoiado mesmo na correria do seu doutorado me ensinando diversas coisas que foram de suma importância para o desenvolvimento do meu projeto. Obrigado **Carolina Prediger** por também ter me ajudado muito, assim como sua contribuição valiosa para o meu trabalho que sem dúvidas foi essencial para a realização do mesmo. Obrigado **Natália Francielle**, técnica do laboratório durante o primeiro ano do meu mestrado, que me auxiliou muito tanto na realização de experimentos como serviços que me forneceram o total amparo e apoio! A sua contribuição foi muito valiosa e importante, sem ela eu não teria conseguido realizar tantos experimentos que envolviam cruzamentos. Gostaria de agradecer também a **Nathalia Bertoni** e ao **Rodrigo Barbarotti**, técnicos durante meu segundo ano de mestrado, que também me auxiliaram de diversas formas e permitiram com que eu desenvolvesse a parte experimental do meu trabalho com muita segurança. Agradeço também a **Ana Carla**, membro recente do laboratório, que foi uma companhia muito agradável e que também me ajudou em diversos momentos. Todos, sem exceção, contribuíram muito para a minha formação e considero como amigos queridos que a pós-graduação me trouxe.

A todos os meus amigos que me acompanharam nessa jornada e me ofereceram total suporte nessa etapa que foi muito gratificante. Ao meu grupo de amigos do ensino médio (**divinos**) que estão comigo há décadas e sempre torceram pelo meu sucesso profissional e pessoal.

À **Lais Caldas Pescarmona**, parceira de graduação que esteve comigo desde o início da minha formação e sempre acreditou em mim e no meu potencial. Agradeço por estar ao meu

lado durante todos os momentos e por ser essa pessoa tão leve que me traz muita alegria. Obrigado também à sua mãe, **Lia Caldas** por todo carinho e apoio.

À **Vitória Navarrete**, o maior presente que a graduação me trouxe e uma das pessoas que eu mais admiro. Começamos o mestrado juntos, então você entendia exatamente como eu me sentia em certos momentos e sempre me trouxe conforto. Obrigado por sempre estar ao meu lado todos esses anos, me apoiar e me entender como ninguém. Uma mulher forte como você me faz acreditar que tudo é possível.

Ao meu melhor amigo e uma das minhas pessoas favoritas, **Yuri Stamillo**. Obrigado por sempre estar comigo durante todos esses anos e me apoiar em absolutamente todas as etapas da minha vida. Desde o ensino fundamental ao mestrado você acreditou em mim em momentos que às vezes nem eu acreditava. Agradeço o carinho e apoio todos esses anos, apesar da distância você sempre esteve presente e serei sempre grato por isso. Obrigado por todas as conversas, por todos os conselhos, por toda a ajuda, pelas risadas, pelas broncas, pelas fofocas, pelos momentos icônicos, pela parceria, por estar ao meu lado quando mais precisei e sempre torcer por mim.

Às professoras que participaram da minha banca de qualificação **Profa. Dra. Claudia Carareto** e **Profa. Dra. Luciana Machado** pelas contribuições valiosíssimas que permitiram com que eu aprimorasse ainda mais o meu trabalho.

Agradeço ao **Prof. Dr. Luis Gustavo Galego** que também contribuiu com meu trabalho me ajudando em algumas análises, além de sempre estar presente me motivando e acreditando no meu potencial desde a minha Iniciação Científica.

Aos funcionários do **Departamento de Biologia** e da **Seção de Pós-Graduação** que me ajudaram indiretamente e diretamente durante esses dois anos. E a todos os outros funcionários do **IBILCE** que fizeram parte do meu dia-a-dia.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O subgrupo *elliptica* do grupo *saltans* de *Drosophila* é composto por quatro espécies neotropicais as quais apresentam uma característica notável: o gigantismo fálico. A escassez de estudos para esse subgrupo e a presença de edeagos com tamanhos incomuns, não observado para outras espécies da família Drosophilidae motivou o presente estudo. Os principais objetivos foram: avaliar a história de vida, as barreiras reprodutivas das espécies *D. emarginata*, *D. neoelliptica* e *D. neosaltans* (2 linhagens) e a alometria estática no subgrupo. Os parâmetros da história de vida investigados foram: tempo de corte e cópula, fecundidade, fertilidade, tempo de desenvolvimento e longevidade. As barreiras reprodutivas foram avaliadas por meio de intercruzamentos recíprocos entre as espécies. Para a análise morfométrica e de alometria foram realizadas medições individuais de machos e fêmeas do tórax, asa, edeagos e ovipositores. Os resultados para os traços biológicos demonstraram que *D. neosaltans* diferiu significativamente das outras duas espécies para o tempo médio de cópula, fertilidade e fecundidade. Além disso, *D. neoelliptica* apresentou o tempo de desenvolvimento superior às demais espécies e houve diferença significativa na sobrevivência entre machos e fêmeas. Nos intercruzamentos não foi observado cópula, espermatozoides na espermateca e geração de descendentes, sugerindo isolamento pré-zigótico entre elas. Foi observado também que as espécies do subgrupo *elliptica* se desviam do padrão alométrico geral encontrado na família, com o edeago correspondendo a 1/2 do tamanho do corpo dos machos em *D. emarginata* e a observação de um alto coeficiente de variação (CV) no edeago sugere a influência da seleção sexual na evolução do órgão. Dessa forma, os dados desse trabalho sugerem que há diferença no parâmetro reprodutivo e de sobrevivência dessas espécies, sendo que o isolamento reprodutivo entre elas é observado. As espécies do subgrupo *elliptica* fogem do padrão encontrado em Drosophilidae e o edeago foi a estrutura morfológica que obteve uma grande variação, ao contrário do ovipositor, sugerindo que a seleção sexual pode ter tido influência na evolução na morfologia distinta dessa estrutura fálica. Não foi observado a coevolução do tamanho dos órgãos reprodutores nas espécies analisadas.

Palavras-chave: Alometria estática. Bionomia. Evolução da genitália. Gigantismo fálico. Isolamento reprodutivo.

ABSTRACT

The *elliptica* subgroup of the *saltans* group of *Drosophila* is composed of four neotropical species which have a notable feature: phallic gigantism. The lack of studies for this subgroup and the presence of aedeagus with unusual sizes, not observed for other species of the Drosophilidae family, motivated the present study. The main objectives were: to evaluate the life history, the reproductive barriers of the species *D. emarginata*, *D. neoelliptica* and *D. neosaltans* (2 strains) and the static allometry in the subgroup. The life history parameters investigated were: courtship and copulation time, fecundity, fertility, developmental time and longevity. The reproductive barriers were tested through intercrosses between species in both directions. For the morphometric and allometry analysis, individual measurements of males and females of the thorax, wing, aedeagus and ovipositors were made. The results for biological traits showed that *D. neosaltans* differed significantly from the other two species in terms of mean copulation time, fertility and fecundity. In addition, *D. neoelliptica* presented a longer development time than the other species and significant difference in survival between males and females was obtained. In the intercrosses, copulation, spermatozoa in the spermatheca and generation of descendants were not observed, suggesting pre zygotic isolation between them. It was also observed that the species of the *elliptica* subgroup deviate from the general allometric pattern found in the family, with the aedeagus corresponding to 1/2 of the body size of the males in *D. emarginata* and the observation of a high coefficient of variation (CV) in the aedeagus suggests the action of sexual selection in the evolution of the organ. Thus, the data from this work suggest that there is a difference in the reproductive and survival parameters of these species, and the reproductive isolation between them is observed. The species of the *elliptica* subgroup deviate from the pattern found in Drosophilidae and the aedeagus was the morphological structure that obtained a great variation, unlike the ovipositor, suggesting that sexual selection may have influenced the evolution of the distinct morphology of this phallic structure. The reproductive organs' size coevolution doesn't occur.

Keywords: Bionomy. Genitalia Evolution. Phallic gigantismo. Reproductive isolation. Static allometry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Medições corporais realizadas nas espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	31
Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura dos edeagos das espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	32
Figura 3. Fertilidade média das espécies do subgrupo <i>elliptica</i> durante 7 dias.	36
Figura 4 – Longevidade de fêmeas (curva com esferas vermelhas) e machos (curva com quadrados verdes) espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	37
Figura 5 – Gráfico de alometria estática do comprimento do ovipositor, edeago e asas em relação ao comprimento do tórax em <i>Drosophila emarginata</i> .	43
Figura 6 – Gráfico de alometria estática do comprimento do ovipositor, edeago e asas em relação ao comprimento do tórax em <i>Drosophila neoelliptica</i> .	44
Figura 7 – Gráfico de alometria estática do comprimento do ovipositor, edeago e asas em relação ao comprimento do tórax em <i>Drosophila neosaltans</i> (Aguai).	45
Figura 8 – Gráfico de alometria estática do comprimento do ovipositor, edeago e asas em relação ao comprimento do tórax em <i>Drosophila neosaltans</i> (Ouro Preto).	46
Figura 9 – Análise de Componentes Principais das características morfológicas (asa, tórax, edeago e ovipositor) de machos e fêmeas do subgrupo <i>elliptica</i> .	48
Figura 10 – Casais em cópula de <i>D. emarginata</i> .	49
Figura 11 – Casais em cópula de <i>D. neoelliptica</i> .	50
Figura 12 – Casais em cópula de <i>D. neosaltans</i> .	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Linhagens e procedência geográfica das espécies do subgrupo <i>elliptica</i> de <i>Drosophila</i> .	26
Tabela 2 – Média e desvio padrão do tempo da corte e cópula nas espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	34
Tabela 3 – Média e desvio padrão da fertilidade e fecundidade total nas espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	35
Tabela 4 – Fertilidade e fecundidade média das espécies do subgrupo <i>elliptica</i> , por casal.	35
Tabela 5 – Média e desvio padrão do tempo de desenvolvimento nas espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	36
Tabela 6 – Mediana da longevidade (dias) nas espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	37
Tabela 7 – Correlação dos componentes da história de vida do subgrupo <i>elliptica</i> .	38
Tabela 8 – Fertilidade e fecundidade média dos intercruzamentos entre as espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	39
Tabela 9 – Média, desvio padrão, coeficiente de variação (entre parênteses, em %) e teste de variância obtidos para os dados morfométricos dos machos das espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	41
Tabela 10 – Média, desvio padrão, coeficiente de variação (entre parênteses, em %) e teste de variância obtidos para os dados morfométricos das fêmeas das espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	42
Tabela 11 – Análise de regressão dos caracteres morfológicos em relação ao tamanho corporal (machos).	46
Tabela 12 – Análise de regressão dos caracteres morfológicos em relação ao tamanho corporal (fêmeas).	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Aguaí
OP	Ouro Preto
SC	Serra da Cantareira
TIR	Tirimbina
EM	<i>D. emarginata</i>
NEO	<i>D. neoelliptica</i>
NEOS(A)	<i>D. neosaltans</i> (Aguaí)
NEOS(OP)	<i>D. neosaltans</i> (Ouro Preto)

LISTA DE SÍMBOLOS

min minutos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Parâmetros reprodutivos da história de vida	26
3.2 Experimentos do isolamento reprodutivo (IR)	27
3.3 Preparação das lâminas dos edeagos e ovipositores para as análises por microscopia óptica	28
3.4 Análises morfométricas do tórax, asa, edeago e ovipositor	28
3.5 Casais em cópula	29
3.6 Análises estatísticas	29
4. RESULTADOS	33
4.1 História de vida	33
4.2 Relações reprodutivas das espécies do subgrupo <i>elliptica</i>	39
4.3 Mensuração do tamanho do edeago e do ovipositor em relação ao tamanho do tórax, asa e corpo por meio da morfometria	40
4.4 Alometria estática das espécies do subgrupo <i>elliptica</i> .	42
4.5 Observação dos casais em cópula	48
5. DISCUSSÃO	52
5.1 Componentes da história de vida das espécies do subgrupo <i>elliptica</i> e suas relações reprodutivas.	52
5.2 Alometria estática do subgrupo <i>elliptica</i> e coevolução entre edeago e ovipositor.	57
6. CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS	62
APENDICE A – Tabelas suplementares	77

1 INTRODUÇÃO

Traços da história de vida

A história de vida de um organismo, ou seja, os eventos do nascimento até sua morte, constituem uma das áreas mais importantes de estudo para o conhecimento de um grupo de espécies (STEARNS, 1992; ROFF, 2007). A história de vida é o resultado da ação conjunta da história evolutiva, biologia funcional e genética de um organismo (ROSE, 1983; PARTRIDGE; SIBLY, 1991; REZNICK; TRAVIS, 1996; ROSE; BRADLEY, 1998), frequentemente conectada em correlações fenotípicas, fisiológicas ou genéticas conhecidas como *trade-offs* - que são eventos compensatórios das vantagens e desvantagens entre componentes do valor adaptativo (STEARNS, 1992; ROFF, 2002; CHARLESWORTH; HUGHES, 2000; FLATT, 2011). Dessa forma, estudar os componentes da história de vida, que são alvos diretos da seleção natural, é avaliar como os traços da morfologia, do comportamento, da fisiologia e outros podem influenciar no valor adaptativo, ou seja, na sobrevivência e a reprodução de um organismo (COLE, 1954; KNIGHT; ROBERTSON, 1957; CLUTTON-BROCK, 1988; STEARNS, 1992; ROFF, 1993; CHARLESWORTH, 1994; PRASAD; JOSHI, 2003; FLATT; HEYLAND, 2011; FABIAN; FLATT, 2012).

O entendimento sobre a evolução da história de vida tem sido construído ao longo do tempo e por diferentes perspectivas de diversos estudos. Alguns trabalhos focam principalmente no ponto de vista fenotípico (STEARNS, 1976, 1992, 2000; ROFF 1993, 2002), mas também houve um empenho na investigação genética mais aprofundada por trás dos componentes relacionados ao valor adaptativo (LEWONTIN, 1974; CHARLESWORTH, 1980, 1994, 2003, 2015; ROFF, 1993; CHARLESWORTH; HUGHES, 2000; LYMAN et al., 2023). A maioria desses trabalhos foram realizados em *D. melanogaster* e, dessa forma, eles puderam também proporcionar uma base para o desenvolvimento de modelos matemáticos que tentam explicar a seleção desses componentes em populações de drosofilídeos (GAVORA et al., 1971; CHARLESWORTH, 1980, 1994, 2003). Ainda, houve trabalhos que contribuíram no entendimento da origem, quantidade e manutenção da variação genética das características relacionadas ao valor adaptativo, assim como as adaptações referentes à

história de vida (LEWONTIN, 1974; SIMMONS; CROW, 1977; HOULE et al., 1994; CHARLESWORTH; HUGHES, 2000; CHARLESWORTH, 2015).

A reprodução em si é um dos processos mais importantes da história de vida pois afeta diretamente o sucesso dos organismos. Como elucidado anteriormente, ela está diretamente relacionada com os componentes de história de vida e pode ser caracterizada como o encontro entre indivíduos de ambos os sexos, e, para isso acontecer, o acasalamento é necessário. Em alguns organismos (como por exemplo em *Drosophila*) é necessário que antes da cópula uma série de comportamentos, que geralmente são espécie-específicos, aconteça em um processo denominado corte (MARKOW, 1996; GREENSPAN; FERVEUR, 2000).

No processo de corte dos drosofilídeos destacam-se o estímulo visual, os sinais acústicos e os feromônios com a função de encontro e reconhecimento de parceiros. Dentre os estímulos visuais, estão presentes os fatores dinâmicos como atividade motora das asas e a movimentação, e os estáticos como as cores e formas dos indivíduos. Os sinais acústicos se dão a partir da vibração das asas dos machos e são muito importantes para o reconhecimento em nível de espécie, pois possuem muita variação interespecífica. Por fim, os feromônios são componentes químicos essenciais que agem nesse processo de reprodução na identificação dos pares através de receptores presentes no corpo desses organismos (KYRIACOU; HALL, 1982; MARKOW, 1996; RITCHIE et al., 1999; GREENSPAN; FERVEUR, 2000; LASBLEIZ et al., 2006).

O processo reprodutivo está frequentemente relacionado com a coevolução antagonica existente entre os sexos opostos, pois há interesses e vantagens divergentes para os machos e para as fêmeas, em que traços que são favorecidos em um sexo podem exercer pressão seletiva ao outro (CHAPMAN et al., 2003). A razão desse conflito está diretamente relacionada ao êxito de ambos os sexos durante a reprodução, os traços reprodutivos que podem ser maximizados durante a interação sexual são diferentes entre machos e fêmeas. A duração da cópula é um exemplo de componente da história de vida que é resultado da coevolução antagonica e é influenciada pelo conflito sexual (EVARDSSON; CANAL, 2006).

A duração da cópula tem efeitos importantes no valor adaptativo tanto das fêmeas quanto dos machos. Para os machos, cópulas mais longas podem garantir a paternidade e

diminuir a chance de reacasamento, conhecido como hipótese da "guarda estendida" (ALCOOK, 1994; MAZZI et al., 2009). Para as fêmeas, pode ser vantajoso cópulas longas por proporcionarem a recepção de uma quantidade suficiente de esperma, assim como aumentar a sua fecundidade de acordo com a hipótese de transferência de ejaculado. Entretanto, cópulas mais curtas permitem uma maior chance de acasalamento e a seleção de espermatozoides no seu trato reprodutivo (MARKOW; HOCUTT, 1998; KNOWLES; MARKOW, 2001).

Os machos tendem a transferir muito mais esperma que o necessário para fertilizar os ovos de suas parceiras (EBERHARD, 1996), inclusive ultrapassando a capacidade dos órgãos de armazenamento de espermatozóides das fêmeas, por exemplo as espermatecas e receptáculos seminais dos drosofilídeos. Desta forma, fazem seleção de esperma em seu trato reprodutivo, chamada escolha críptica das fêmeas, resultando na competição de esperma dos machos copulantes (BIRKHEAD, 1998).

A análise da fertilidade, definida como a quantidade de ovos depositados pela fêmea ao longo de sua vida, também é uma parte substancial do estudo da biologia dos drosofilídeos e em diversas espécies ela possui um comportamento muito similar (NOVOSELTEV et al., 2003): normalmente em idades mais jovens as fêmeas depositam muito mais ovos e, após atingir um pico na produção, há um declínio gradual conforme o progresso da senescência (PARTRIDGE; FOWLER, 1992; NOVOSETELV et al., 2002, 2003, 2004, 2005; KLEPSATEL et al, 2013). Essa atividade reprodutiva (produção de ovos) é muito custosa, podendo ter efeitos negativos na sobrevivência e longevidade desses organismos (KOUFOPANOOU, 1985; PARTRIDGE, 1986), por isso, em alguns casos a redução na produção de ovos é acompanhada de aumento da longevidade das fêmeas (SMITH, 1958).

A fecundidade, definida como a proporção de imagos resultantes em relação à quantidade de ovos depositados, também é um relevante componente do valor adaptativo dos organismos, assim como a fertilidade, devido a sua direta ligação com a reprodução, mais precisamente com a produção de descendentes. Ela pode ser definida de três diferentes formas: a viabilidade ovo-larva ("*hatchability*"), ou seja, aqueles ovos que eclodiram em larvas; a viabilidade larva-pupa, que é a proporção de larvas que conseguem se desenvolver e chegar ao estado de pupa; e por fim a viabilidade pupa-imago que é quantidade de indivíduos adultos que emergem das pupas (DAVID et al., 2014).

Outro caráter importante da história de vida é a longevidade, o período de vida dos indivíduos, o qual é determinado pelos processos fisiológicos que levam à senescência, ou seja, os eventos degenerativos resultantes do envelhecimento. Diferentes hipóteses foram propostas para explicar a evolução da senescência. A primeira delas, conhecida como hipótese do acúmulo de mutações, prediz que se o efeito de mutações deletérias fosse restrito a idades mais avançadas, seria possível que houvesse a transmissão desses alelos para a próxima geração sem que o efeito negativo dessas mutações estivesse presente na vida inicial dos parentais e interferisse em seu valor adaptativo. Nessa situação, a seleção natural seria fraca na eliminação dessa mutação e, durante o tempo evolutivo, tais mutações com características neutras no início da vida se acumulariam na população por meio da deriva genética, o que levaria à evolução do envelhecimento (MEDAWAR, 1946; 1952). A partir dessa ideia de Medawar, George C. Williams (1957) propôs uma nova teoria que viria a ser conhecida como hipótese pleiotrópica antagonística. Nela, o autor propôs que mutações ou alelos teriam efeitos pleiotrópicos em diferentes idades, no qual variantes genéticas poderiam exibir efeitos benéficos no começo da vida enquanto no final da vida dos organismos poderia exibir efeitos deletérios (WILLIAMS, 1957).

A longevidade é muito variável entre as espécies, populações, e até mesmo em indivíduos da mesma população (FINCH, 1990; ROSE, 1991; STEARNS, 1992; FLATT; SCHMIDT, 2009; FABIAN; FLATT, 2011, 2012). Além disso, a longevidade, assim como a sobrevivência, são muito influenciados por fatores ambientais. Os drosofilídeos, de modo geral, são altamente sensíveis e plásticos às mudanças no ambiente, sendo que essas mudanças podem causar alterações drásticas na longevidade ou capacidade de sobrevivência deles. Diversos fatores podem interferir nesse componente biológico como a dieta, umidade, temperatura, entre outros. Frequentemente as populações da natureza vivenciam ameaças a sua sobrevivência como temperaturas extremas, variação na umidade ou até escassez de alimentos e esses fatores são denominados estresse (FINCH, 1990; ROSE, 1991; STEARNS, 1992; FLATT; SCHMIDT, 2009; KENYON, 2010; FABIAN; FLATT, 2011, 2012; FLAT et al., 2013).

Os ambientes estão em constante mudança e por isso muitas vezes impõem grandes desafios à sobrevivência e também à reprodução do organismo, visto que o sucesso reprodutivo está atrelado à sobrevivência individual. A evolução das características relacionadas à reprodução e longevidade podem ser resultados de

adaptações que proporcionam o sucesso reprodutivo tanto nas fêmeas como nos machos (REDMER et al., 1996), possibilitando que mesmo sob circunstâncias de alteração ambiental, os indivíduos possam apresentar diferentes mecanismos que otimizam o valor adaptativo. As condições ambientais variam ao longo da distribuição de um organismo e a seleção deve levar a respostas às condições locais, podendo culminar com uma variação espacial nas características da história de vida. (KIRKWOOD, 1977; KIRKWOOD et al., 2000; FLATT; SCHMIDT, 2008; FLAT et al., 2013).

Isolamento reprodutivo

Uma espécie, de acordo com o conceito biológico, pode ser definida por um grupo de indivíduos de uma determinada população que são capazes de cruzar e possuem fluxo gênico entre si, mas são isolados reprodutivamente de outros grupos/populações com características semelhantes (DOBZHANSKY, 1937; MAYR, 1940; COYNE; ORR, 2004). A primeira vez que esse conceito apareceu foi em 1935 (EMERSON, 1935) e desde então foi debatido por diversos autores para explicar as relações reprodutivas entre os organismos, recebendo destaque a partir de contribuições de Mayr e Dobzhansky (DOBZHANSKY, 1951; MAYR, 1940, 1959, 1963). Westram e colaboradores em uma revisão recente (2022), em concordância com estudos anteriores, definem que o isolamento reprodutivo (IR) está atrelado ao fluxo gênico, porque o nível dessa troca gênica é o que determina até que ponto as populações podem evoluir independentemente. Dessa forma, compreender a definição de isolamento reprodutivo é um tema central no entendimento do processo de especiação em organismos de reprodução sexuada e relações entre as espécies (WESTRAM et al., 2022).

As barreiras reprodutivas podem ser do tipo pré-zigótica, atuando antes da formação do zigoto impedindo o processo de cópula e fertilização e pode acontecer devido a preferência de habitats, especificidade de nicho, incompatibilidade de gametas, fatores comportamentais (como cruzamentos preferenciais e diferenças na corte) e mecânico (como morfologia da genitália) (TURISSINI et al., 2018); ou do tipo pós-zigótica, resultando em incompatibilidades que levam à redução do valor adaptativo da prole híbrida em relação aos parentais, podendo causar problemas na reprodução pela

esterilidade ou inviabilidade no desenvolvimento dos híbridos F1 ou F2 (ORR; PRESGRAVES, 2000; PRESGRAVES, 2010; TURISSINI et al., 2018).

O isolamento reprodutivo surge em muitos casos como um subproduto da ação da seleção natural ou deriva genética atuando nas populações, promovendo o rompimento do fluxo gênico e assim a ocorrência da especiação. Dois fatores genéticos podem contribuir para a evolução do isolamento reprodutivo pré-zigótico em populações naturais, um deles é conhecido como efeito carona que acontece quando a seleção natural favorece um determinado loco e os genes em locos ligados também podem aumentar em frequência (DODD, 1989). O outro é denominado pleiotropia e acontece quando um gene influencia em mais de uma característica fenotípica do organismo, podendo causar algum tipo de isolamento (RIDLEY, 2006).

Coyne e Orr contribuíram muito para o entendimento do isolamento reprodutivo (1989, 1997) demonstrando por meio de cruzamentos interespecíficos de 197 espécies de drosofilídeos alguns padrões observados, sendo eles: 1) o acasalamento seletivo, esterilidade e inviabilidade do híbrido aumenta gradativamente e proporcionalmente ao aumento da distância genética entre os pares estudados; 2) o menor valor adaptativo por parte dos híbridos, em especial a esterilidade, geralmente afeta os machos primeiro como um exemplo da regra de Haldane (1922) - que postula que quando há esterilidade híbrida em intercruzamentos o sexo heterogamético será afetado primeiro; 3) pares de populações distintas que vivem em simpatria podem desenvolver uma preferência por acasalamento entre pares geneticamente semelhantes mais rápido em comparação a populações que vivem em alopatria, sugerindo que populações diferentes que vivem no mesmo ambiente podem sofrer especiação mais rápido a partir da ação do reforço (COYNE; ORR, 1997; COYNE; ORR, 2004).

Os primeiros trabalhos que buscaram entender as bases genéticas do isolamento reprodutivo foram realizados em espécies crípticas de *Drosophila* por Dobzhansky e Patterson (DOBZHANSKY, 1944; PATTERSON; DOBZHANSKY, 1945). Apesar de estudos sobre isolamento em outros organismos serem realizados posteriormente (HOFREITER et al., 2004; LITI et al., 2006; AMATO et al., 2007), os trabalhos envolvendo indivíduos do gênero *Drosophila* são os mais frequentes, visando a compreensão de mecanismos ecológicos, genéticos e comportamentais desse isolamento (NOOR et al., 2001; SAWAMURA; TOMARU, 2002; MALLET, 2006; NANDA;

SINGH, 2012; LATURNEY; MOEHRING, 2012). Dessa forma, os estudos em drosofilídeos têm um papel muito importante também na caracterização de genes considerados responsáveis pelos processos de isolamento reprodutivo (ORR, 2005; PRESGRAVES, 2010; NOSIL; SCHLUTER, 2011).

Alguns exemplos de genes que podem causar o isolamento reprodutivo e possuem efeitos deletérios em híbridos foram descritos em espécies do grupo *melanogaster*. O *OdsH* (*Odysseus*), observado em cruzamentos de *D. simulans* x *D. mauritiana*, que pode resultar em esterilidade do macho híbrido a partir de uma desregulação da expressão nos testículos (TING et al., 1998; SUN et al., 2004); *Hmr* (*Hybrid male rescue*) que pode ser letal para machos e fêmeas da F1, caracterizado em híbridos de cruzamentos entre *D. simulans* x *D. melanogaster* (BARBASH et al., 2000; BARBASH; ASHBURNER, 2003; BARBASH et al., 2004), *Nup98* (nucleoporina 96-98) que causa letalidade em híbridos de *D. melanogaster* x *D. simulans* (PRESGRAVES et al., 2003), *Zhr* (*zygotic hybrid rescue*) que é letal à progênie em nível embrionário em híbridos de *D. melanogaster* x *D. simulans* (SAWAMURA; YAMAMOTO, 1993; ORTÍZ-BARRIENTOS; NOOR, 2005).

Em relação ao grupo *saltans* de *Drosophila*, sabe-se que o isolamento reprodutivo entre espécies de diferentes subgrupos é completo, entretanto, o isolamento reprodutivo dentro de um mesmo subgrupo pode variar dependendo do subgrupo e das espécies consideradas. O estudo do isolamento reprodutivo no subgrupo *saltans* foi realizado por Bicudo (1973) em sete espécies distribuídas do Haiti até o sudeste do Brasil (*D. saltans*, *D. prosaltans*, *D. septentriosaltans*, *D. austrosaltans*, *D. lusaltans*, *D. pseudosaltans*, *D. nigrosaltans*) e o isolamento entre elas aconteceu em nível de inseminação. A partir de dissecação das fêmeas parentais observou-se que em algumas direções de cruzamentos não havia fêmeas inseminadas, apesar disso, em alguns deles houve produção de híbridos. A autora observou também que linhagens dessas espécies com distribuição sobreposta da Costa Rica possuem isolamento reprodutivo completo. Dentre as linhagens estudadas, espécies que são separadas geograficamente como *D. saltans* e *D. prosaltans* podem produzir híbridos férteis. A autora sugeriu que a divergência entre essas espécies pode ter acontecido de forma alopátrica e em algum momento histórico elas terem retornado em simpatria – favorecendo cruzamentos preferenciais entre indivíduos da mesma espécie (BICUDO, 1973ab).

Ainda no subgrupo *saltans*, Bicudo (1978) realizou intercruzamentos de linhagens da América Central e América do Sul de *D. prosaltans*. A partir dos resultados obtidos a autora observou que houve a formação de três grupos distintos quanto à distribuição geográfica e de isolamento reprodutivo. Um deles é formado por linhagens do norte da América do Sul, da Colômbia, Guiana e Venezuela; outro da América Central que englobou linhagens da Costa Rica e Panamá; e o último por linhagens brasileiras. Cruzamentos entre essas linhagens foram realizados e mostraram isolamento entre elas, sendo que os intercruzamentos das linhagens brasileiras com as demais apresentaram isolamento mais evidente (BICUDO, 1978).

Já no subgrupo *sturtevantii*, o estudo do isolamento reprodutivo foi majoritariamente realizado a partir de cruzamentos por casal e em massa de *D. magalhães*, *D. sturtevantii* e *D. milleri* (BICUDO, 1979; HOSAKI-KOBAYASHI; BICUDO, 1994), demonstrando graus variáveis de isolamento reprodutivo entre as espécies. Recentemente foi feita a descrição de uma nova espécie do subgrupo *sturtevantii*, conhecida como *D. lehrmanae* (MADI-RAVAZZI, et al., 2021). A princípio acreditava-se que indivíduos dessa linhagem tratavam-se de *D. sturtevantii* pela morfologia do edeago, entretanto, baseado em uma série de experimentos envolvendo marcadores moleculares, morfológicos e também intercruzamentos, os autores chegaram à conclusão que os indivíduos dessa linhagem podem ser caracterizados como uma nova espécie do subgrupo. Os intercruzamentos foram entre machos e fêmeas de *D. lehrmanae* com as espécies *D. sturtevantii*, *D. dacunhai* e *D. milleri* (pertencentes ao subgrupo *sturtevantii*) para analisar o isolamento reprodutivo entre elas. A fecundidade e fertilidade foram estudadas, assim como a presença ou não de esperma na espermateca das fêmeas.

A partir da realização dos intercruzamentos entre *D. lehrmanae* e as outras espécies do subgrupo *sturtevantii* previamente citadas, foi observada a existência de barreiras de isolamento pré-zigótico entre elas. Não foram encontrados espermatozoides nas espermatecas das fêmeas parentais dos intercruzamentos de fêmeas *D. lehrmanae* com machos de linhagens brasileiras de *D. sturtevantii*. Além disso, nos intercruzamentos entre *D. lehrmanae* e *D. milleri* não foi observado a postura de ovos pelas fêmeas. Dos 26 intercruzamentos realizados, 77% deles não produziram descendentes e dos 23% restantes foram obtidos 179 imagos, sendo 99 fêmeas e 80 machos. Desse número total, 176 foram obtidos em intercruzamentos entre machos de *D. lehrmanae* e fêmeas de *D. sturtevantii*, contudo, no cruzamento recíproco não houve descendência, sugerindo uma

incompatibilidade unilateral. Em ambas as direções de cruzamentos entre *D. lehrmanae* e *D. dacunhai* foi observada uma baixa fecundidade, com o nascimento de dois machos em uma direção e somente um na outra.

No subgrupo *parasaltans* também foram realizados intercruzamentos das espécies *D. parasaltans* e *D. subsaltans* no qual demonstraram isolamento completo entre as espécies estudadas (BICUDO; PRIOLI, 1978). Em relação ao subgrupo *elliptica*, alvo deste trabalho, somente um estudo foi realizado em linhagens de *D. emarginata*, provindas de diferentes localidades, e os dados sugeriram um isolamento incipiente entre elas (BICUDO; PRIOLI, 1978). Foram utilizadas populações oriundas do México e Costa Rica e realizados tanto intercruzamentos quanto intracruzamentos. Os intercruzamentos foram tão bem sucedidos quanto os intracruzamentos em relação à produtividade, entretanto, as autoras sugeriram a existência de isolamento incipiente entre fêmeas do México e machos da Costa Rica devido a uma menor fertilidade e fecundidade nessa direção.

Coevolução das genitálias

Na maioria dos animais cuja fertilização é interna, a genitália masculina é um dos órgãos que evoluem mais rapidamente em comparação com outras partes do corpo e geralmente é uma das primeiras características morfológicas a divergir durante o processo de especiação (EBERHARD, 1985; EBERHARD; LEONARD, 2010; SOTO et al., 2013; ROMAN; MADI-RAVAZZI, 2021).

De todas as interações entre os sexos de espécies com fertilização interna, a interação das genitálias durante o processo copulatório é o mais direto, assim, a coevolução entre a morfologia genital dos machos e fêmeas é esperada, e, essa covariação morfológica entre a genitália masculina e feminina tem sido bastante evidenciada na literatura em diversos táxons (SOTA; KUBOTA, 1998; ILLANGO; LANE, 2000; ARNQVIST; ROWE, 2002; BRENNAN et al., 2007; RONN et al., 2007; KUNTNER et al., 2009; TATARNIC; CASSIS, 2010; CAYETANO et al., 2011; EVANS et al., 2011, 2013; SIMMONS; GARCÍA-GONZÁLEZ, 2011; YASSIN; ORGOGOZO, 2013).

A coevolução da genitália pode ocorrer quando mudanças evolutivas em uma característica genital encontrada em determinado sexo exerce pressão seletiva no outro sexo. Assim, o momento mecânico da cópula muitas vezes é resultado da coevolução das estruturas genitais masculinas e femininas. (BRENNAN; PRUM, 2015). O estudo dos traços morfológicos genitais fornece oportunidade de entender a evolução quando mudanças morfológicas e funcionais de um sexo pode afetar diretamente o outro (BRENNAN, 2016).

A morfologia genital masculina pode exercer pressão seletiva nas fêmeas que, como consequência, desencadeia mudanças na fisiologia e comportamento, assim como na morfologia da estrutura. Essas respostas das fêmeas podem ocasionar na seleção de características da genitália masculina levando a ciclos de coevolução. Durante a coevolução das genitálias a seleção pode atuar em determinadas características das fêmeas que evitem danos no seu trato reprodutivo, assim como mudanças comportamentais e fisiológicas que garantem o comando dela durante o acasalamento (EBERHARD, 2004; ARNQVIST; ROWE, 2005; SIMMONS, 2014; LANGERHANS et al, 2016).

Estudos comparativos de espécies e/ou populações podem fornecer evidências sobre as mudanças dinâmicas na morfologia da genitália de ambos os sexos. Isso inclui investigações sobre correspondência morfológica, compatibilidade entre estruturas morfológicas assim como estudos com estruturas correspondentes (RONN et al., 2007; CAYETANO et al., 2011; KAMIMURA; MITSUMOTO, 2011, 2012). Abordagens microevolutivas podem incluir estudos de correlação entre características genitais (correspondência ou antagônica), manipulação experimental para medir variações no valor adaptativo de mudanças na morfologia genital em ambos os sexos e também abordagens evolutivas experimentais que informam diretamente sobre as pressões seletivas que atuam nas características genitais e na presença de alterações em ambos os sexos (BRENNAN; PRUM, 2015). Assim, a variação morfológica é o resultado da mudança nos genes, enquanto o destino dessas mudanças depende da ação da seleção atuando sobre a morfologia (YASSIN, 2016).

Diferente da evolução rápida das genitálias masculinas em animais de fertilização interna (EBERHARD, 1985; ARNQVIST, 1998; SIMONS et al., 2009), estudos das genitálias femininas em espécies do gênero *Drosophila* demonstraram que o aparato

genital das fêmeas apresenta menor variação morfológica quando comparadas às espécies próximas que divergiram há 3 milhões de anos (JAGADEESHAN; SINGH, 2006), evidenciando uma evolução morfológica lenta da genitália feminina em comparação à masculina. Este é um dos motivos que pode explicar a existência de poucos trabalhos abordando a coevolução das genitálias (YASSIN; ORGOGOZO, 2013).

Apesar da falta de estudo da genitália feminina e menor variação em comparação à masculina em diversos táxons, sabe-se que a variação da genitália feminina pode ser espécie-específica. Algumas hipóteses surgiram para explicar esse fenômeno, duas em específico: a primeira diz que a estrutura genital da fêmea se origina a partir de somente uma estrutura, o duto gonadal que é responsável pela postura de ovos (ou prole) fora do corpo, já a genitália masculina evoluiu a partir de uma série de apêndices motores e sensoriais do corpo. A segunda diz que a genitália feminina pode ser menos variável pela força da seleção natural agindo sobre a estrutura porque, diferentemente da genitália masculina, a genitália feminina é alvo da seleção pois também possui a função de oviposição (BROWN et al., 1995; BRENNAN; PRUM, 2015; BRENNAN, 2016).

Em um estudo de nove espécies do subgrupo *Drosophila melanogaster* realizado por Yassin e Orgogozo (2013) foi evidenciado a existência de coevolução de estruturas morfológicas de machos e fêmeas em nível copulatório. Nesse trabalho os autores demonstraram que há coevolução entre estruturas genitais espécie-específicas dos machos e fêmeas que entram em contato durante o momento da cópula, sendo que algumas dessas estruturas morfológicas femininas fornecem proteção às estruturas morfológicas dos machos que possam causar danos a elas. Uma dessas estruturas é conhecida como "*oviscapt pouch*", descrita em *D. simulans* e que consiste em uma depressão da margem postero-dorsal do ovipositor que acredita-se entrar em contato com a parte posterior do epândrio da genitália dos machos durante a cópula. Outras estruturas também foram identificadas em diversas espécies como "*oviscapt furrows*" na margem postero-dorsal do ovipositor e também estruturas semelhantes a "escudos" como escudo vaginal e ventral em algumas espécies. Dessa forma, os autores demonstram que há a coevolução da morfologia da genitália feminina com estruturas genitais masculinas que entram em contato direto durante a momento da cópula (BÄCHILI et al., 2004; YASSIN; ORGOGOZO, 2013).

Alometria

A alometria descreve como as características dos organismos variam de acordo com o tamanho e se refere a escala biológica no geral, seja por traços morfológicos, fisiológicos ou ecológicos. Além disso, elucida como os traços se relacionam uns com os outros por meio de mecanismos funcionais que geram as relações de escalas entre os traços e como elas se refletem no processo evolutivo (SHINGLETON, 2010). Então, a alometria é essa relação da proporção entre os tamanhos de traços morfológicos e o tamanho corporal, ela descreve como as características de um determinado organismo se relacionam com outras características ou com o tamanho do corpo (SHINGLETON et al., 2007).

Há três níveis reconhecidos de alometria: "dinâmica" (ou ontogenética), que é mudança na escala em um indivíduo durante o desenvolvimento; "estática", mudança na escala entre indivíduos pertencentes à mesma população no mesmo estágio de desenvolvimento; e "evolutiva", ou seja, mudança na escala entre populações e espécies (STERN; EMLÉN, 1999). Tanto a alometria evolutiva quanto a estática surgem porque existe uma covariação no tamanho das partes do corpo entre os indivíduos em um determinado estágio de desenvolvimento. Assim, a variação do tamanho do traço fenotípico e do corpo é consequência da variação em um determinado estágio de desenvolvimento, portanto, tanto a alometria estática quanto evolutiva são consequências de mudanças que ocorrem na alometria dinâmica (SHINGLETON et al., 2007).

Para compreender os mecanismos que regulam a alometria, é necessário entender também os mecanismos de desenvolvimento que permitem a variação no crescimento dos caracteres fenotípicos e do corpo. Para a alometria evolutiva a variação no crescimento pode ser causada por diferenças genéticas entre indivíduos de diferentes espécies; já na alometria estática a variação no tamanho se dá principalmente em diferenças genéticas entre indivíduos, assim como diferenças no ambiente em que eles se desenvolveram (assim como uma interação entre esses dois fatores) (SHINGLETON et al., 2007; PÉLABON et al., 2014).

Em nível genético, o aumento do corpo e de órgãos depende de genes que controlam o metabolismo alimentar, sinalização hormonal, tamanho e/ou divisão celular, e a alometria pode resultar da expressão diferencial de genes de crescimento entre os

órgãos do corpo (VEA; SHINGLETON, 2021). Em estudos realizados com *D. melanogaster* identificaram o fator de transcrição FOXO como um forte componente na estabilidade do tamanho das estruturas genitais masculina em comparação com outras partes do corpo (TANG et al., 2011), mas devido à sua anatomia complexa e o tamanho pequeno das estruturas genitais masculina na maioria das espécies (quase 1/10 do comprimento do corpo), a base genética e do desenvolvimento da genitália masculina em insetos permanece pouco conhecida (VINCENT et al., 2019).

Subgrupo *elliptica* de *Drosophila*: espécies com gigantismo fálico

O grupo *saltans* de *Drosophila* atualmente consiste de 23 espécies incluídas em cinco subgrupos: *cordata*, *elliptica*, *parasaltans*, *saltans* e *sturtevantii*. Esses subgrupos foram subdivididos principalmente com base na pigmentação cuticular e na anatomia da genitália masculina (MAGALHÃES; BJORNBERG, 1957; MAGALHÃES, 1962; MOURÃO; BICUDO, 1967; GUILLÍN; RAFAEL, 2017; MADI-RAVAZZI et al., 2021). Os subgrupos e suas espécies diferem amplamente em sua distribuição geográfica e abundância ecológica. A distribuição geográfica das espécies do grupo *saltans* abrange toda a região do México ao Estado do Rio Grande do Sul no Brasil, incluindo as ilhas caribenhas. Os subgrupos *parasaltans* e *cordata* são encontrados na região Neotropical e algumas espécies dos subgrupos *elliptica*, *sturtevantii* e *saltans* são encontradas nas regiões Neotropical e Neoártica (MAGALHÃES, 1962; MOURÃO; BICUDO, 1967; GUILLÍN; RAFAEL, 2017).

Os primeiros estudos realizados com o grupo *saltans* datam de 1962 por Throckmorton e Magalhães. Os autores avaliaram o acúmulo de pteridina no corpo das espécies do grupo. Outros estudos foram realizados buscando entender o grau de isolamento reprodutivo e o polimorfismo das inversões cromossômicas nos diferentes subgrupos (BICUDO, 1973a; BICUDO, 1973b); assim como estudos moleculares envolvendo genes nucleares e mitocondriais (O'GRADY et al, 1998; RODRIGUEZ-TRELLES et al., 1999). As relações filogenéticas entre os subgrupos foram propostas a partir de caracteres morfológicos obtidos de dados da literatura (YASSIN, 2009) e também pela avaliação de características da genitália masculina avaliada por microscopia eletrônica de varredura (SOUZA et al., 2014).

Estudos mais recentes do nosso grupo de pesquisa enfatizaram uma estruturação moderada em populações de *D. sturtevanti*, utilizando marcadores microssatélites espécie-específicos (TRAVA et al., 2021); e a formação de três grandes grupos populacionais com esta espécie (norte, central e sul) em outro estudo a partir de análises moleculares com marcadores mitocondriais (ZORZATO et al, 2022), evidenciando diferenciação genética entre estas populações. Uma nova espécie, *D. lerhmanae*, foi descrita por nosso grupo de pesquisa utilizando metodologias integrativas de análises (morfometria dos edeagos e asas, genes mitocondriais, microscopia eletrônica de varredura, padrão de pigmentação das fêmeas e isolamento reprodutivo) (MADIRAVAZZI et al, 2021). Em outro artigo publicado também por nosso grupo de pesquisa, o qual descreve as diferenças das estruturas morfológicas da terminália masculina de 16 espécies do grupo *saltans*, inclusive das três espécies do subgrupo *elliptica* a serem analisadas no presente estudo, *D. emarginata*, *D. neosaltans* e *D. neoelliptica*, indicam a rápida evolução das estruturas fálicas (edeagos), além de ilustrar o quão grande são os edeagos das espécies *D. emarginata* e *D. neoelliptica* em relação às outras espécies do grupo (ROMAN et al., 2021).

A presença de edeagos grandes é uma característica morfológica peculiar que evoluiu no subgrupo *elliptica* do grupo *saltans*, eles possuem aproximadamente 1/2 do comprimento do corpo do macho, o que não é um padrão observado em geral em Drosophilidae e em outros organismos. Em uma pesquisa realizada a partir de dados da literatura, observou-se que nas espécies da família Drosophilidae existe uma proporcionalidade entre o tamanho do corpo e o edeago, entretanto, as espécies do subgrupo *elliptica* do grupo *saltans* não apresentam este padrão (DAVID; MADIRAVAZZI; YASSIN, 2022, comunicação pessoal).

O subgrupo *elliptica*, objeto do presente estudo, é composto por 4 espécies: *D. elliptica*, *D. emarginata*, *D. neosaltans* e *D. neoelliptica*. Este subgrupo foi pouco abordado em estudos anteriores, talvez pela dificuldade de coletar suas espécies e pela difícil manutenção em laboratório. O único artigo que avaliou as relações reprodutivas neste subgrupo é o de Bicudo (1978), que utilizou duas linhagens geográficas de *D. emarginata* (México e Costa Rica) verificando a existência de isolamento incipiente entre elas. A inexistência de estudos neste subgrupo e a característica notável do gigantismo fállico de suas espécies nos motivou a delinear o presente trabalho.

6 CONCLUSÕES

As espécies do subgrupo *elliptica* avaliadas no presente estudo possuem isolamento reprodutivo pré-zigótico entre si. As espécies com os maiores edeagos obtiveram diferenças nos parâmetros do valor adaptativo avaliados, sugerindo uma possível relação dos processos genéticos envolvidos no gigantismo fálico com os resultados obtidos. O subgrupo *elliptica* não se assemelha do padrão alométrico do edeago encontrado em Drosophilidae, sendo que o edeago foi a estrutura morfológica que obteve uma grande variação, ao contrário do ovipositor, sugerindo que a seleção sexual pode ter tido influência na evolução na morfologia distinta dessa estrutura fálica e culminado com a alongação dessa estrutura. Não foi observado a coevolução do tamanho dos órgãos reprodutores nas espécies analisadas.

REFERÊNCIAS

- ACKERMANN, M.; BIJSLMA, R.; JAMES, A. C.; PARTRIDGE, L.; ZWAAN, B. J.; STEARNS, S. C. Effects of assay conditions in life history experiments with *Drosophila melanogaster*. **Journal of Evolutionary Biology**. 2001.
- ALPATOV, W. W. Growth and variation of the larvae of *Drosophila melanogaster*. **J. Exp. Zool.** 1929.
- AMATO, A.; KOOISTRA, W. H. C.; GHIRON, J. H. L.; MANN, D. G.; SCHOLD, T. P.; MONTRESSOR, M. Reproductive Isolation among Sympatric Cryptic Species in Marine Diatoms. **Protist**. 2007.
- ARMSTRONG, E. The effects of temperature on the longevity of adult *Drosophila willistoni* infected with *Nosema kinji*. **Entomophaga**. 1976.
- ARNQVIST, G. The evolution of animal genitalia: distinguishing between hypotheses by single species studies. **Biological Journal of the Linnean Society**. 1997.
- ARNQVIST, G. Comparative evidence for the evolution of genitalia by sexual selection. **Nature**. 1998.
- ARNQVIST, G.; NILSSON, T. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. **Animal Behaviour**. 2000.
- ARNQVIST, G.; ROWE, L. Correlated evolution of male and female morphologies in water striders. **Evolution**. 2002.
- ARNQVIST, G.; THORNHILL, R. Evolution of animal genitalia: patterns of phenotypic and genotypic variation and condition dependence of genital and non-genital morphology in water strider. **Genetics Research**. 1998.
- AZEVEDO, R. B R.; VERNON, F.; PARTRIDGE, L. Life-history consequences of egg size in *drosophila melanogaster*. **The American Naturalist**. 1997.
- BACHLI, G.; VILELA, C. R.; ESCHER, S. A.; SAURA, A. The Drosophilidae (Diptera) of Fennoscandia and Denmark. **CAB Direct**. 2004.
- BARBASH, D. A.; ASHBURNER, M. A novel system of fertility rescue in *Drosophila* hybrids reveals a link between hybrid lethality and female sterility. **Genetics**. 2003.
- BARBASH, D. A.; AWADALLA, P.; TARONE, A. M. Functional divergence caused by ancient positive selection of a *Drosophila* hybrid incompatibility locus. **PLoS Biol.** 2004.
- BARBASH, D. A.; ROOTE, J.; ASHBURNER, M. The *Drosophila melanogaster* hybrid male rescue gene causes inviability in male and female species hybrids. **Genetics**. 2000.

- BERGLAND, A. O.; GENISSEL, A.; NUZHIDIN, S. V.; TATAR, M. Quantitative trait loci affecting phenotypic plasticity and the allometric relationship of ovariole number and thorax length in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**. 2008.
- BICUDO, H. E. M. C. Reproductive Isolation in *Drosophila prosaltans* (*saltans* group). **Brazilian Journal of Genetics**. 1978.
- BICUDO, H. E. M. C. Reproductive isolation in the *saltans* group of *Drosophila*. IV. The *surtevantii* subgroup. **Revista Brasileira de Genetica**. 1979.
- BICUDO, H. M. C. Chromosomal polymorphism in the *saltans* group of *Drosophila* I. The *saltans* subgroup. **Genetica**. 1973.
- BICUDO, H. M. C. Reproductive isolation in the *saltans* group of *Drosophila*. I. The *saltans* subgroup. **Genetica**. 1973.
- BICUDO, H. M. C. Reproductive Isolation in the *saltans* group of *Drosophila*. III. Intraspecific study in *D. emarginata*. **Naturalia**. 1978.
- BIRKHEAD, T. R. Cryptic female choice: criteria for establishing female sperm choice. **Evolution**. 1998.
- BONDURIANSKY, R. Sexual selection and allometry: a critical reappraisal of the evidence and ideas. **Evolution**. 2007.
- BRENNAN, P. L. R. Studying genital coevolution to understand intromittent organ morphology. **Integrative and comparative biology**. 2016.
- BRENNAN, P. L. R.; PRUM, R. O. Mechanisms and evidence of genital coevolution: the roles of natural selection, mate choice, and sexual conflict. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**. 2015.
- BRENNAN, P. L. R.; PRUM, R. P.; MCCRAKEN, K. G. Coevolution of male and female genital morphology in waterfowl. **Plos One**. 2007.
- BROWN, J. H.; WEST, G. B. Scaling in Biology. **Oxford University Press**. 2000.
- BROWN, R. G. B. Courtship behavior in the *Drosophila obscura* group. 1. *D. pseudoobscura*. **Behaviour**. 1964.
- BROWN, R. G. B. Courtship behaviour in the *Drosophila obscura* group. Part II. Comparative studies. **Behaviour**. 1966.
- BUENAVENTURA, E.; PAPE, T. Phylogeny, evolution and male terminalia functionality of *Sarcophaginae* (Diptera: Sarcophagidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**. 2018.
- CALDER, W. A. Size, Function and Life History. **Harvard University Press**. 1984.

- CARARETO, C. M. A. Incipient ethological isolation among strains of *Drosophila sturtevanti*. **Naturalia**. 1994.
- CARARETO, C. M. A.; MOURÃO, C. A. Darwinian fitness in *Drosophila*. I. Fitness components of *Drosophila prosaltans*. **Revista Brasileira de Genética**. 1991.
- CARARETO, C. M. A.; MOURÃO, C. A. Darwinian fitness in *Drosophila*. II. Quantification of total fitness in *Drosophila prosaltans*. **Revista Brasileira de Genética**. 1991.
- CARARETO, C. M. A.; MOURÃO, C. A. Darwinian fitness in *Drosophila*. III. Fitness components of *Drosophila sturtevanti*. **Revista Brasileira de Genética**. 1992.
- CAYETANO, L.; MAKLAKOV, A. A.; BROOKS, R. C.; BONDURIANSKY, R. Evolution of male and female genitalia following release from sexual selection. **Evolution**. 2011.
- CHAPMAN, T.; ARNQVIST, G.; BANGHAM, J.; ROWE, L. Sexual Conflict. **Trends in Ecology and Evolution**. 2003.
- CHARLESWORTH, B. Causes of natural variation in fitness: Evidence from studies of *Drosophila* populations. **PNAs**. 2015.
- CHARLESWORTH, B. Evolution in age-structured populations. **Cambridge Studies in Mathematical Biology**. 1994.
- CHARLESWORTH, B. Fitness and Selection. **eLS (Encyclopedia of Life Sciences)**. 2013.
- CHARLESWORTH, B. The cost of sex in relation to mating system. **Journal of Theoretical Biology**. 1980.
- COLE, L. C. The population consequences of life history phenomena. **The Quarterly review of biology**. 1954.
- COYNE, J. A.; ORR, H. A. Patterns of speciation in *Drosophila* Revisited. **Evolution**. 1997.
- COYNE, J. A.; ORR, H. A. Patterns of speciation in *Drosophila*. **Evolution**. 1989.
- COYNE, J. A.; ORR, H. A. Speciation. **Sunderland, MA. Sinauer Associates**. 2004.
- DALY, M. The cost of mating. **The American Naturalist**. 1978.
- DAVID, J. R.; BIÉMONT, C.; FOUILLET, P. Sur la forme des courbes de ponte de *Drosophila melanogaster* et leur ajustement à des modèles mathématiques. **Arch. Zool. Exp. Gen.** 1974.
- DAVID, J. R.; COHET, Y.; FOUILLET, P. The variability between individuals as a measure of senescence: a study of the number of eggs laid and the percentage of

- hatched eggs in the case of *Drosophila melanogaster*. **Experimental Gerontology**. 1975.
- DOBZHANSKY, T. Experiments on sexual isolation in *Drosophila*: III. Geographic strains of *Drosophila sturtevanti*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 1944.
- DOBZHANSKY, T. Experiments on Sexual Isolation in *Drosophila*: X. Reproductive Isolation Between *Drosophila Pseudoobscura* and *Drosophila Persimilis* Under Natural and Under Laboratory Conditions. **PNAs**. 1957.
- DOBZHANSKY, T. Genetic nature of species differences. **The American Naturalist**. 1937.
- DODD, D. M. B. Reproductive isolation as a consequence of adaptive divergence in *Drosophila pseudoobscura*. **Evolution**. 1989.
- DREYER, A. P.; SHINGLETON, A. W. The Effect of Genetic and Environmental Variation on Genital Size in Male *Drosophila*: Canalized but Developmentally Unstable. **PloS One**. 2011.
- EBERHARD, W. G. Male–female conflict and genitalia: failure to confirm predictions in insects and spiders. **Biological Reviews**. 2004.
- EBERHARD, W. G.; LEONARD, J. Rapid divergent evolution of genitalia. **The Evolution of Primary Sexual Characters in Animals**. 2010.
- EBERHARD, W. G. Female control: sexual selection by cryptic female choice. **Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice**. 1996.
- EBERHARD, W. G. Sexual selection and animal genitalia. **Harvard University Press**. 1985.
- EBERHARD, W. G. Why study spider sex: special traits of spiders facilitate studies of sperm competition and cryptic female choice. **The Journal of Arachnology**. 2004.
- EBERHARD, W. G.; HUBER, B. A.; RODRIGUES, R. L. S. BRICENO, R. D.; SALAS, I.; RORIGUEZ, V. One size fits all? Relationships between the size and degree of variation in genitalia and other body parts in twenty species of insects and spiders. **Evolution**. 1998.
- EBERHARD, W. G.; LEONARD, J. Rapid divergent evolution of genitalia. **The evolution of primary sexual characters in animals**. 2010.
- EVANS, J. P.; GASPARINI, C.; HOLWELL, G. L.; RAMMARINE, I. W.; PITCHER, T. E.; PILASTRO, A. Intraspecific evidence from guppies for correlated patterns of male and female genital trait diversification. **Proceedings of the Royal British Society**. 2011.

- EVARDSSON, M.; CANAL, D. The effects of copulation duration in the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*. **Behaviour Ecology**. 2006.
- FABIAN, D. K.; FLATT, T. Life history evolution. **Nature Education Knowledge** vl. 2012.
- FABIAN, D. K.; LACK, J. B.; MATHUR, V.; SCHLOTTERER, C.; SCHMIDT, P. S. Spatially varying selection shapes life history clines among populations of *Drosophila melanogaster* from subSaharan Africa. **Journal of Evolutionary Biology**. 2015.
- FABIAN, D.; FLATT, T. The evolution of aging. **Nature Education Knowledge**. 2011.
- FINCH, C. E. Longevity, senescence, and the genome. **Chicago, IL: University of Chicago Press**, 1990.
- FLATT, T. Life-History Evolution and the Genetics of *Fitness* Components in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**. 2020.
- FLATT, T. Survival costs of reproduction in *Drosophila*. **Exp. Gerontol**. 2011.
- FLATT, T.; HEYLAND, A. Mechanisms of life history evolution: the genetics and physiology of life history traits and trade-offs. **Oxford Biology**. 2011.
- FLATT, T.; SCHMIDT, P. Integrating evolutionary and molecular genetics of aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2009.
- BARTON, D. B.; LOUIS, E. J. Sequence diversity, reproductive isolation and species concepts in *Saccharomyces*. **Genetics**. 2006.
- GAVORA, J. S.; PARKER, R. J.; MCMILLAN, I. Mathematical Model of Egg Production. **Poultry Science**. 1971.
- GOWEN, J. W.; JOHNSON, L. E. On the mechanism of heterosis. I. Metabolic capacity of female races of *Drosophila melanogaster* for egg production. **The American Naturalist**. 1946.
- GREENSPAN, R. J.; FERVEUR, J. F. Courtship in *Drosophila*. **Annual Review of Genetic**. 2000.
- GROMKO, M. H. Unpredictability of correlated response to selection: pleiotropy and sampling interact. **Evolution**. 1995.
- GROMKO, M. H.; BRIOT, A.; JENSEN, S. C.; FUKUI, H. H. Selection on copulation duration in *Drosophila melanogaster*: predictability of direct response versus unpredictability of correlated response. **Evolution**. 1991.
- GUILLÍN, E. R.; RAFAEL, V. Cinco especies nuevas del género *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) en la provincia de Napo, Ecuador. **Iheringia Série Zoologia**. 2017.

- HALDANE, J. B. S. Sex ratio and unisexual sterility in hybrid animals. **Journal of Genetics**. 1922.
- HALL, J. C. Courtship lite: a personal history of reproductive behavioral neurogenetics in *Drosophila*. **Journal of Neurogenetics**. 2002.
- HARSHMAN, L. G. Life span extension of *Drosophila melanogaster*: genetic and population studies. **Population and Development Review**. 2003.
- HOFFMAN, A. A. A laboratory study of male territoriality in the sibling species *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. **Animal Behaviour**. 1987.
- HOFFMAN, A. A. Territorial encounters between *Drosophila* males of different sizes. **Animal Behaviour**. 1987.
- HOFFMAN, A. A.; PARSONS, P. Evolutionary genetics and evolutionary stress. **Oxford University Press**. 1991.
- HOFREITER, M.; RABEDER, G.; JAENICKE-DESPRÉS, V.; WITHALM, G.; NAGEL, D.; PAUNOVIC, M.; JAMBRĚSIĆ, G.; PÄÄBO, S. Evidence for reproductive isolation between cave bear populations. **Current Biology**. 2004.
- HOLLAND, B.; RICE, W. R. Perspective: chase-away sexual selection: antagonistic seduction versus resistance. **Evolution**. 1998.
- HOSAKI-KOBAYASHI, M. K.; BICUDO, H. E. M. Productivity in mass crosses of *Drosophila-sturtevantii* - a comparative-study of laboratory stocks and recently collected flies. **Revista Brasileira de Genética**. 1994.
- HOULE, D. Genetic covariance of fitness correlates: what genetic correlations are made of and why it matters. **Evolution**. 1991.
- HOULE, D.; HUGHES, K. A.; HOFFMASTER, D. K.; IHARA, J.; ASSIMACOPOULOS, S.; CANADA, D.; CHARLESWORTH, B. The effects of spontaneous mutation on quantitative traits. I. Variances and covariances of life history traits. **Genetics**. 1994.
- HUGHES, K. A.; LEIPS, J. Pleiotropy, constraint, and modularity in the evolution of life histories: insights from genomic analyses. **Annals of the New York Academy of Sciences**. 2017.
- HUGHES, S. E.; EVASON, K.; XIONG, C. J.; KPRNFELD, K. Genetic and pharmacological factors that influence reproductive aging in nematodes. **PLoS Genetics**. 2007.
- ILLANGO, K.; LANE, R. P. Coadaptation of male aedeagal filaments and female spermathecal ducts of the old world Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**. 2000.

- JAGADEESHAN, S.; SINGH, R. S. A time-sequence functional analysis of mating Behaviour and genital coupling in *Drosophila*: role of cryptic female choice and male sex-drive in the evolution of male genitalia. **J Evol Biol.** 2006.
- KAMIMURA, Y.; MITSUMUTO, H. Comparative copulation anatomy of the *Drosophila melanogaster* species complex (Diptera: Drosophilidae). **Entomological Science.** 2011.
- KAMIMURA, Y.; MITSUMUTO, H. Lock-and-key structural isolation between sibling *Drosophila* species. **Entomological Science.** 2012.
- KANESHIRO, K. Y. V. A study of the relationships of Hawaiian *Drosophila* species based on external male genitalia. **University of Texas Publication.** 1969.
- KIRKWOOD, T. B. L. Evolution of ageing. **Nature.** 1977.
- KIRKWOOD, T. B. L.; KAPAHI, P.; SHANLEY, D. P. Evolution, stress, and longevity. **Journal of Anatomy.** 2000.
- KLEPSATEL, P.; GÁLIKOVÁ, M.; DE MAIO, N.; RICCI, S.; SCHOTTERER, C.; FLATT, T. Reproductive and post-reproductive life history of wild-caught *Drosophila melanogaster* under laboratory conditions. **Journal of Evolutionary Biology.** 2013.
- KNIGHT, G. R.; ROBERTSON, A. Fitness as a measurable character in *Drosophila*. **Genetics.** 1957.
- KNOWLES, L. L.; MARKOW, T. Sexually antagonistic coevolution of a postmating-prezygotic reproductive character in desert *Drosophila*. **PNAS.** 2001.
- KUNTNER, M.; CODDING, J. A.; SHCNEIDER, J. M. Intersexual arms race? Genital coevolution in nephilid spiders (Araneae, Nephilidae). **Evolution.** 2009.
- KYRIACOU, C. P; HALL, J. C. The function of courtship song rhythms in *Drosophila*. **Animal Behaviour.** 1982.
- LANGERHANS, R. B.; ANDERSON, C. M.; HEINEN-KAY, J. L. Causes and consequences of genital evolution. **Integrative and Comparative Biology.** 2016.
- LASBLEIZ, C.; FEVEUR, J. F.; EVERAERTS, C. Courtship behaviour of *Drosophila melanogaster* revisited. **Animal Behaviour.** 2006.
- LATURNEY, M.; MOEHRING, A. J. The genetic basis of female mate preference and species isolation in *Drosophila*. **International journal of evolutionary biology.** 2012.
- LEFRANC, A.; BUNDGAARD, J. The and influence of male and female body size on copulation duration fecundity in *Drosophila melanogaster*. **Hereditas.** 2000.
- LEWONTIN, R. C. The Genetic Basis of Evolutionary Change. **Columbia University Press.** 1974.

LITI, G.; BARTON, D. B.; LOUIS, E. J. Sequence diversity, reproductive isolation and species concepts in *Saccharomyces*. **Genetics**. 2006.

LUCKINBILL, L. S.; ARKING, R.; CLARE, M. J.; CIROCCO, W. C.; BUCK, S. A. Selection for delayed senescence in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**. 1984.

LYMAN, R. F.; LYMAN, R. A.; YAMAMOTO, A.; HUANG, W.; HARBISON, S. T.; ZHOU, S.; ANHOLT, R.; MACKAY, T. F. C. Natural genetic variation in a dopamine receptor is associated with variation in female fertility in *Drosophila melanogaster*. **The Royal Society Publishing**. 2023.

MACHADO, L. P. B.; MADI-RAVAZZI, L.; MATEUS, R. P. Mating speed and copulation duration of *Drosophila sturtevantii* in different male densities. **Drosophila Information Service**. 2021.

MADI-RAVAZZI, L.; SEGALA, L. F.; ROMAN, B. E.; ALEVI, K. C. C.; PREDIGER, C.; YASSIN, A. VAN-HUA, A. L.; MILLER, W. J. Integrative taxonomy and a new species description in the *sturtevantii* subgroup of the *Drosophila saltans* group (Diptera: Drosophilidae). **Zootaxa**. 2021.

MAGALHÃES, L. E. VII. Notes on the Taxonomy, Morphology, and Distribution of the Saltans Group of *Drosophila*, with Descriptions of Four New Species. **The University of Texas Publication**. 1962.

MAGALHÃES, L. E.; BJORNBERG, A. J. S. Estudo da genitália masculina de '*Drosophila*' do grupo '*saltans*' (Diptera). **Revista Brasileira de Biologia**. 1957.

MALLET, J. What does *Drosophila* genetics tell us about speciation? **Trends in ecology & Evolution**. 2006.

MARGOLIS, J.; SPRADLING, A. Identification and behavior of epithelial stem cells in the *Drosophila* ovary. **Development**. 1995.

MARKOW, T. A. Behavioural and sensory basis of courtship success in *Drosophila melanogaster*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 1987.

MARKOW, T. A. Evolution of *Drosophila* mating systems. **Evolutionary Biology**. 1996.

MARKOW, T. A. Parents Without Partners: *Drosophila* as a Model for Understanding the Mechanisms and Evolution of Parthenogenesis. **Genes. Genomes. Genetics**. 2013.

MARKOW, T. A.; HANSON, S. Multivariate analysis of *Drosophila* courtship. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 1981.

MARKOW, T. A.; O'GRADY, P. M. Reproductive ecology of *Drosophila*. **Functional Ecology**. 2008.

MAYR, E. Animal species and evolution. **Harvard University Press**. 1963.

- MAYR, E. Isolation as an evolutionary factor. **Proceedings of the American Philosophical Society**. 1959.
- MAYR, E. Speciation phenomena in birds. **Am. Nat.** 1940.
- MAZZI, D.; KESANIEMI, J.; HOIKKALA, A.; KLAPPERT, K. Sexual conflict over the duration of copulation in *Drosophila montana*: why is longer better? **BMC Evolutionary Biology**. 2009.
- MEDAWAR, P. B. An Unsolved Problem of Biology. **London, UK: H. K. Lewis**. 1952.
- MEDAWAR, P. B. Old age and natural death. **Modern Quarterly**. 1946.
- MENEZES, B. F.; VIGODER, F. M.; PEIXOTO, A. A.; VERALDI, J.; BITNER-MATHÉ, B. C. The influence of male wing shape on mating success in *Drosophila*. **Animal Behaviour**. 2013.
- MIRTH, C. K.; FRANKINO, A. W.; SHINGLETON, A. W. Allometry and size control: what can studies of body size regulation teach us about the evolution of morphological scaling relationships? **Science Direct**. 2016.
- MOORE, A. J.; PIZZARI, T. Quantitative genetic models of sexual conflict based on interacting phenotypes. **The American Naturalist**. 2005.
- MOURÃO, C. A.; BICUDO, H. E. M. C. Duas novas espécies de *Drosophila* do grupo "*Saltans*" (Drosophilidae, Diptera). **Papéis avulsos de Zoologia**. 1967.
- MOUSSEAU, T. A.; ROFF, D. A. Natural selection and the heritability of fitness components. **Heredity**. 1987.
- NANDA, P.; SINGH, B. N. Behavioural reproductive isolation and speciation in *Drosophila*. **Journal of biosciences**. 2012.
- NASCIMENTO, A. BICUDO, H. E. M. C. Further study on the esterase patterns of sibling species in the *Drosophila saltans* subgroup (*saltans* group): intraspecific and interspecific variations in the development. **Genetica**. 2006.
- NASCIMENTO, A. P.; BICUDO, H. E. M. C. Esterase patterns and phylogenetic relationships of *Drosophila* species in the *saltans* subgroup (*saltans* group). **Genetica**. 2002.
- NOMURA, S.; FUJISAWA, T.; SOTA, T. Role of Sex-Concordant Gene Expression in the Coevolution of Exaggerated Male and Female Genitalia in a Beetle Group. **Mol. Biol. Evol.** 2021.
- NOOR, M. A. F.; GRAMS, K. L.; BERTUCCI, L. A.; ALMENDAREZ, Y.; REILAND, J.; SMITH, K. R. The Genetics of Reproductive Isolation and the Potential for Gene Exchange Between *Drosophila pseudoobscura* and *D. Persimilis* via Backcross Hybrid males. **Evolution**. 2001.

- NOOR, M.A .F.; GRAMS, K.L.; BERTUCCI, L.A.; REILAND, J. Chromosomal inversions and the reproductive isolation of species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, p. 12084-12088, 2001.
- NOSIL, P.; SCHLUTER, D. The genes underlying the process of speciation. **Trends in Ecology & Evolution**. 2011.
- NOVOSELTSEV, V. N.; ARKING, R.; CAREY, J. R.; NOVOSELTSEVA, J. A.; YASHIN, A. I. How an individual fecundity pattern looks in *Drosophila* and medflies. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** 2004.
- NOVOSELTSEV, V. N.; ARKING, R.; CAREY, J. R.; NOVOSELTSEVA, J. A.; YASHIN, A. I. Individual fecundity and senescence in *Drosophila* and medfly. **J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.** 2005.
- NOVOSELTSEV, V. N.; ARKING, R.; NOVOSELTSEVA, J. A.; YASHIN, A. I. Evolutionary optimality applied to *Drosophila* experiments: hypothesis of constrained reproductive efficiency. **Evolution**. 2002.
- NOVOSELTSEV, V. N.; NOVOSELTSEVA, J. A.; YASHIN, A. I. What does a fly's individual fecundity pattern look like? The dynamics of resource allocation in reproduction and ageing. **Mech. Ageing Dev.** 2003.
- O'GRADY, P. M.; CLARK, J. B.; KIDWELL, M. G. Phylogeny of the *Drosophila saltans* species group based on combined analysis of nuclear and mitochondrial DNA sequences. **Molecular Biology and Evolution**. 1998.
- OKUZAKI, T.; SOTA, T. How the length of genital parts affects copulation performance in a carabid beetle: implications for correlated genital evolution between the sexes. **Journal of Evolutionary Biology**. 2014.
- ORR, H. A. The genetic basis of reproductive isolation: insights from *Drosophila*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 2005.
- ORR, H. A.; PRESGRAVES, D. C. Speciation by postzygotic isolation: forces, genes and molecules. **BioEssays**. 2000.
- PAABY, A. B.; SCHMIDT, P. S. Dissecting the genetics of longevity in *Drosophila melanogaster*. **Fly**. 2009.
- PAN, L.; CHEN, S.; WENG, C.; TANG, H.; ZHANG, N.; XIE, T. Stem cell aging is controlled both intrinsically and extrinsically in the *Drosophila* ovary. **Cell stem cell** . 2007.
- PARKER, G. A. Sexual selection and sexual conflict. **Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects**. 1979.
- PARTRIDGE, L.; BARTON, N. H. Evolution of aging: Testing the theory using *Drosophila*. **Genetica**. 1993.

- PARTRIDGE, L.; FOWLER, K. Responses and correlated responses to artificial selection on thorax length in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**. 1993.
- PARTRIDGE, L.; HOFFMAN, A. A.; JONES, J. S. Male size and mating success in *Drosophila melanogaster* and *D. pseudoobscura* under field conditions. **Animal Behaviour**. 1987.
- PARTRIDGE, L.; SIBLY, R. Constraints in the female life-histories. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**. 1991.
- PÉLABON, C.; FIRMAT, C.; BOLSTAD, G. H.; VOJE, L. K.; HOULE, D.; CASSARA, J.; ROUZIC, A. L.; HANSEN, T. F. Evolution of morphological allometry. **Annals of The New York Academy of Sciences**. 2014.
- PRASAD, N. G.; JOSHI, A. What have two decades of laboratory life-history evolution studies on *Drosophila melanogaster* taught us? **Journal of Genetics**. 2003.
- PRESGRAVES, D. C. The molecular evolutionary basis of species formation. **Nature Reviews Genetics**. 2010.
- PRESGRAVES, D. C.; BALAGOPALAN, L.; ABMAYR, S. M.; ORR, H. A. Adaptive evolution drives divergence of a hybrid inviability gene between two species of *Drosophila*. **Nature**. 2003.
- PRIOLI, A. J.; BICUDO, H. E. M. C. Reproductive isolation in the *saltans* group of *Drosophila* II. the *parasaltans* subgroup. **Genetica**. 1978.
- REZNICK, D.; TRAVIS, J. The empirical study of adaptation in natural populations. In Adaptation. **Academic Press, San Diego**. 1996.
- RITCHIE, M. G.; HALSEY, E. J.; GLEASON, J. M. *Drosophila* song as a species-specific mating signal and the behavioural importance of Kyriacou & Hall cycles in *D. melanogaster* song. **Animal Behaviour**. 1999.
- ROBERTSON, F. W. Studies in quantitative inheritance X. Genetic variation of ovary size in *Drosophila*. **Journal of Genetics**. 1957.
- ROBERTSON, F. W. Studies of quantitative inheritance. XI. Genetic and environmental correlation between body size and egg production. **Journal of Genetics**. 1957.
- ROBERTSON, F. W. The ecological genetics of growth in *Drosophila*. The genetic correlation between the duration of the larval period and body size in relation to larval diet. **Genetics Research**. 1963.
- ROFF, D. A. Contributions of genomics to life-history theory. **Nat. Rev. Genet**. 2007.
- ROFF, D. A. Life History Evolution. **Sinauer, Sunderland, MA**. 2002.

- ROFF, D. A. The Evolution of Life Histories – Theory and Analysis. **Chapman and Hall, New York**. 1993.
- ROMAN, B. E.; MADI-RAVAZZI, L. Male terminalia morphology of sixteen species of the *Drosophila saltans* group *Sturtevant* (Diptera, Drosophilidae). **Zootaxa**. 2021.
- RONN, J.; KATVALA, M.; ARNQVIST, G. Coevolution between harmful male genitalia and female resistance in seed beetles. **PNAs**. 2007.
- ROSE, M. R. Artificial selection on a fitness-component in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**. 1984.
- ROSE, M. R. Evolutionary Biology of Aging. **Oxford. University Press**. 1991.
- ROSE, M. R. Theories of life history evolution. **American Zoologist**. 1983.
- ROSE, M. R.; BRADLEY, T. J. Evolutionary physiology of the cost of reproduction. **Oikos**. 1998.
- ROSE, M. R.; CHARLESWORTH, B. Genetics of life history in *Drosophila melanogaster*. I. Sib analysis of adult females. **Genetics**. 1981.
- SASABE, M.; TAKAMI, Y.; SOTA, T. QTL for the species-specific male and female genital morphologies in *Ohomopterus* ground beetles. **Molecular Ecology**. 2010.
- SAWAMURA, K.; TOMARU, M. Biology of reproductive isolation in *Drosophila*: toward a better understanding of speciation. **Population Ecology**. 2002.
- SAWAMURA, K.; YAMAMOTO, M. T. Cytogenetical localization of Zygotic hybrid rescue (*Zhr*), a *Drosophila melanogaster* gene that rescues interspecific hybrids from embryonic lethality. **Molecular and General Genetics**. 1993.
- SCHMIDT, P. S.; IPPOLITO, M. M.; EANES, W. Geographic variation in diapause incidence, life-history traits, and climatic adaptation in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**. 2005.
- SCHMIDT, P. S.; PAABY, A. Reproductive diapause and life-history clines in North American populations of *Drosophila melanogaster*. **Evolution**. 2008.
- SCHMIDT, P. S.; PAABY, A. B.; HESCHEL, M. S. Genetic variance for diapause expression and associated life histories in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**. 2005.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. Scaling: Why is Animal Size So Important? **Cambridge University Press**. 1984.
- SHINGLETON, A. W. The regulation of organ size in *Drosophila*: physiology, plasticity, patterning and physical force. **Organogenesis**. 2010.

SHINGLETON, A. W.; FRANKINO, A. W.; FLATT, T.; DOUGLAS, F. N.; EMLEN, J. Size and shape: the developmental regulation of static allometry in insects. **BioEssays**. 2007.

SIMMONS, L. M. Sexual selection and genital evolution. **Austral Entomology**. 2014.

SIMMONS, L. W.; GARCIA-GONZALES, F. Experimental coevolution of male and female genital morphology. **Nature communications**. 2011.

SIMMONS, M. J.; CROW, J. F. Mutations affecting fitness in *Drosophila* populations. **Annual Review of Genetics**. 1977.

SMITH, J. M. The Effects of Temperature and of Egg-Laying on the Longevity of *Drosophila Subobscura*. **Journal of Experimental Biology**. 1958.

SOTA, T.; KUBOTA, K. Genital lock-and-key as a selective agent against hybridization. **Evolution**. 1998.

SOTO, I. M.; CARREIRA, V. P.; SOTO, E. M.; MARQUEZ, F.; LIPKO, P.; HASSON, E. Rapid divergent evolution of male genitalia among populations of *Drosophila buzzatii*. **Evolutionary Biology**. 2013.

STEARNS, S. C. Life history evolution: successes, limitations, and prospects. **Naturwissenschaften**. 2000.

STEARNS, S. C. Life-history tactics: a review of the ideas. **The Quarterly review of biology**. 1976.

STEARNS, S. C. The Evolution of Life Histories. **Oxford University Press**. 1992.

STERN, D. L.; EMLEN, D. J. The developmental basis for allometry in insects. **Development**. 1999.

TAKAMI, Y.; SOTA, T. Rapid diversification of male genitalia and mating strategies in *Ohomopterus* ground beetles. **European Society for Evolutionary Biology**. 2007.

TANAKA, T.; YAMAZAKI, T. Fitness and its components in *Drosophila melanogaster*. **The Japanese Journal of Genetics**. 1990.

TANG, H. Y.; SMITH-CALDAS, M. S. B.; DRISCOLL, M. V. SALHADAR, S.; SHINGLETON, A. W. FOXO Regulates Organ-Specific Phenotypic Plasticity In *Drosophila*. **Plos Genetics**. 2011.

TANTAWY, A. O.; VETUKHIV, M. O. Effects of size on fecundity, longevity and viability in populations of *Drosophila pseudoobscura*. **The American Naturalist**. 1960.

TATARNIC, N. J.; CASSIS, G. Sexual coevolution in the traumatically inseminating plant bug genus *Coridromius*. **Journal of Evolutionary Biology**. 2010.

- TAYLOR, M. L.; WIGMORE, C.; HODGSON, D. J.; WEDELL, N.; HOSKEN, D. J. Multiple mating increases female fitness in *Drosophila simulans*. **Animal Behaviour**. 2008.
- TERADA, K.; TAKAHASHI, S.; TAKAMI, Y. Functional, genetic, and structural constraints on the exaggeration and diversification of male genital morphology in *Ohomopterus* ground beetles. **Entomological Science**. 2023.
- TRAVA, B. M.; MATEUS, R. P.; MACHADO, L. P. B.; MADI-RAVAZZI, L. Moderate Population Structure in *Drosophila sturtevantii* from the South American Atlantic Forest Biome. **Zoological Studies**. 2021.
- TU, M. P.; YIN, C. M.; TATAR, M. Mutations in insulin signaling pathway alter juvenile hormone synthesis in *Drosophila melanogaster*. **General and Comparative Endocrinology**. 2005.
- TURISSINI, D. A.; MCGIRR, J. A.; PATEL, S. S.; DAVID, J. R.; MATUTE, D. R. The Rate of Evolution of Postmating-Prezygotic Reproductive Isolation in *Drosophila*. **Molecular Biology and Evolution**. 2018.
- VEA, I. M.; SHINGLETON, A. W. Network-regulated organ allometry: The developmental regulation of morphological scaling. **Wiley Interdisciplinary Reviews**. 2021.
- VINCENT, B. J.; RICE, G. R.; WONG, G. M.; GLASSFORD, W. J.; DOWNK. I.; SHASTAY, J. L.; CHARLESOBI, K.; NATARAJAN, M.; GOGOM.; ZEITLINGER, J.; REBEIZ, M. An atlas of transcription factors expressed in male pupal terminalia of *Drosophila melanogaster*. **Gene Genome Genetics**. 2019.
- WATSON, P. J.; STALLMAN, R.; ARNQVIST, G. Sexual conflict and the energetic costs of mating and mate choice in water striders. **The American Naturalist**. 1998.
- WILLIAMS, G. C. Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. **Evolution**. 1957.
- YASSIN, A. Unresolved questions in genitalia coevolution: bridging taxonomy, speciation, and developmental genetics. **Organisms Diversity & Evolution**. 2016.
- YASSIN, A.; ORGOGOZO, V. Coevolution between Male and Female Genitalia in the *Drosophila melanogaster* Species Subgroup. **PloS One**. 2013.
- ZHAO, R.; XUAN, Y.; LI, X. R, XI. Age-related changes of germline stem cell activity, niche signaling activity and egg production in *Drosophila*. **Aging Cell**. 2008.
- ZORZATO, S. V.; YASSIN, A.; MADI-RAVAZZI, L. Signature of climatic differentiation on mitochondrial DNA of *Drosophila sturtevantii*. **Mitochondrial DNA Part A**. 2022.

ZWAAN, B.; BIJLSMA, R.; HOEKSTRA, R. F. Artificial selection for developmental time in *Drosophila melanogaster* in relation to the evolution of aging: direct and correlated responses. **Evolution**. 1995.

ZWAAN, B.; BIJLSMA, R.; HOEKSTRA, R. F. Direct selection on life span in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**. 1995.