



INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

LUCAS BAPTISTA DUARTE

**COLONIZAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES RECURSOS TRÓFICOS POR
DROSOPHILIDAE (INSECTA, DIPTERA) EM ABORDAGENS DE REDE DE
INTERAÇÃO**

PORTO ALEGRE

2024

LUCAS BAPTISTA DUARTE

**COLONIZAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES RECURSOS TRÓFICOS POR
DROSOPHILIDAE (INSECTA, DIPTERA) EM ABORDAGENS DE REDE DE
INTERAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

Área de concentração: Biologia Animal

Linha de pesquisa: Ecologia e História Natural

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Vera Lúcia da Silva Valente Gaiesky

Co-orientador: Marco Silva Gottschalk

PORTO ALEGRE

2024

LUCAS BAPTISTA DUARTE

**COLONIZAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES RECURSOS TRÓFICOS POR
DROSOPHILIDAE (INSECTA, DIPTERA) EM ABORDAGENS DE REDE DE
INTERAÇÃO**

Aprovado em _____ de _____ de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hermes José Schmitz

Universidade Federal da Integração Latino-Americana - UNILA

Prof^a. Dra. Juliana Cordeiro

Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Prof. Dr. Rogério Pincela Mateus

Universidade do Centro-Oeste - UNICENTRO

Dedicatória

Esta tese é fruto do período mais sombrio que nosso país já enfrentou e, por isso, dedico a todos aqueles que, infelizmente, não tiveram a possibilidade de permanecer em suas casas.

Epígrafe

*“Quando sua mente pensar em
desistir, DESISTA!”*

Agradecimentos

Agradeço acima de tudo a Deus, por me permitir chegar até aqui, passar por tudo que passei ao longo desse período. Agradeço por aquilo que conquistei, mas também por aquilo que foi tirado do meu caminho, mesmo que na grande maioria das vezes eu não entenda os motivos.

Agradeço a Professora Vera por aceitar me orientar, mesmo sem saber quem eu era. Por acreditar em mim e acima de tudo pelas palavras positivas sobre o trabalho, enxergando as qualidades que muitas vezes eu não conseguia.

Agradeço ao Professor Marco pela co-orientação, pela amizade, por me receber no laboratório da UFPel e sempre me deixar a vontade quando muitas vezes não me sentia pertencente aquele lugar, mas acima de tudo, por todas as trocas que tivemos nesses 13 anos de parceria.

Agradeço meus pais, Luiz e Cinara, por acreditarem nos meus sonhos e sempre apoiarem meus voos. É por vocês que hoje trilho esse caminho.

Agradeço ao meu irmão, Steven, pela amizade e pelos momentos divertidos que temos juntos. Você me ensina muito com seu jeito leve de levar as coisas.

Agradeço a minha esposa, Taiane, pela vida que compartilhamos, pelos projetos que nos jogamos, pelos sonhos que almejamos, pelas conquistas que realizamos até aqui e acima de tudo, pelo apoio incondicional que recebo constantemente, principalmente nos momentos em que tudo parecia estar perdido.

Agradeço a minha tia Rosali e minha prima Luiza pela hospedagem em Porto Alegre enquanto cursava as disciplinas.

Agradeço aos professores do Programa de Pós Graduação em Biologia Animal pelas aulas, saídas de estudos e ensinamentos. Gostaria de ter aproveitado mais o que o curso tem a oferecer, mas as circunstâncias não permitiram.

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

SUMÁRIO

RESUMO	09
ABSTRACT	10
Introdução geral	11
Interações ecológicas	11
A Família Drosophilidae.....	13
Sítios de alimentação e oviposição	15
Redes de interação	16
Objetivos.....	18
Objetivos gerais	18
Objetivos específicos.....	18
CAPÍTULO I.....	19
From visit to emergence: Interaction between mycophagous Drosophilidae (Insecta, Diptera) and macroscopic fungi (Basidiomycota) and their patterns in ecological networks (Artigo submetido para Revista Brasileira de Entomologia)	20
Abstract.....	21
Introdução.....	22
Material e Métodos.....	23
Resultados.....	27
Discussão	29
Financiamento	31

Referências	31
Figuras	38
Tabelas.....	41
Material suplementar	47
CAPÍTULO II.....	50
Da floresta à cidade: Colonização dos frutos por Drosophilidae (Insecta, Diptera) como sítio de oviposição em um gradiente ambiental em Santa Catarina, Brasil.....	51
Abstract.....	51
Introdução.....	52
Material e Métodos	54
Resultados.....	56
Discussão.....	59
Financiamento	62
Referências Bibliográficas.....	62
Figuras	67
Tabelas.....	69
Material suplementar	74
Conclusões gerais e perspectivas	83
Referências Bibliográficas.....	85
Anexos.....	92

RESUMO:

Compreender a história de vida e os padrões de distribuição das comunidades de Drosophilidae nos permite entender o funcionamento dos ecossistemas e consequentemente como preservá-los, visto que esses organismos apresentam rápida resposta às alterações ambientais. Por se tratar de um grupo diverso e heterogêneo analisamos os padrões de utilização dos recursos, bem com a especialização de cada espécie em relação ao recurso, de forma a ampliar o conhecimento acerca destes organismos. No Capítulo I analisamos os drosofilídeos micófagos/fungívoros em diferentes espécies de fungos macroscópicos basidiocarpos através de redes de interação ecológica para visitação (sobrevoadando) e para emergência. Observamos redes altamente especializadas, com forte interação entre *Hirtodrosophila* e *Auricularia*. Já no capítulo II analisamos a estrutura de redes de interação ecológica para drosofilídeos frugívoros ao analisar emergência de frutos de diferentes espécies vegetais obtidos na ilha de Florianópolis – Santa Catarina em um gradiente entre Mata Atlântica e área urbana, aonde observamos o fator antrópico sobre essas comunidades e como isso altera a utilização dos recursos. Semelhante do que observamos com as mic fagas, as redes geradas para as interações moscas-frutos na Mata Atlântica e na cidade foram especializadas, no entanto observamos fortes interações entre *Drosophila simulans* e *Drosophila willistoni* com o fruto *Syagrus romanzoffiana* na Mata Atlântica e *D. busckii* com o fruto *Passiflora edulis* na área urbana. No geral os trabalhos gerados nessa tese ampliam o conhecimento acerca da utilização dos recursos pelas assemb ias de Drosophilidae, além de serem pioneiros na utilização de redes de interação para as comunidades mic fagas e frugívoras.

Palavras-chave: Diptera; redes ecológicas; especialização; interações tróficas; fungivoria; inseto-planta; inseto-fungo.

ABSTRACT:

Understanding the life history and distribution patterns of Drosophilidae communities allows us to comprehend ecosystem functioning and, consequently, how to preserve them, given that these organisms exhibit rapid responses to environmental changes. Due to their diverse and heterogeneous nature, we analyzed resource utilization patterns and the specialization of each species in relation to these resources, aiming to enhance knowledge about these organisms. In Chapter I, we examined mycophagous/fungivorous drosophilids on different species of macroscopic basidiocarp fungi, investigating interaction networks for visitation (hovering) and emergence. We observed highly specialized networks, with strong interactions between *Hirtodrosophila* and *Auricularia*. In Chapter II, we analyzed the structure of ecological interaction networks for frugivorous drosophilids by studying fruit emergence from various plant species on Florianópolis Island, Santa Catarina, along a gradient from the Atlantic Forest to urban areas. We observed anthropogenic factors influencing these communities and altering resource utilization. Similar to the patterns observed with mycophages, the networks generated for fruit-fly interactions in the Atlantic Forest and the city were specialized. However, we observed strong interactions between *Drosophila simulans* and *Drosophila willistoni* with the fruit *Syagrus romanzoffiana* in the Atlantic Forest, and *D. busckii* with the fruit *Passiflora edulis* in the urban area. Overall, the studies in this thesis contribute to expanding knowledge about resource utilization by Drosophilidae assemblages and are pioneering in the use of interaction networks for both mycophagous and frugivorous communities.

Keywords: Diptera; ecological networks; especialization; trophic interactions; frugivory; insect-plants; insect-fungus.

INTRODUÇÃO GERAL

Interações ecológicas

Segundo Darwin (1979), a explosão do *Big Bang* nada mais foi do que o conjunto de processos biogeoquímicos originados da interação entre elementos, que proporcionaram subsequentes interações de outros elementos dando origem, assim, à vida na Terra. Da origem dessa vida ao que conhecemos hoje é resultado de inúmeras interações que proporcionaram a evolução dos seres. As interações ecológicas são diversas e ocorrem de forma dinâmica na natureza, propiciando a imensa diversidade existente (Pereira *et al.*, 2014). Também conhecidas como interações tróficas, essas relações são estudadas pela Ecologia, sendo as mais conhecidas da ciência a competição, predação, parasitismo e mutualismo (Begon *et al.*, 1996). Essas interações podem ser intra ou interespecíficas e podem apresentar diferentes resultados para os organismos envolvidos (Chamberlain *et al.*, 2014).

Entre as interações possíveis, a interação mutualística planta-animais tem sido fortemente estudada. Uma explicação é sua importância ecológica para a restauração da vegetação e a consequente manutenção da diversidade biológica, visto que muitos animais desempenham papel fundamental na polinização e dispersão de sementes (Forup *et al.*, 2008; Bascompt & Jornado, 2007; Ibanez, 2012; Losapio *et al.*, 2015). Essas interações dependem de um conjunto de fatores, que vão além dos personagens principais da interação, como o habitat onde os organismos interagem e este, por sua vez, depende de uma série de fatores bióticos e abióticos que proporcionam todo desenvolvimento das relações.

Perturbações causadas por eventos naturais como seca, chuva excessiva, geada e fogo alteram as condições ambientais, acarretando um desenvolvimento diferenciado da vegetação desses locais, quando comparado com áreas adjacentes mais preservadas (Araújo *et al.*, 1997). Os animais, por sua vez, apresentam mecanismos cognitivos e perceptuais que os auxiliam nas decisões diárias, como, por exemplo, do que, quando, como e onde se alimentar, e essas tomadas de decisões afetam diretamente a sobrevivência, reprodução e valor adaptativo dos indivíduos (Del-Claro & Torezan-Silingardi, 2012), visto que as interações ocorrem segundo um princípio fundamental na

natureza: “*tudo deve comer, e a maioria dos organismos se arrisca a ser comida*” (Ricklefs, 2003).

No entanto, não apenas os animais são capazes de tomar essas decisões, as plantas também evoluíram e se adaptaram para garantir sua sobrevivência. Esse processo de evolução está diretamente associado aos processos de interação e, no caso das plantas, mais especificamente a herbivoria foi a principal responsável por esse processo (Lovatto *et al.*, 2012; Lima *et al.*, 2013). Compreender esses processos de interação entre plantas e herbívoros nos permite entender o funcionamento das cadeias e teias tróficas presentes nos ecossistemas, possibilitando assim o manejo adequado desses ambientes para sua manutenção e conservação (Gonçalves, 2015).

A herbivoria é considerada, entre as interações existentes, a de maior importância evolutiva para as plantas (Lima *et al.*, 2013), no entanto não são apenas as plantas que se beneficiam com essa interação, uma vez que os insetos se adaptaram e evoluíram juntamente com as plantas para garantir a continuidade dessa inter-relação. Considerado por muitos autores como uma “corrida armamentista evolutiva” onde a evolução das plantas para impedir a herbivoria ou atração de polinizadores força a evolução dos organismos que fazem parte da interação (Gottlieb & Borin, 2012).

Segundo Nascimento (2011), plantas e insetos desenvolveram uma relação de mútua dependência quando o assunto é alimentação e reprodução. Se por um lado as plantas fornecem alimento, abrigo e local para reprodução e deposição dos ovos, por outro lado os insetos como borboletas, abelhas, moscas, entre outros são os principais responsáveis por garantir a reprodução das plantas, atuando como dispersores e polinizadores, garantindo assim a reprodução cruzada e aumentando a variabilidade genética.

Uma escolha decisiva para a propagação da espécie diz respeito à escolha do sítio de oviposição pela fêmea, onde os ovos serão depositados e deverão se manter até a eclosão, garantindo a sobrevivência da larva nesse local, que deve ter as condições bióticas e abióticas favoráveis para o desenvolvimento. O local precisa prover proteção contra predação, além de condições hídricas, térmicas e principalmente nutricionais para proporcionar o desenvolvimento, uma vez que ovos e juvenis são sensíveis a mudanças microclimáticas (Martin, 2001). Dessa forma, Lovatto *et al.* (2012) sugerem que as interações são um processo de coevolução entre plantas, insetos e microorganismos que vem se desenvolvendo por milhões de anos.

Nesse sentido, a micofagia ou fungivoria apresenta-se como uma interação semelhante a que ocorre na herbivoria. Fungos são recursos efêmeros e são utilizados por uma grande diversidade de insetos, que depositam seus ovos nos corpos de frutificação, que servirão de alimento para as larvas após a eclosão (Groff *et al.*, 2022). A interação inseto-fungo vai depender da utilização do recurso, podendo constituir predação quando ocorrer o consumo do micélio ou mutualismo quando esse micélio for dispersado no ambiente (Groff *et al.*, 2022).

Segundo Navarrete-Heredia & Miranda (1997) os animais que apresentam associação com fungos são classificados como micetócolos e estes, por sua vez, são subdivididos em três grupos funcionais de acordo com o tipo de interação apresentada, podendo ser: 1) Micetoxenos, quando visitam ocasionalmente o fungo; 2) Micetófilos, quando se alimentam de recursos em decomposição ou são predadores de outros insetos micofílicos; 3) Micetobiontes, quando apresentam associação obrigatória com o fungo, ou seja, fase juvenil e adulta dependem exclusivamente desse recurso.

A família Drosophilidae

Composta por moscas diminutas com tamanho que varia de 1 a 8 mm e coloração que vai do amarelo passando ao castanho até o preto (Fig. 1), são popularmente conhecidas como mosca da fruta ou mosca do vinagre (Perveen, 2018). A família é cosmopolita com algumas espécies endêmicas, apresenta uma distribuição global, sendo facilmente encontrada, com exceção das regiões árticas (Throckmorton, 1975), e por isso é considerado um táxon diverso, relativamente bem conhecido e de fácil amostragem (Poppe *et al.*, 2012). Com aproximadamente 4.650 espécies descritas e distribuídas em 73 gêneros, a família é dividida em duas subfamílias, Steganinae e Drosophilinae, esta última comportando a maior diversidade (Bächli, 2024). No Brasil, 374 espécies são descritas (Tidon *et al.*, 2024) para os diferentes biomas (Da Mata, 2007; Döge *et al.*, 2008; Poppe *et al.*, 2016; Santa-Brígida *et al.*, 2017), no entanto estima-se que esse número possa ser bem maior.



Figura 1. Variação morfológica entre as espécies de Drosophilidae. Foto: Lorin Timaeus in: <https://www.inaturalist.org/posts/43576> boletim publicado em 12 de Novembro de 2020 no perfil Carnifex.

Estudos com esses organismos tiveram origem em 1910 com pesquisas nas áreas da Genética, utilizando a espécie *Drosophila melanogaster* em estudos com cruzamentos, o que garantiu a espécie o título de *organismo modelo* nos estudos de eucariotos modernos (Markow & O'Grady, 2007; Markow & O'Grady, 2008; Sepel & Loreto, 2010). A espécie foi responsável por produzir importantes descobertas, como evidências para a hipótese de herança cromossômica e assim a produção dos primeiros mapas de posição e distância de *loci* gênico (Martins, 1998). Algumas características desses indivíduos, como ciclo de vida curto (permitindo novas gerações a cada dez dias), prole numerosa, fácil captura e manutenção em laboratório, garantiram com que eles se tornassem um modelo em estudos genéticos e posteriormente em outras áreas (Ashburner et al., 1983; Sepel & Loreto, 2010).

As primeiras descobertas genéticas de Thomas Hunt Morgan em 1910 utilizando *D. melanogaster* como modelo biológico, abriram a possibilidade de sua utilização (e de outros membros da família) em outras pesquisas, como na área médica em estudos sobre patologias humanas, processo de envelhecimento, câncer, mal de Alzheimer, comportamento de aprendizagem, alcoolismo, entre outros (Sepel & Loreto, 2010) e assim, ganhou espaço sendo uma alternativa substituta ao uso de mamíferos em pesquisas científicas (Morales, 2008).

Na área de Ecologia e Biologia da Conservação, ganharam o *status* de bioindicadores, ou seja, refletem as mudanças no ambiente onde ocorrem, servindo de medida indireta de alterações ambientais. Segundo Dale & Beyeler (2001), os organismos que atuam como bioindicadores devem ser sensíveis às mudanças do ecossistema, porém precisam se manter estáveis para possibilitar sua detecção e monitoramento constante. Segundo Rice (2003), a utilização de bioindicadores para fins de estudos de conservação, é melhor observada na avaliação das comunidades, uma vez que permite extrapolação mais abrangente dos resultados. No entanto, a bioindicação pode ocorrer em outros níveis organizacionais, além das comunidades, e pode ser medida por diferentes parâmetros, como por exemplo, presença/ausência, abundância relativa, sucesso reprodutivo, composição e/ou diversidade da comunidade, estrutura trófica, entre outros (Landres *et al.*, 1988; Rice, 2003). Além das características de fácil amostragem e manipulação em laboratório, os drosofilídeos apresentam rápida resposta às alterações ambientais, sendo cada vez mais utilizados como bioindicadores, visto que muitas espécies são encontradas em áreas antropizadas (Tidon, 2006; Gottschalk *et al.*, 2007; Garcia *et al.*, 2009).

Sítios de alimentação e oviposição

As espécies de Drosophilidae alimentam-se de leveduras que se desenvolvem sobre a matéria orgânica em decomposição (Dobzhansky & Pavan, 1950) e por muito tempo estudos com a família Drosophilidae utilizaram isca de banana fermentada como forma de atrativo para a obtenção dos organismos e assim compreender os padrões das comunidades e a história de vida desse grupo (Okada & Carson, 1983; Goñi *et al.* 1998; De Toni *et al.*, 2001; Schmitz *et al.*, 2007; Hochmüller *et al.*, 2010; Duarte *et al.*, 2018). No entanto, essa metodologia mostrou-se restrita com relação à grande diversidade do grupo e as informações a respeito da escolha dos sítios de oviposição utilizados por esses organismos não eram suficientes para compreender os padrões na utilização de diferentes recursos.

Atualmente sabe-se que a família Drosophilidae é encontrada em uma variedade de recursos que vão muito além dos frutos, como as flores de algumas espécies botânicas, entre elas o gênero *Cestrum* (Brncic, 1983; Dos Santos & Vilela, 2005), associadas a cactos (Moraes & Sene, 2003), guano de morcego (Tosi *et al.*, 1990), carcaças de insetos e carne (Lachaise & Tsacas, 1983) e associados a corpos de frutificação (Gottschalk *et al.*, 2009; Valer *et al.*, 2016).

Para completar seu ciclo de vida algumas Drosofilídeos adultos utilizam diversos frutos como sítio de oviposição, perfurando-os para deposição dos ovos, que ao eclodir liberam as larvas que se alimentam da polpa e conseqüentemente provocando a queda prematura, inviabilizando o consumo e comércio dos mesmos (Vieira *et al.*, 2019). Já no solo, os frutos são colonizados por uma diversidade de espécies, uma vez que as larvas se alimentam dos microrganismos que decompõem a matéria orgânica. No entanto, nem só frutos de importância econômica esses organismos colonizam (De Toni *et al.*, 2007; Roque *et al.*, 2009; Hochmüller *et al.*, 2010; Mendes *et al.*, 2017). De encontro a isso, estudos subsequentes forneceram evidências de que algumas espécies são consideradas pragas agrícolas, uma vez que colonizam alguns frutos de importância comercial causando prejuízos econômicos para o país. Uma das espécies mais prejudiciais para as lavouras é *D. suzukii*, originária do Japão e em crescente expansão territorial, essa espécie é facilmente encontrada em frutos como cereja, amoras, framboesas, entre outros, sendo o mirtilo o preferido pela espécie (Lee *et al.*, 2001; Walsh *et al.*, 2011). Também há registros da infestação da espécie em cultivos de morango (Dos Santos, 2014). No Brasil, foi detectada pela primeira vez em 2013 no Rio Grande do Sul (Souza *et al.*, 2013) e por Deprá *et al.* (2014) que simultaneamente também a encontraram em Santa Catarina.

Redes de Interação

As interações entre os organismos de um determinado local podem ser representadas através do método de redes de interação. A utilização de redes torna-se uma excelente ferramenta que fornece informações sobre processos ecológicos e evolutivos, sobre a história de vida dos organismos e sobre o funcionamento do ecossistema (Lewinsohn *et al.*, 2006). A rede é representada por um grafo, ou seja, uma representação gráfica de um conjunto de dados (por exemplo, duas espécies) e suas respectivas interações, onde as espécies são representadas pelos *nós* ou *vértices* e as interações representados pelas *arestas* ou *links* (Jordano *et al.*, 2003; Lewinsohn *et al.*, 2006). No entanto, os organismos desempenham diferentes tipos de relações no ambiente, e nem sempre as interações são tão bem compreendidas e estudadas.

Dois características que parecem comuns entre as redes mutualísticas entre organismos são o aninhamento e a modularidade (Fig. 2). Segundo Bascompte *et al.* (2003), o aninhamento é um tipo de assimetria na especialização da rede. Uma rede aninhada caracteriza-se por: 1) Maior parte das interações representadas pelas espécies generalistas interagindo entre si; 2) Espécies com poucas interações (especialistas)

normalmente interagem com generalistas; 3) Ausência de interações entre especialistas.

Já a modularidade forma subgrupos (módulos) de organismos estreitamente conectados, e estes módulos podem se ligar a outros por meio de espécies que interagem além de seus módulos (Mello *et al.*, 2011).

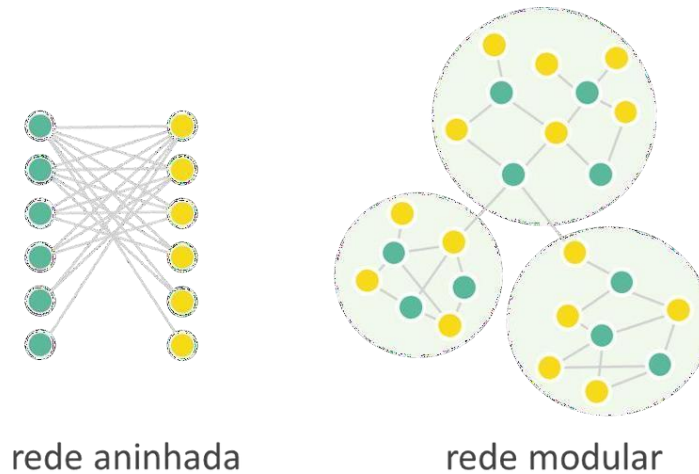


Figura 2. Estrutura de redes de interação demonstrando aninhamento e modularidade. Esta figura foi retirada do banco de dados Web of Life (<http://www.web-of-life.es>), que disponibiliza centenas de redes de interações estudadas por pesquisadores do mundo inteiro.

Estudos de rede também analisam o grau de conectância, de forma que a conectância de uma rede é dada pela razão entre o número de interações interespecíficas existentes e o número total de possíveis interações, ou seja, o percentual de interações que ocorre em uma determinada rede pode ser medido (Pigozzo & Vianna, 2010). Nesse sentido, estudos com redes de interação possibilitam identificar de forma mais acurada o grau de especialização das espécies na utilização de determinado recurso. No entanto, ainda são escassos os estudos dedicados a analisar as interações entre Drosophilidae e seus recursos sob a perspectiva de redes tróficas (por exemplo, Cordeiro *et al.*, 2020).

Em seu estudo, Cordeiro *et al.*, (2020) analisaram a estrutura das redes ecológicas para compreender os padrões de interação entre plantas e drosofilídeos floríferos (utilizando flores como sítio de reprodução), para isso foram analisados mais de 42 mil flores pertencentes a 82 espécies vegetais. Nesse sentido foi possível identificar alto grau de especialização para a maioria das espécies analisadas, tanto em escala local comoregional, além de uma rede altamente modular e não aninhada.

Apesar de pouco abordado para esse grupo de dípteros, análises de rede com insetos são amplamente utilizadas para compreender seus padrões de interação (Schoenly *et al.*, 1991; Frank van Veen *et al.*, 2006; Yamashita *et al.*, 2015; Kawatsu *et al.*, 2021)

Objetivos

Objetivo geral

Contribuir com o conhecimento sobre a diversidade de Drosophilidae, ampliando as informações acerca dos padrões de utilização dos diferentes recursos tróficos por meio de metodologia de redes de interação.

Objetivos específicos

1. Compreender os padrões de utilização de diferentes recursos tróficos por espécies de Drosophilidae (Capítulo I e II);
2. Compreender os padrões de distribuição das espécies de Drosophilidae no uso dos recursos tróficos utilizando metodologia de redes de interação (Capítulo I e II);
3. Identificar as métricas de redes de interações, incluindo especialização entre os Drosophilidae e os corpos de frutificação (Basidiomycota) de diferentes espécies de fungos macroscópicos em uma área de Pampa (Capítulo I);
4. Identificar as métricas das redes de interações, incluindo especialização entre Drosophilidae e frutos de diferentes espécies de plantas e relacioná-los ao grau de urbanização em uma área de Mata Atlântica (Capítulo II).

CAPÍTULO I

Manuscrito aceito na *Revista Brasileira de Entomologia* (RBE)

dia 28 Fevereiro de 2024.

From visit to emergence: Interactions between mycophagous Drosophilidae (Insecta, Diptera) and macroscopic fungi (Basidiomycota) and their patterns in ecological networks

Lucas Batista Duarte ^a, Felipe Berti Valer ^b, Jeferson Vizentin-Bugoni ^c, Eduardo Bernardi ^d, Vera Lúcia da Silva Valente ^e, Marco Silva Gottschalk ^{f*}

^a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Campus do Vale, Agronomia, Av. Bento Gonçalves, 9500, 90650-001, Porto Alegre, RS, Brasil. ORCID: 0000-0001-9750-12643 E-mail:

luca_baptista_duarte@yahoo.com.br

^b Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – FCFRP, Departamento de Ciências BioMoleculares. ORCID: 0000-0001-6286-3811 E-mail: fbvaler@gmail.com

^c Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética. Campus Universitário do Capão do Leão s/nº, 96160-000, Capão do Leão, RS, Brasil. ORCID: 0000-0002-6343-3650 E-mail: jbugoni@yahoo.com.br

^d Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia. Campus Universitário do Capão do Leão s/nº, 96160-000, Capão do Leão, RS, Brasil. ORCID: 0000-0003-0653-4516 E-mail: edu.bernardi@hotmail.com

^e Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Departamento de Genética. Campus do Vale, Agronomia, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil. ORCID: 0000-0001-8661-6284 E-mail: vvlecat@gmail.com

^f Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Laboratório de Evolução e Genética de Insetos. Campus Universitário do Capão do Leão s/nº, 96160-000, Capão do Leão, RS, Brasil. ORCID: 0000-0002-9453-4331 E-mail: marco.gottschalk@yahoo.com

* Correspondence author

Abstract. Ecological interactions are diverse, variable across space and time and not always well understood. The use of interaction networks becomes a tool that provides information on ecological and evolutionary processes. The interaction between insects and fungi is an interesting research model, helping to understand colonization dynamics and species specialization in spatially aggregated and ephemeral resources. Here, we described the interactions between Drosophilidae species and the fungal basidiocarps in a subtropical forest in Brazil. The flies were collected by visiting the basidiocarps and then the basidiocarps themselves were also collected to obtain the emerging flies whose larvae fed on fungi. We observed 31 species of drosophilids interacting with basidiocarps of 23 fungi species. An ecological network analysis was performed for the drosophilids breeding on basidiocarps and for those visiting them as adults. We observed a specialized breeding network, with stronger interactions involving *Hirtodrosophila* and *Auricularia* and *Zygothrica bilineata* and a *Marasmius* species. Our results indicate the generalist habit of most *Zygothrica* species. The visitation network was highly specialized. Despite being well represented in the sampling, most *Zygothrica* species did not emerge from any fungal species. This study advances the knowledge on patterns of Drosophilid-fungi interactions and provides insights into their drivers.

Keywords: Ecological guild, mycophily, mushrooms, resource utilization, subtropical ecology

Introduction

Ecological interactions are diverse and dynamically manifest in nature, engendering the biological diversity observed in the present day (Pereira et al., 2014). These interactions, which can be either intra- or interspecific, invariably exert an influence on the involved organisms (Chamberlain et al., 2014). A paradigmatic example is the mutualism between plants and animals, which has garnered considerable attention due to its ecological significance in sustaining biological diversity and bolstering vegetation restoration. This is primarily because myriad animals are instrumental in pollination and seed dispersal (Forup et al., 2008; Bascompte and Jordano, 2007; Ibanez, 2012; Losapio et al., 2015). Consequently, the employment of interaction networks has emerged as an invaluable tool, furnishing insights into ecological and evolutionary processes, life histories of organisms, and ecosystem functioning (Lewinsohn et al., 2006). Customarily, networks are depicted as graphs, where species are symbolized by nodes or vertices, and interactions are represented by edges or links (Lewinsohn et al., 2006). Nonetheless, organisms partake in an array of relationships in the environment, and the intricacies of these interactions remain enigmatic.

Basidiomycota mushrooms, or basidiocarps, constitute a propitious model for examining ecological interactions owing to their amenability to sampling, spatial and temporal discreteness, and the diverse array of toxic chemicals exhibited by different taxa, which renders them as coveted hosts for insects (Hanski, 1989; Courtney et al., 1990). Typically, host fungi have been perceived as trophic resources, with mycelia being foraged upon by both adult insects and larvae. Additionally, insects facilitate the dispersal of fungal propagules such as spores, hyphae, or yeast cells, which is advantageous for the fungus (Tuno, 1999; Birkemoe et al., 2018).

From the vantage point of insects, various studies have underscored the import of ecological partitioning (Takahashi et al., 2005), specialization (Yamashita et al., 2015; Valer et al., 2016; Jacobsen et al., 2018; Lunde et al., 2022), intra- and interspecific competition (Grimaldi and Jaenike, 1984; Grimaldi, 1985), aggregation of adults and larvae, spatiotemporal dynamics (Takahashi et al., 2005), and tolerance to toxic compounds (Spicer and Jaenike, 1996, Stump et al., 2011). Concerning interactions between insects and fungi, networks have been observed to exhibit specialization. For instance, Yamashita et al. (2015) discovered that the structure of

Coleoptera-fungus quantitative interaction networks in a tropical forest in Borneo was specialized and markedly influenced by the dominant fungus *Ganoderma*.

Drosophilidae, a family of insects, exhibits a pronounced ecological affinity with basidiocarps. This association appears to be evolutionarily conserved in certain lineages, including some *Drosophila* and the *Zygothrica* species (Courtney et al., 1990; Gautério et al., 2020; Zhang et al., 2021). Throckmorton (1975) postulated that mycophagy emerged independently several times throughout the evolution of Drosophilidae, likely as a derivative of detritivorous habits. Contemporary studies lend credence to this hypothesis, suggesting that mycophagy evolved independently in at least two lineages: within the subgenus *Drosophila*, where certain lineages predominantly breed in decaying fungi; and within the *Zygothrica* genus group, which specializes in fresh fungi (Zhang et al., 2021). Consequently, the relationship with fungi transcends merely utilizing them as a food source, as Drosophilidae also exploit fungi for oviposition, larval breeding, and as arenas for sexual courtship (Grimaldi, 1987).

In this context, the present study aims to describe the patterns of interactions between drosophilids and basidiocarps of macroscopic fungi in from a forest community southern Brazil. We built two ecologically distinct interaction networks – a *visitation network*, which included all drosophilids flying over fungi and using it for multiple purposes, and an *emergence network* which included all drosophilids emerging from fungi tissues. To elucidate patterns of resource use and specialization, we specifically used null models to test whether these networks presented specialized, modular and/or nested structure. Based on literature, we expected that networks will be nested but not modular, presenting lower level of specialization in resource use (Courtney et al., 1990). We also described individual species' specialization in order to identify key resources (fungi) and fungivores. Based on literature (Courtney et al., 1990), we expected low levels of specialization.

Material and Methods

Study area

The study was carried out in a Restinga Forest patch, namely, Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, which is a protected area encompassing approximately 23 hectares of forest (31°48'54"S; 52°25'48"W), situated in the municipality of Capão do Leão, Rio

Grande do Sul, in southern Brazil. This forest patch is inserted in the Pampa Biome, in close proximity to the Atlantic coast, and is characterized by vegetation that is influenced by the Submontane Seasonal Semideciduous Forest (Waechter, 1985). Climate is categorized as Mesothermal Mild Superhumid, with rainfall evenly distributed throughout the year. Climatological data from the Pelotas Agroclimatological Station (8.7 kilometers distant from the sampling site) for the interval spanning 1971 to 2000 indicate mean annual temperature of 17.8°C, with mean maximum and minimum temperatures of 28.2°C and 8.6°C, respectively. The annual precipitation sums 1,367 mm, distributed across approximately 120 days of rainfall. The annual mean relative air humidity averaged 80%, with frequent occurrences of fog. The study site is surrounded by croplands, swamps, and naturally dry or seasonally flooded grasslands.

Sampling

Surveys for basidiocarps, which were associated with soil, plant roots, leaf litter, or decaying wood, were conducted along a 200-m transect within the forest patch, extending up to 10 meters on either side. Sampling was undertaken in the morning hours on a monthly basis from February to May 2011 and in February, April, and June 2013. This period is the most suitable for fungi reproduction in the area which are, therefore, more locally abundant and conspicuous (personal observation). Each sampling session spanned approximately three hours, summing up 21 hours of sampling effort throughout the study period. For each basidiocarp detected, we collected insects observed flying over or landed on its surface using entomological nets or aspirators, and subsequently preserved in 70° GL ethanol. Each basidiocarp was carefully cut off using a penknife, photographed for identification purposes, and transported to the laboratory into plastic bags. In laboratory, the basidiocarps were weighed using a precision scale before placed into glass containers containing autoclaved sand which was sealed with fabric. All basidiocarps belonging to the same species and originated from the same location were designated as a single sampling unit and placed into the same container. The basidiocarps were stored in a chamber and maintained at a temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$ for 4 to 5 weeks. During this period, the emergence of insects was monitored at intervals of 1 to 2 days. Emerging insects were aspirated and preserved in 70% ethanol. To prevent dehydration of the basidiocarps within the climatized chamber, water was

periodically sprayed into the containers. All emerging insects were collected but in the present study we focused on *Drosophilidae* individuals.

Identification of Biological Material

All drosophilids collected were identified based on external morphology and analysis of male genitalia, and entailed comparison with taxonomic descriptions available in specialized literature (Burla, 1956; Grimaldi, 1987; Grimaldi, 1990; Grimaldi, 2018; Vilela & Bächli, 2004; Vilela & Bächli, 2007). Female drosophilids were identified solely through external morphological analysis. For cryptic species (i.e., those which females cannot be identified by external morphology), female individuals present in a sample were assigned to species following the proportion of males of each species within the sample, assuming a 1:1 sex ratio.

The preparation of male genitalia followed methods by Wheeler & Kambysellis (1966), with modifications by Kaneshiro (1969). The taxonomic identification followed classifications proposed by Frota-Pessoa (1945), Burla (1956), Wheeler and Takada (1971), Grimaldi (1987, 1990, 2018), Vilela and Bächli (2004, 2007), and Junges et al. (2016, 2019).

Identification of fungi species was based on photographs of fresh basidiocarps taken in the field and consulting specialized literature (Lincoff, 1981, 2010; Putzke and Putzke, 1998; Polese, 2005; Laessle and Lincoff, 2010). We were able to include only fungal samples not in advanced stage of decomposition, which are amenable to identification.

Data analysis

We built two interaction networks which are quantitative interaction matrices where each row represents a drosophilid species i and each column represents a fungal species j ; the intersection a_{ij} denotes interaction frequencies. Interaction frequencies were computed by multiplying the absolute abundance (number of individuals, n_{ij}) with the relative frequency (f_{ij}) for each drosophilid species (i) in association with each fungus species (j). To mitigate the potential overestimation of interactions owing to varying reproductive strategies among drosophilid species and to reduce the impact of

outliers, interactions were normalized as $(n_{ij} * f_{ij} * 100)/m$, where m denotes the mass (in grams) of the fungi.

Biological interactions were categorized into:

[1] **Visitation** - This category comprises individuals observed flying over or landed on basidiocarps at the time of collection, which we refer hereafter as 'visits'. Drosophilid species were classified into those that [a] oviposit on fungi (as evidenced by emergence from collected basidiocarps), and [b] do not oviposit, as they were not observed to emerge from the basidiocarps, implying alternative use of the fungi not related to breeding, such as foraging, courtship, or mating sites.

[2] **Emergence networks** - This category encompasses interactions wherein basidiocarps are recognized by female drosophilids as suitable substrates for oviposition, and where the larval stages complete their development within the basidiocarps, consuming either the fungus or associated organisms such as bacteria or yeasts.

Quantitative network analysis was executed utilizing R Program version 4.1.3 (R Core Team, 2023), with packages *bipartite* version 2.16 (Dormann et al., 2008, 2009; Dormann, 2011), and *iNEXT* version 2.0.20 (Chao et al., 2014; Hsieh et al., 2016) to elucidate various network attributes, in conjunction with the *ggplot2* package version 3.3.5 (Wickham, 2016) for graphical representation.

For each network we calculated: *connectance*, defined as the ratio of observed links to the total possible links given the set of observed species; *Complementary specialization* using the $H2'$ metric, which quantifies the divergence of observed interactions from expected interactions under the assumption that resource use follow their availability, where availability is given by the matrix marginal totals. Specialization values span the range of 0 (lowest specialization possible) to 1 (highest specialization possible). Nestedness, quantified with the WNODF metric which estimate the non-overlap and decreasing fill of quantitative matrices (Almeida-Neto and Urtich, 2011). Nestedness occurs when the most less connected species (specialists) interact with subsets of the resources used by the most connected species (generalists). WNODF varies from 0 to 100 (maximum nestedness possible). Modularity was quantified using the metric Q and the optimization algorithm DIRTLPAwb+ (Beckett, 2016). A modular network occurs when subsets of species interact more among themselves than with

other species in the network, forming modules. Modularity range from 0 to 1 (maximum modularity possible). We used the *r2dtable* null model to assess the statistical significance of specialization, nestedness and modularity. This null model reshuffles interactions keeping dimensions (number of species in each trophic level) and marginal total as the observed matrix. We generated 1000 random matrices, calculated each of these three metrics for each of them and then calculate the 95% confidence interval. We considered a network structure to be statistically significant when the observed values fell above the 95% confidence interval generated from the null model. We used a second (more conservative) null model, *vaznull* which also constrain network connectance. Results were qualitatively similar to the ones obtained with *r2dtable* indicating that the network structure detected nor an artifact of null model choice.

We also calculated species-level specialization: d' index, derived from the *Kullback-Leibler* distance reflects the deviation of a species from a random distribution of available interaction partners. Similar to $H2'$, d' values also range from 0 (most generalist possible) to 1 (perfect specialist).

To predict the sufficiency of our sampling, rarefaction curves were generated using the *Vegan* package.

Results

We obtained a total of 149 fungal samples, out of which 118 were identifiable. Among the identifiable samples, 57 exhibited had emergence of Drosophilidae. We recognized 45 species of fungi, with 23 of them having emergence of Drosophilidae (Table 1). Additionally, our samples included 31 drosophilid species from the genera *Drosophila*, *Hirtodrosophila*, *Leucophenga*, *Mycodrosophila*, and *Zygothrica*. Out of these, 26 species comprising 4,620 individuals, emerged from 57 fungal samples, while 16 species, consisting of 277 individuals, were collected visiting 25 basidiocarp samples in the field (Figure 1).

In the emergence network reflecting fungi used as breeding sites (Figure 2), strong connections were observed between *Hirtodrosophila crioula* Junges, Robe and Gottschalk, 2019 and *Auricularia auricula-judae* (Bull.) J. Schröt., as well as between *Zygothrica bilineata* (Williston, 1896) and *Marasmius* sp.7 and *Lepiota* sp. When considering species-level specialization, *Z. bilineata* ($d' = 0.90$) and *A. auricula-judae* ($d' = 0.89$) were the most specialized species of Drosophilidae and Basidiomycota,

respectively (Table 2). Furthermore, the emergence demonstrated low connectance (0.14), and a high complementary specialization ($H2' = 0.73$). Its structure was not nested (WNODF= 10.92) but was modular ($Q=0.71$) presenting five modules (Table 4; Figure 2). The most interesting module was the third, this module includes a strong interaction between *A. auricula-judae* and *A. polytricha* (Mont.) Sacc.) and *Hirtodrosophila* species, with the interaction between *H. crioula* and *A. auricula-judae* being the most pronounced within this module.

The first module featured a somewhat significant interaction between the fungus *Agaricus* sp.7 and two yet-to-be-described species of the *Leucophenga* genus. The other members of module, which included fungi from the *Lepiota* and *Melanoleuca* genera as well as flies from the *Drosophila* genus, did not exhibit strong interactions.

In the visitation interactions, eleven Drosophilidae species interacted exclusively with a single fungus species; however, species specialization values (d') were generally low, with the notable exception of *D. paraguayensis* Duda, 1927 and *Marasmius* sp. (Table 3). Of particular note, nine species were collected in association with *A. auricula-judae*, five of which exclusively interacted with this fungus.

Additionally, *Zygothrica dispar* Wiedemann, 1830 and *Z. prodispar* Duda, 1925 were observed to exclusively visit *Marasmius* sp.7. On the other hand, the genus *Drosophila* exhibited only exclusive interactions: *D. nappae* Vilela, Valente and Bassoda-Silva, 2004 and *D. willistoni* Sturtevant, 1916 interacted with *Polyporus* sp.1, *Drosophila* sp.Z2 exclusively with *Marasmius* sp.2, and *D. paraguayensis* with *Marasmius* sp. This latter interaction was the most specialized within this network.

Among the species observed visiting the basidiocarps, *Z. dispar*, *Z. prodispar*, *Z. orbitalis* Sturtevant, 1916, *Z. vittimaculosa* Burla, 1956, *Z. ptilialis*, and *Zygothrica* Z002 were not recorded emerging from any fungal species. Notably, all interactions of these species were exclusively with a single fungus species.

The visitation network showed low connectance (0.19) and it was highly specialized ($H2' = 0.65$). It was also not nested ($NODF = 18.99$) but it was modular ($Q=0.57$), having five modules (Figure 3). The strongest interactions occur in module 4 between *Z. ptilialis* and *Marasmius* sp.5 and in first module between *Z. bilineata* and the fungus *Marasmius* sp.7, repeating the configuration seen in emergence modularity. Differently from what happens in the emergence modularity, in the new modularity *Z.*

bilineata starts to interact in a less strong way with *Tricholoma* sp. represented in the first module. The composition of the visitation modules was totally different from that generated in the emergence, with the exception of the interaction between *Z. bilineata* and *Marasmius* sp.7, which stands out in both. Analysis of sampling sufficiency indicates that most links (pairwise interactions) in the community were recorded for both interaction types as indicated by the asymptotic trend of the rarefaction curves (Figure 4A, Figure 4B).

Discussion

Over time, the Drosophilidae family evolved and specialized in utilizing a variety of resources, including fruits (Atkinson and Shorrocks, 1977), flowers (Schmitz and Valente, 2019), cacti (Manfrin and Sene, 2006), and even bat guano (Tosi et al., 1990). Among these, fungi are noteworthy due to their often-high concentration of toxic chemicals (Courtney et al., 1990). Our study identified a large diversity of basidiomycete fungi, totaling 45 species, 23 of which showed some type of interaction with drosophilids at different developmental stages. We observed 26 fly species emerging from basidiocarps, indicating a close relationship between them and fungi, as all phases of the flies' development interact directly with the fungi. Despite the wide array of available resources for colonization, we observed an almost exclusive interaction between *H. crioula* and the gelatinous fungus *A. auricula-judae*. However, the specialization value for the species (d') does not indicate maximal specialization ($d' = 0.30$), suggesting that network specialization was not determined by *H. crioula*'s predilection for *A. auricula-judae*. Similarly, other observed *Hirtodrosophila* species demonstrated higher occurrences with fungi of the *Auricularia* genus (*A. auricula-judae* and *A. polytricha*), as previously described in other studies (Valer et al., 2016; Grimaldi, 2018; Junges et al., 2019). The exception was *H. levigata* (Burla, 1956), which was the only species in the genus that showed no preference.

The predilection of *Hirtodrosophila* for *Auricularia*, coupled with *Z. bilineata*'s interaction with *Marasmius* sp.7, determined the specialization of the network, as the most frequent relationships involved these particular species. This is further emphasized by the network's modularity, where the strongest interactions are observed between these species. However, the nature of ecological interactions changes significantly when considering only the visitation of fungi by drosophilids, as there are many singular

interactions involving these insects. Since basidiocarps serve various functions for drosophilids (such as feeding, oviposition, and courtship sites) (Courtney et al., 1990), our study found that not all species visiting fungi subsequently emerged from them; this is particularly evident in the *Zygothrica* genus. Of these, only *Z. ptilialis* and *Z. bilineata* emerged from the basidiocarps of the collected fungi. Being the more generalist species in the genus, they interact with six and two fungal species respectively, suggesting a preference for different substrates. However, they appear more selective regarding oviposition sites, indicating the need for specific characteristics for this process. Conversely, the other *Zygothrica* species that did not emerge demonstrated specialist relationships in our study, being observed with only one fungal species. This observation could be attributed to the challenges in standardizing adult collections. We only collected organisms that were visiting the fungi at the precise moment of sampling. Therefore, we might have missed those that had visited earlier or would visit later. Consequently, there is a temporal gap between the actual interactions and the moment of sampling, which may suggest that at the time of our collection, the species were using the basidiocarps for courtship, as documented by Grimaldi (1987), and would only lay eggs at a later stage, a detail that was not captured in our data.

Among the various resources available, *Hirtodrosophila*'s preference for *Auricularia* is notable. The *Auricularia* genus is characterized by ear-shaped gelatinous basidiocarps, which are rich in polysaccharides (Miao et al., 2020). Generally, the consistency of a fungus is linked to its persistence in the environment. Less consistent basidiocarps tend to be more ephemeral and, consequently, available for colonization for a shorter period (Jonsell and Nordlander, 2004; Graf et al., 2018). Moreover, the colonization of less consistent fungi may be associated with the larval development time. For instance, dipterans, which have a short development period, are predominant in such fungi (Hanski, 1989). The colonization of *Auricularia* by drosophilids has also been documented in several recent studies (Gottschalk et al., 2009; Valer et al., 2016; Junges et al., 2019; Santa-Brigida et al., 2019).

Our study observed that *D. paraguayensis* exhibited maximal specialization in visiting net as it was only associated with *Marasmius* sp. Interestingly, when examining the breeding sites, *D. paraguayensis* is deemed generalist, as it emerged from ten different species of fungi. Although it is associated with fungi (being part of the *immigrans-tripunctata* radiation), it can also be commonly found in trap samples with banana baits in the same locality (Mendes et al., 2017). This contrasts with species of

the genus *Hirtodrosophila*, which are exclusively mycophagous and rely on fungi for both nourishment and reproduction (Courtney et al., 1990). *Hirtodrosophila*'s specialization was evident through the substantial sampling of *A. auricula-judae* in our study. In this regard, mycophily signifies a high degree of specialization for organisms that have evolved and adapted to utilize this resource, considering that basidiocarps are transient structures reliant on specific environmental conditions, such as light, temperature, and nutrients (Sakamoto, 2018). Due to these specific traits, collecting adults visiting basidiocarps is less effective and challenging in representing the entire community, as demonstrated by our collector's curve.

Nonetheless, our findings contribute to the existing knowledge regarding mycophily in Drosophilidae, extending these relationships to network studies, which had not been previously explored for this group. Our study also observed the specialization of the network of drosophilids emerging from basidiocarps. However, expanding this information to visitation interactions remains challenging due to a methodological bias in adult collection, with gelatinous fungi being preferred by species of the genus *Hirtodrosophila*.

Funding: This work was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brazil (CAPES) (Finance Code 001) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq - Brazil) (grants numbers 426685/2018-0 and 309186/2022-6).

References

Almeida-Neto, M., Ulrich, W., 2011. A straightforward computational approach for measuring nestedness using quantitative matrices. *Environ. Model. Softw.* 26, 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2010.08.003>

Atkinson, W., Shorrocks, B., 1977. Breeding site specificity in the domestic species of *Drosophila*. *Oecologia* 29, 223–232. <https://www.jstor.org/stable/4215461>

Bascompte, J., Jordano, P., 2007. Plant-animal mutualistic network: the architecture of biodiversity. *Ann. Rev. Ecol. Evol. S.* 38, 567-593. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095818>

- Beckett, S. J., 2016. Improved community detection in weighted bipartite networks. *R. Soc. Open Sci.* 3, 140536. <https://doi.org/10.1098/rsos.140536>
- Birkemoe, T., Jacobsen, R.M., Sverdruo-Thygeson, A., Biedermanni, P.H.W., 2018. Insect-Fungus Interactions in Dead Wood Systems, in: Ulyshen, M. (Ed.) *Saproxyllic Insects. Zoological Monographs*, vol 1. Springer, Cham, pp. 377–427. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75937-1_12
- Burla, H., 1956. Die Drosophiliden-Gattung *Zygothrica* und ihre Beziehung zur *Drosophila*-Untergattung *Hirtodrosophila* mit Beschreibung von 45 neuen Arten (Dipetra acalyptata). *Mitt. Zool. Mus. Berl.* 32, 189–321.
- Chamberlain, S.A., Bronstein, J.L., Rudgers, J.A., 2014. How context dependent are species interactions? *Ecol. Lett.* 17, 881–890. <https://doi.org/10.1111/ele.12279>
- Chao, A., Gotelli, N.J., Hsieh, T.C., Sander, E.L., Ma, K.H., Colwell, R.K., Ellison, A.M., 2014. Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecol. Monogr.* 84, 45–67. <https://doi.org/10.1890/13-0133.1>
- Courtney, S.P., Kibota, T.T., Singleton, T.A., 1990. Ecology of mushroom-feeding Drosophilidae, in: Begon, B., Fitter, A.H., Macfadyen, A. (Eds.), *Advances in Ecological Research*. Academic Press, London, pp. 225–274. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60056-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60056-2)
- Dormann, C.F., 2011. How to be a specialist? Quantifying specialisation in pollination networks. *Network Biology* 1, 1–20. <https://doi.org/10.2174/1874213000902010007>
- Dormann, C.F., Fründ, J., Blüthgen, N., Gruber, B., 2009. Indices, graphs and null models: analyzing bipartite ecological networks. *Open J. Ecol.* 2, 7–24. <http://dx.doi.org/10.2174/1874213000902010007>
- Dormann, C.F., Gruber, B., Fründ, J., 2008. Introducing the bipartite Package: Analysing Ecological Networks. *R news* 8/2, 8–11. <https://journal.r-project.org/articles/RN-2008-010/>
- Forup, M.L., Henson, K.S.E., Craze, P.G., Memmott, J., 2008. The restoration of ecological interactions: plant-pollinator networks on ancient and restored heathlands. *J. Appl. Ecol.* 45, 742–752. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2007.01390.x>

- Frota-Pessoa O. 1945. Sobre o subgênero *Hirtodrosophila*, com descrição de uma nova espécie (Diptera, Drosophilidae, Drosophila). Rev. Bras. Entomol. 5, 469–483.
- Gautério, T.B., Machado, S., Loreto, E.L. da S., Gottschalk, M.S., Robe, L.J., 2020. Phylogenetic relationships between fungus-associated Neotropical species of the genera *Hirtodrosophila*, *Mycodrosophila* and *Zygothrica* (Diptera, Drosophilidae), with insights into the evolution of breeding sites usage. Mol. Phylogenet. Evol. 145, 106733. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106733>
- Gottschalk, M.S., Bizzo, L.E.M., Döge, J.S., Profes, M.S., Hofmann, P.R.P., Valente, V.L.S., 2009. Drosophilidae (Diptera) associated to fungi: differential use of resources in anthropic and Atlantic Rain Forest areas. Iheringia Ser. Zool. 99, 442–448. <https://doi.org/10.1590/S0073-47212009000400016>
- Graf, L.V., Barbieri, F., Sperb, E., Rivaldo, D.S., Moura, L.A., Silveira, R.M.B., Reck, M.A., Nogueira-de-Sá, F., 2018. Factors affecting the structure of Coleoptera assemblages on bracket fungi (Basidiomycota) in a Brazilian forest. Biotropica 50, 357–365. <https://doi.org/10.1111/btp.12520>
- Grimaldi, D.A., 1985. Niche separation and competitive coexistence in mycophagous *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae). Proc. Entomol. Soc. Wash. 87, 498–511. <https://biostor.org/reference/55103>
- Grimaldi, D.A., 1987. Phylogenetics and taxonomy of *Zygothrica* (Diptera: Drosophilidae). Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 186, 103–268. <http://hdl.handle.net/2246/913>
- Grimaldi, D.A., 1990. Revision of *Zygothrica* (Diptera, Drosophilidae). Part 2, The first African species, two new Indo-Pacific groups, and the *bilineata* and *samoensis* species groups. Am. Mus. Novit. 2964, 1–31. <http://hdl.handle.net/2246/5120>
- Grimaldi, D.A., 2018. *Hirtodrosophila* of North America (Diptera: Drosophilidae). Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 421, 1–75. <http://digitallibrary.amnh.org/handle/2246/6898>
- Grimaldi, D.A., Jaenike, J., 1984. Competition in Natural Populations of Mycophagous *Drosophila*. Ecology 65, 1113–1120. <https://doi.org/10.2307/1938319>
- Hanski, I., 1989. Fungivory: Fungi, insects and ecology, in: Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F. (Eds.). Insect-fungus interactions. Volume 14 in

Symposium of Royal Entomological Society. Academic Press, London, pp. 24–68.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-751800-8.50008-2>

Hsieh, T.C., Ma, K.H., Chao, A., 2016. iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods Ecol. Evol.* 7, 1451–1456.

<https://doi.org/10.1111/2041-210X.12613>

Ibanez, S., 2012. Optimizing size thresholds in a plant-pollinator interaction web: towards a mechanistic understanding of ecological networks. *Oecologia* 170, 233–242.

<https://doi.org/10.1007/s00442-012-2290-3>

Jacobsen, R.M., Sverdrup-Thygeson, A., Kauserud, H., Birkemoe, T., 2018. Revealing hidden insect–fungus interactions; moderately specialized, modular and anti-nested detritivore networks. *P. Roy. Soc. B.-Biol. Sci.* 285, 20172833.

<http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.2833>

Jonsell, M., Nordlander, G., 2004. Host selection patterns in insect breeding in bracket fungi. *Ecol. Entomol.* 29, 697–705. <https://doi.org/10.1111/j.0307-6946.2004.00654.x>

Junges, J., Gottschalk, M.S., Loreto, E.L.S., Robe, L.J. 2016. Two new species of *Mycodrosophila* (Diptera, Drosophilidae) proposed by molecular and morphological approaches, with a key to American species. *Rev. Bras. Entomol.* 60, 30–39.

<https://doi.org/10.1016/j.rbe.2015.11.008>

Junges, J., Robe, L.J., Gottschalk, M.S., 2019. Four new Neotropical species in the *Hirtodrosophila hirticornis* species group (Diptera: Drosophilidae). *Zootaxa* 4567, 276–292. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4567.2.4>

Kaneshiro, K.Y., 1969. A Study of the relationships of hawaiian *Drosophila* species based on external male genitalia. *Univ. Texas Publs.* 6918, 55–70.

Laessle, T., Lincoff, G., 2010. *Mushrooms. The clearest recognition guides available.* Dorling Kindersley, London.

Lewinsohn, T.M., Loyola, R.D., Prado, P.I., 2006. Matrizes, redes e ordenações: A detecção de estrutura em comunidades interativas. *Oecol. Brasil.* 10, 90–104.

<http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2006.1001.06>

Lincoff, G., 1981. *Simon and Schuster's guide to mushrooms.* A Fireside Book, New York.

- Lincoff, G., 2010. The complete mushroom hunter: an illustrated guide to finding, harvesting and enjoying wild mushrooms. Quarry Books, Beverly.
- Losapio, G., Jordán, F., Caccianiga, M., Gobbi, M., 2015. Structure-dynamic relationship of plant-insect networks along a primary succession gradient on a glacier foreland. *Ecol. Modell.*, 314, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2015.07.014>
- Lunde, L.F., Boddy, L., Sverdrup-Thygeson, A., Jacobsen, R.M., Kauserud, H., Birkemoe, T., 2022. Beetles provide directed dispersal of viable spores of a keystone wood decay fungus. *Fungal Ecol.* 63, 101232. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2023.101232>
- Manfrin, M.H., Sene, F.M., 2006. Cactophilic *Drosophila* in South America: A Model for Evolutionary Studies. *Genetica* 126, 57–75. <https://doi.org/10.1007/s10709-005-1432-5>
- Mendes, M.F., Valer, F.B., Vieira, J.G.A., Blauth, M.L., Gottschalk, M.S., 2017. Diversity of Drosophilidae (Insecta, Diptera) in the Restinga forest of southern Brazil. *Rev. Bras. Entomol.* 61, 248–256. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2017.05.002>
- Miao, J., Regenstein, J.M., Qiu, J., Zhang, J., Zhang, X., Li, H., Wanhg, Z., 2020. Isolation, structural characterization and bioactivities of polysaccharides and its derivatives from *Auricularia* - A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 150, 102–113. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.054>
- Pereira, A.C.F., Fonseca, F.S.A., Mota, G.R., Fernandes, A.K.C., Fagundes, M., Reis-Junior, R., Faria, M.L., 2014. Ecological interactions shape the dynamics of seed predation in *Acrocomia aculeate* (Arecaceae). *PloS One* 9, e98026. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098026>
- Polese, J.M., 2005. The pocket guide to mushrooms. Könemann, Slovakia.
- PUTZKE, J., PUTZKE, M.T.L., 1998. O Reino dos Fungos. EDUNISC, Santa Cruz do Sul.
- R Core Team, 2023. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/> (accessed 15 October 2023).

- Sakamoto, Y., 2018. Influences of environmental factors on fruiting body induction, development and maturation in mushroom-forming fungi. *Fungal Biol. Rev.* 32, 236–248. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2018.02.003>
- Santa-Brígida, R., Wartchow, F., Medeiros, P.S., Gottschalk, M.S., Martins, M.B., De Carvalho, C.J.B. 2019. Mycophagous Drosophilidae (Diptera) guild and their hosts in the Brazilian Amazon. *Pap. Avulsos Zool.* 59, e20195920. <https://doi.org/10.11606/1807-0205/2019.59.20>
- Spicer, G.S., Jaenike, J., 1996. Phylogenetic analysis of breeding site use and α -amanitin tolerance within the *Drosophila quinaria* species group. *Evolution* 50, 2328–2337. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1996.tb03620.x>
- Stump, A.D., Jablonski, S.E., Bouton, L., Wilder, J.A., 2011. Distribution and Mechanism of α -Amanitin Tolerance in Mycophagous *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae). *Environ. Entomol.* 40, 1604–1612. <https://doi.org/10.1603/EN11136>
- Takahashi, K.H., Tuno, N., Kagaya, T., 2005. The relative importance of spatial aggregation and resource partitioning on the coexistence of mycophagous insects. *Oikos* 109, 125–134. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13594.x>
- Throckmorton, L.H., 1975. The phylogeny, ecology and geography of *Drosophila*, in: King, R.C. *Handbook of Genetics*. Plenum Press, New York, pp. 421–469.
- Tosi, D., Martins, M.B., Vilela, C.R., Pereira, M.A.Q.R., 1990. On a new cave-dwelling species of bat-guano-breeding drosophila closely related to *D. repleta* Wollaston (Diptera, Drosophilidae). *Rev. Bras. Genet.* 13, 19–31.
- Tuno, N., 1999. Insect feeding on spores of a bracket fungus, *Elfvigia applanata* (Pers.) Karst. (Ganodermataceae, Aphyllophorales). *Ecol. Res.* 14, 97–103. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1703.1999.00290.x>
- Valente, V.L.S., 2019. The flower flies and the unknown diversity of Drosophilidae (Diptera): a biodiversity inventory in the Brazilian fauna. *Pap. Avulsos Zool.* 59, e20195945. <https://doi.org/10.11606/1807-0205/2019.59.45>
- Valer, F.B., Bernardi, E., Mendes, M.F., Blauth, M.L., Gottschalk, M.S., 2016. Diversity and associations between Drosophilidae (Diptera) species and Basidiomycetes

- in a Neotropical forest. *An. Acad. Bras. Cienc.* 88, 705–718.
<https://doi.org/10.1590/0001-3765201620150366>
- Vilela, C.R., Bächli, G., 2004. On the identities of nine Neotropical species of *Hirtodrosophila* (Diptera, Drosophilidae). *Mitt. schweiz. ent. Ges.* 77, 161–195.
<https://www.e-periodica.ch/digbib/view?pid=seg-001%3A2004%3A77%3A%3A6#174>
- Vilela, C.R., Bächli, G., 2007. Revision of the Neotropical genus *Paraliodrosophila* (Diptera, Drosophilidae). *Mitt. schweiz. ent. Ges.* 80, 291–317. <https://www.e-periodica.ch/digbib/view?pid=seg-001:2007:80::382#314>
- Waechter, J.L., 1985. Aspectos ecológicos da vegetação de restinga no Rio Grande do Sul. *Comunicações Museu Ciências da PUCRS* 33, 49–68.
- Wheeler, M.R., Kambysellis, M.P., 1966. Notes on the Drosophilidae (Diptera) of Samoa. *Univ. Tex. Publs.* 6615, 533–565.
- Wheeler, M.R., Takada, H., 1971. Male Genitalia of Some Representative Genera of American Drosophilidae. *Univ. Tex. Publs.* 7103, 225–240.
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.
- Yamashita, S., Ando, K., Hoshina, H., Ito, N., Katayama, Y., Kawanabi, M., Maruyama, M., Itioka, T., 2015. Food web structure of the fungivorous insects community on bracket fungi in a Bornean tropical rain forest. *Ecol. Entom.* 40, 390–400. <https://doi.org/10.1111/een.12200>
- Zhang, Y., Katoh, T.K., Finet, C., Izumitani, H.F., Toda, M.J., Watabe, H., Katoh, T., 2021. Phylogeny and evolution of mycophagy in the *Zygothrica* genus group (Diptera, Drosophilidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 163, e107257.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107257>

Figure captions:

Figure 1: Images of some basidiocarps of fungi sampled. A) *Auricularia auricula-judae*. B) *Marasmius* sp. C) *Ganoderma* sp. D) *Auricularia polytricha*. E) *Agaricus* sp.4. F) *Polyporus* sp.1.

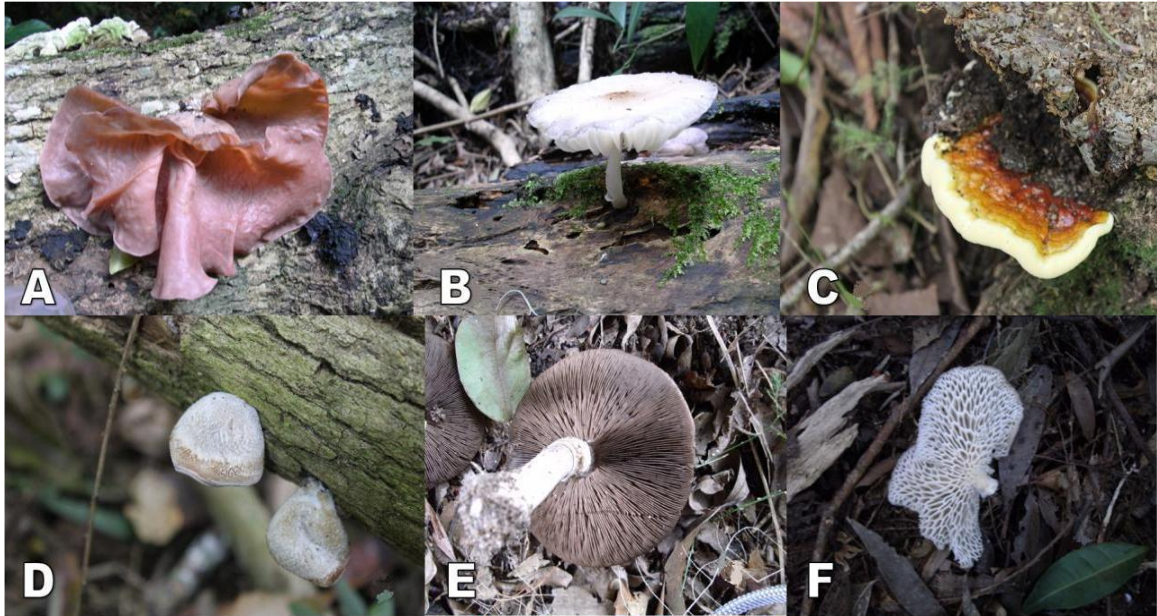


Figure 2: Modularity of fungal and drosophilid species generated from emergence sites data.

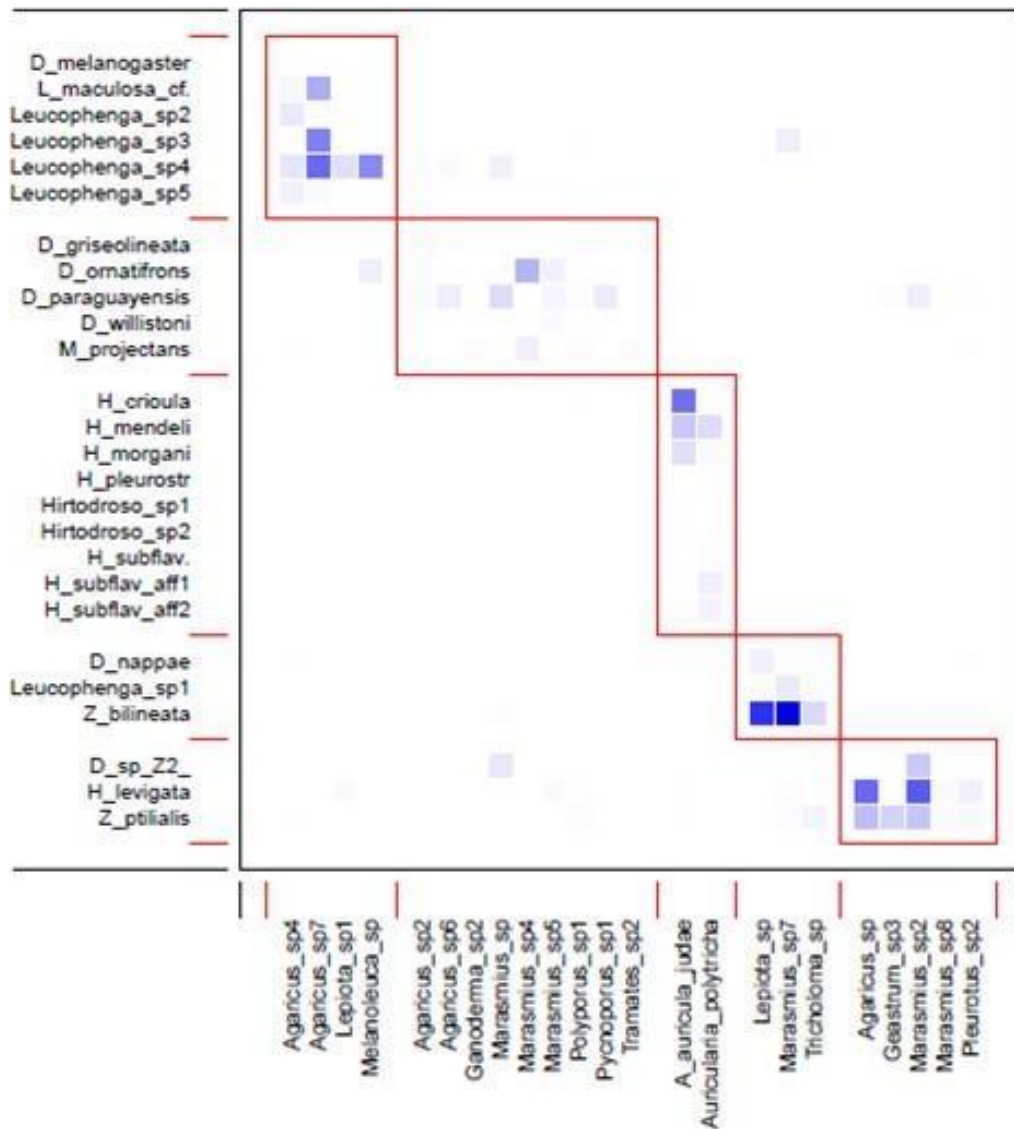


Figure 3: Modularity of fungal and drosophilid species generated from visit sites data

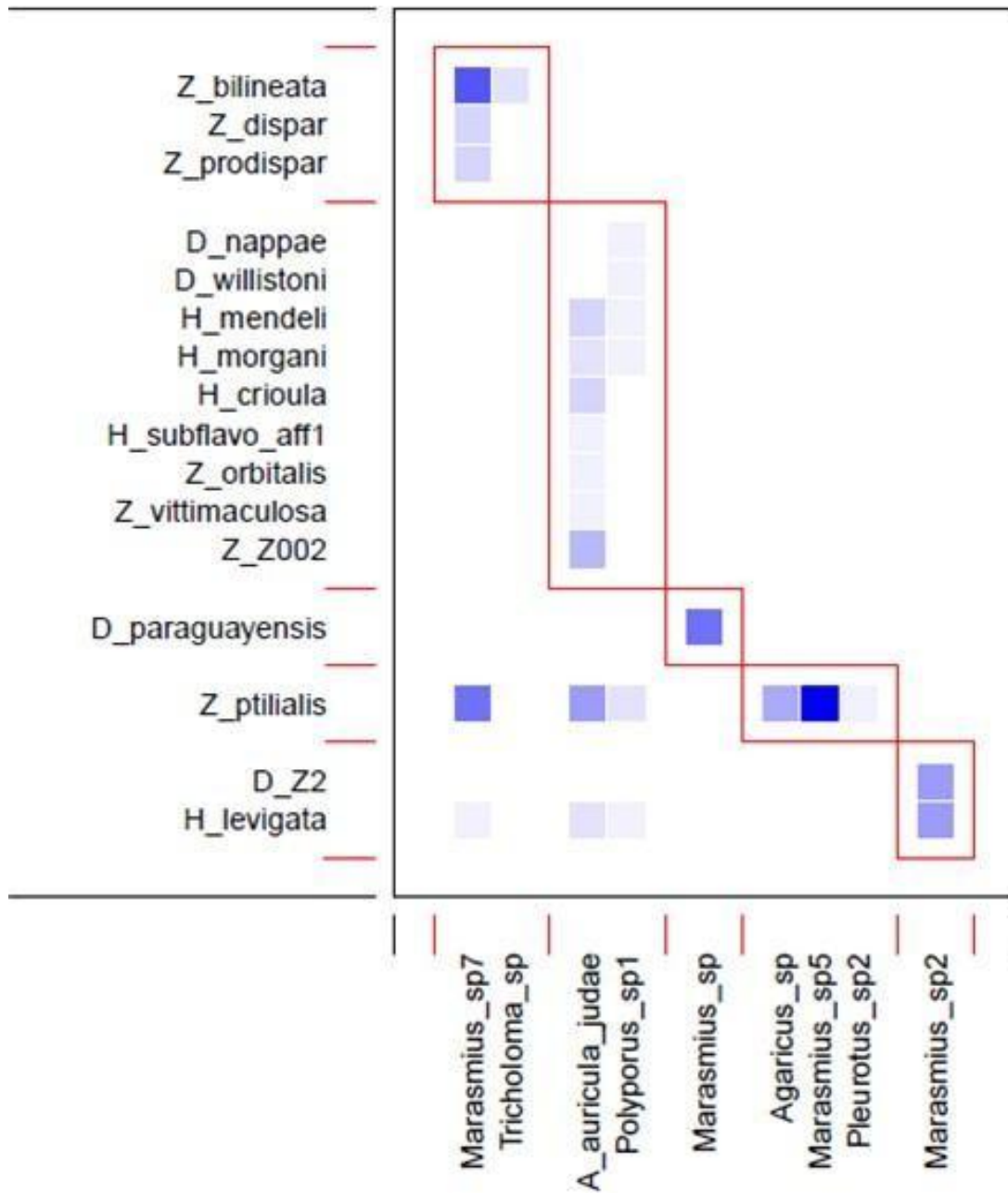


Figure 4: Rarefaction curves of sampling interactions observed between Drosophilidae species and basidiocarps of basidiomycete fungi. A) Data on the emergence of flies (breeding sites). B) Visitation data of basidiocarps by flies.

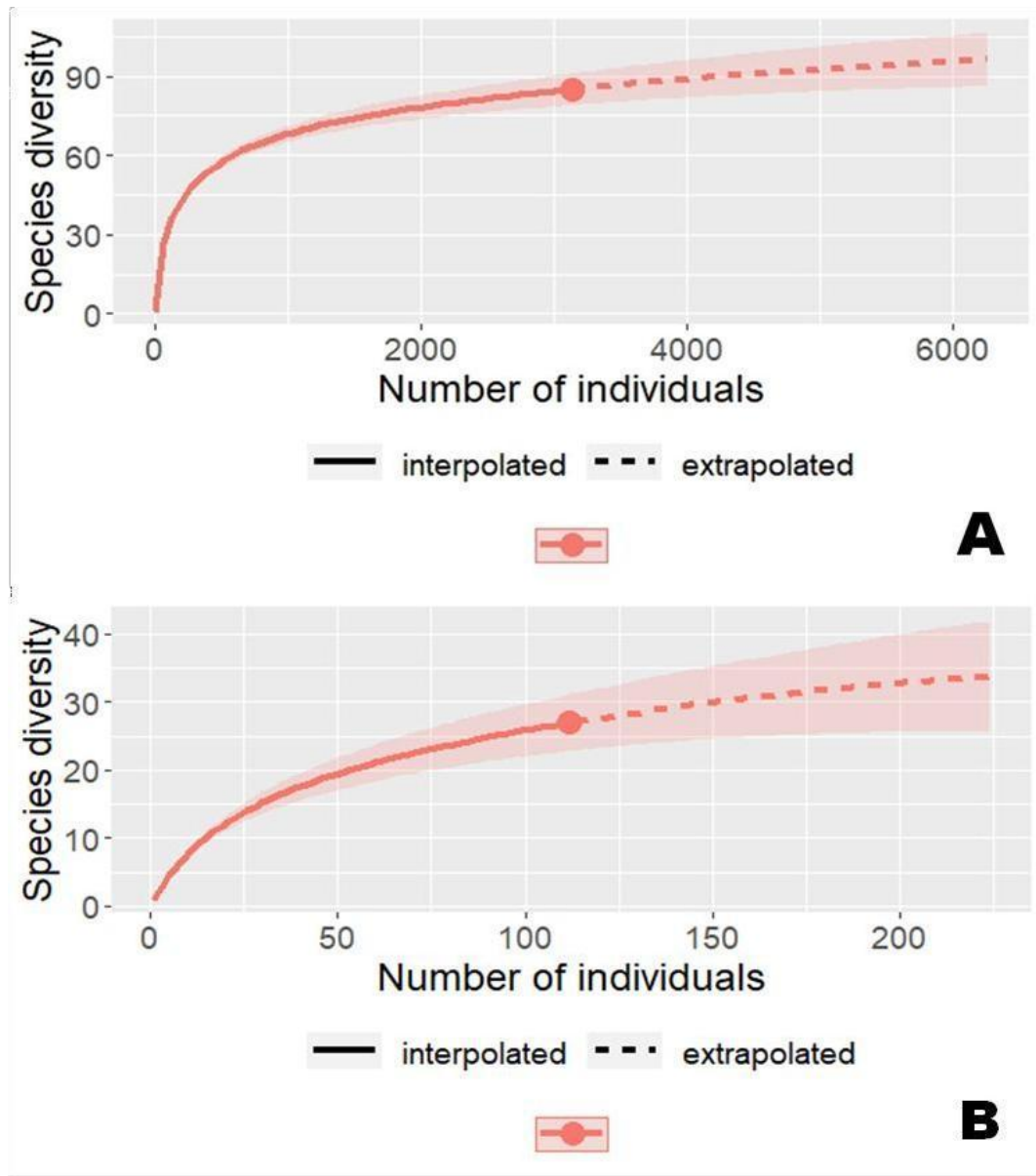


Table captions

Table 1: Fungal species, number of samples collected and number of samples colonized by Drosophilidae in seven samplings carried out in restinga forest in the years 2011 and 2013.

Table 2: Species-level specialization values (d') for emerging drosophilid species and fungi (breeding sites data).

Table 3: Species-level specialization values (d') for visiting drosophilid species and fungi.

Table 4: Metrics calculated to describe the structure of the visitation and emergence drosophilid-fungi interaction networks in a *restinga* forest community in Brazil. In parenthesis are shown the 95% confidence intervals of the metrics generated by both null models used. Bold indicates metrics whose observed value falls above the null model expectation and, therefore, are considered statistically significant.

Table 1

Species of fungi	Samples	
	Total collected	Colonized
<i>Agaricus</i> sp.	6	1
<i>Agaricus</i> sp.1	2	0
<i>Agaricus</i> sp.2	1	1
<i>Agaricus</i> sp.3	1	0
<i>Agaricus</i> sp.4	5	5
<i>Agaricus</i> sp.5	1	0
<i>Agaricus</i> sp.6	3	2
<i>Agaricus</i> sp.7	1	1
<i>Auricula mesenterica</i>	1	0
<i>Auricularia auricula-judae</i>	12	11
<i>Auricularia polytricha</i>	6	4
<i>Cantharellus</i> sp.	2	0
<i>Clitocybe</i> sp.	1	0
<i>Coprinus</i> sp.	1	0
<i>Cortinarius</i> sp.	1	0

<i>Ganoderma lucidum</i>	1	0
<i>Ganoderma</i> sp.2	1	1
<i>Geastrum</i> sp.1	1	0
<i>Geastrum</i> sp.2	1	0
<i>Geastrum</i> sp.3	1	1
<i>Lepiota</i> sp.	4	2
<i>Lepiota</i> sp.1	7	3
<i>Lepiota</i> sp.2	2	0
<i>Lepiota</i> sp.3	1	0
<i>Marasmius</i> sp.	3	2
<i>Marasmius</i> sp.2	4	2
<i>Marasmius</i> sp.3	2	0
<i>Marasmius</i> sp.4	2	1
<i>Marasmius</i> sp.5	2	1
<i>Marasmius</i> sp.6	2	0
<i>Marasmius</i> sp.7	7	4
<i>Marasmius</i> sp.8	2	1
<i>Marasmius</i> sp.9	3	0
<i>Marasmius</i> sp.10	1	0
<i>Marasmius</i> sp.11	1	0
<i>Melanoleuca</i> sp.	1	1
<i>Panus</i> sp.	1	0

<i>Pleurotus</i> sp.	1	0
<i>Pleurotus</i> sp.1	1	0
<i>Pleurotus</i> sp.2	2	2
<i>Polyporus</i> sp.1	8	7
<i>Pycnoporus</i> sp.1	2	1
<i>Trametes</i> sp.	3	0
<i>Trametes</i> sp.2	1	1
<i>Tricholoma</i> sp.	6	2
N° of samples	118	57

Table 2

Drosophilidae		Basidiomycota	
<i>Z. bilineata</i>	0.90	<i>A. auricula-judae</i>	0.90
<i>H. crioula</i>	0.81	<i>Marasmius</i> sp.4	0.88
<i>D. griseolineata</i>	0.81	<i>A. polytricha</i>	0.82
<i>D. ornatifrons</i>	0.81	<i>Agaricus</i> sp.7	0.77
<i>Leucophenga</i> sp.2	0.75	<i>Agaricus</i> sp.2	0.69
<i>H. levigata</i>	0.69	<i>Trametes</i> sp.2	0.70
<i>Leucophenga</i> sp.4	0.68	<i>Lepiota</i> sp.	0.65
<i>D. willistoni</i>	0.67	<i>Ganoderma</i> sp.2	0.64
<i>M. projectans</i>	0.66	<i>Pycnoporus</i> sp.1	0.63

<i>D. paraguayensis</i>	0.66	<i>Agararicus</i> sp	0.61
<i>H. subflavohalterata</i> aff.2	0.64	<i>Agaricus</i> sp.4	0.61
<i>H. mendeli</i>	0.64	<i>Marasmius</i> sp.7	0.60
<i>H. subflavohalterata</i> aff.1	0.61	<i>Marasmius</i> sp.2	0.60
<i>Drosophila</i> sp Z2	0.54	<i>Melanoleuca</i> sp.	0.59
<i>Leucophenga</i> sp.3	0.53	<i>Geastrum</i> sp.3	0.57
<i>L. maculosa</i> cf.	0.52	<i>Marasmius</i> sp.	0.51
<i>Z. ptilialis</i>	0.51	<i>Agaricus</i> sp.6	0.48
<i>Leucophenga</i> sp.5	0.51	<i>Marasmius</i> sp.5	0.48
<i>H. morgani</i>	0.49	<i>Lepiota</i> sp.1	0.36
<i>H. subflavohalterata</i>	0.47	<i>Polyporus</i> sp.1	0.30
<i>D. nappae</i>	0.41	<i>Tricholoma</i> sp.	0.29
<i>Leucophenga</i> sp.1	0.40	<i>Marasmius</i> sp.8	0.22
<i>H. pleuroestrigata</i>	0.36	<i>Pleurotus</i> sp.2	0.21
<i>D. melanogaster</i>	0.26		
<i>Hirtodrosophila</i> sp.2	0.06		
<i>Hirtodrosophila</i> sp.1	0.06		

Table 3

Drosophilidae		Basidiomycete	
<i>D. paraguayensis</i>	1.00	<i>Marasmius</i> sp.	1.00
<i>Drosophila</i> sp. Z2	0.73	<i>Marasmius</i> sp.2	0.88
<i>Z. bilineata</i>	0.63	<i>A. auricula-judae</i>	0.50
<i>Z. ptillialis</i>	0.46	<i>Marasmius</i> sp. 7	0.49
<i>Z. Z002</i>	0.44	<i>Marasmius</i> sp.5	0.48
<i>D. nappae</i>	0.42	<i>Tricholoma</i> sp.	0.40
<i>D. willistoni</i>	0.42	<i>Polyporus</i> sp.1	0.36
<i>H. levigata</i>	0.39	<i>Agaricus</i> sp.	0.23
<i>H. crioula</i>	0.33	<i>Pleurotus</i> sp.2	0.00
<i>H. mendeli</i>	0.32		
<i>Z. dispar</i>	0.28		
<i>Z. prodispar</i>	0.28		
<i>H. morgani</i>	0.26		
<i>Z. orbitalis</i>	0.04		
<i>H. subflavohalterata</i> aff.1	0.04		
<i>Z. vittimaculosa</i>	0.04		

Table 4

Network type	Connectance	Specialization (H_2')	Nestedness (WNODF)	Modularity (Q)	Number of modules	Null model
		0.65	18.99	0.58		
Visitation	0.19	(0.12 - 0.22)	(23.81 - 42.50) ^{ns}	(0.18 - 0.27)	5	r2dtable
		0.74	10.92	0.72		
Emergence	0.14	(0.02 - 0.03)	(66.75 - 75.02) ^{ns}	(0.05 - 0.07)	5	r2dtable
		0.65	18.99	0.58		
Visitation	0.19	(0.30 - 0.63)	(11.80 - 27.52) ^{ns}	(0.25 - 0.51)	5	vaznull

		0.74	10.92	0.72							
Emergence	0.14	(0.20 - 0.33)	(27.27 - 37.36) ^{ns}	(0.16 - 0.27)			5				vaznull

Supplementary material

SM1: Drosophilidae abundance table by fungus sample.

Táxon	Ag	Ag 2	Ag 4	Ag 6	Ag 7	Aaj	Ap	Gan2	Gea 3	Lep	Lep1
<i>Drosophila griseolineata</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Drosophila melanogaster</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Drosophila nappae</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	7	0
<i>Drosophila ornatifrons</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Drosophila paraguayensis</i>	0	2	0	8	0	7	0	0	1	0	0
<i>Drosophila sp.Z2</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Drosophila willistoni</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hirtodrosophila crioula</i>	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0
<i>Hirtodrosophila levigata</i>	68	0	0	0	0	13	0	0	0	0	1
<i>Hirtodrosophila mendeli</i>	0	0	0	0	0	509	8	0	0	0	0
<i>Hirtodrosophila morgani</i>	0	0	0	0	0	304	19	0	0	0	0
<i>Hirtodrosophila pleurostrigata</i>	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
<i>Hirtodrosophila sp.1</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Hirtodrosophila sp.2</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Hirtodrosophila subflavohalterata</i>	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
<i>Hirtodrosophila subflavohalterata aff. 1</i>	0	0	0	0	0	13	49	0	0	0	0
<i>Hirtodrosophila subflavohalterata aff. 2</i>	0	0	0	0	0	0	37	0	0	0	0
<i>Leucophenga maculosa cf.</i>	0	0	16	0	18	0	0	0	0	0	0
<i>Leucophenga sp.1</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<i>Leucophenga</i> sp.2	0	0	43	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Leucophenga</i> sp.3	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0
<i>Leucophenga</i> sp.4	0	0	45	2	32	0	0	0	0	0	7
<i>Leucophenga</i> sp.5	0	0	25	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Mycodrosophila projectans</i>	0	0	1	0	0	1	0	3	0	0	0
<i>Zygothrica bilineata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0
<i>Zygothrica ptilialis</i>	30	0	1	0	0	3	0	0	13	0	0

Supplementary material 2

SM2: Abbreviations of fungal species present in the abundance table (SM1)

Abreviações	
Ag	Agaricus sp.
Ag2	Agaricus sp.2
Ag4	Agaricus sp.4
Ag6	Agaricus sp.6
Ag7	Agaricus sp.7
Aaj	Auricularia auricula-judae
Ap	Auricularia polytricha
Gan	Ganoderma sp.2
Gae	Geastrum sp.3
Lep	Lepiota sp.
Lep1	Lepiota sp.1
Masp	Marasmius sp.
Ma2	Marasmius sp.2
Ma4	Marasmius sp.4
Ma5	Marasmius sp.5
Ma7	Marasmius sp.7

Ma8	Marasmus sp.8
Mel	Melanoleuca sp.
Ple2	Pleurotus sp.2
Poly1	Polyporus sp.1
Pyc1	Pycnoporus sp.1
Tram2	Trametes sp.2
Tric	Tricholoma sp.

CAPÍTULO II

(Manuscrito em preparação para a *Revista Brasileira de Entomologia* – RBE)

Da floresta à cidade: Colonização dos frutos por Drosophilidae (Insecta, Diptera) como sítio de oviposição em um gradiente ambiental em Santa Catarina, Brasil

Duarte, L.B.¹; De Toni, D.C.²; Vizenin-Bugoni, J.³; Valente, V.L.S.⁴; Gottschalk, M.S.⁵

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Agronomia, 90650-001, Porto Alegre, RS, Brasil.

² Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, R. João Pio Duarte Silva, 88040-900, Campus Universitário, Florianópolis, SC, Brasil.

³ Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/nº, 96160-000, Capão do Leão, Pelotas, RS, Brasil.

⁴ Instituto de Biociências, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Campus do Vale, Agronomia, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁵ Laboratório de Evolução e Genética de Insetos, Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/nº, 96160-000, Capão do Leão, Pelotas, RS, Brasil.

Abstract:

Trophic interactions play a crucial role in understanding population dynamics, as well as patterns of coexistence and diversity in ecosystems. In this regard, comprehending the interactions between plants and insects is of significant relevance for understanding the life histories of communities. Fallen fruits harbor a faunistic succession of insects adapted to the utilization of different states of decomposition, including various species of Drosophilidae that feed on the yeasts growing in decomposing organic matter. However, the entomofauna associated with fruits is affected and altered according to the degree of urbanization in the environment, significantly modifying habitats and food resources, leading to changes in communities. Here, we describe interactions between Drosophilidae and fruits of different plant species along a gradient from the Atlantic Forest to urbanized areas in Brazil. The fruits were collected at 11 points distributed

across the Santa Catarina state, and the emerging flies from colonized fruits were identified. We observed 57 species of Drosophilidae emerging from 42 plant species in the Atlantic Forest and 32 Drosophilidae species emerging from 24 plant species in urban areas. Ecological network analyses were generated for both areas. We observed a high degree of specialization for *D. medioimpressa* and the fruit *Daphnopsis* sp. in the Atlantic Forest. In contrast, the network generated for urban areas showed high specialization for *D. atrata* and the fruit *Aleurites moluccana*; however, neither network was considered fully specialized. This study contributes to advancing knowledge about the patterns of resource utilization by frugivorous Drosophilidae.

Introdução:

Segundo Ruppert & Barnes (2005), os componentes bióticos de todo ecossistema fazem parte de um sistema complexo e interdependente de interações com outros organismos, de forma que a relação entre eles é afetada mutuamente. Interações tróficas tem papel importante para compreender a dinâmica das populações, assim como os padrões de coexistência e diversidade dos ecossistemas, uma vez que o crescimento populacional das espécies depende diretamente dos recursos alimentares e dos predadores, que atuam como limitadores desse crescimento (Giacomini, 2007; Giacomini e Junior, 2010).

A classe Insecta, o maior grupo de seres vivos, apresenta cerca de 70% das espécies animais, além de apresentar grande diversidade de formas e histórias de vida (Daly *et al.*, 1978), sendo possível estimar que quase metade de suas espécies são herbívoras (Strong *et al.*, 1984). Nesse sentido, compreender as interações entre plantas e insetos é de grande relevância para entender as histórias de vida das comunidades. Os insetos são de grande importância para os ecossistemas, uma vez que desempenham uma variedade de papéis na natureza, como decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, polinização e dispersão de sementes (Price, 1984). Quando os frutos amadurecem, uma série de microorganismos e diversos grupos de insetos os colonizam, se alimentando tanto do fruto maduro, quanto da biota decompositora que nele cresce (Picanço *et al.*, 2003). Esse processo pode ser acelerado ou modificado quando os frutos são lesionados (por outros insetos ou demais organismos frugívoros) acarretando a infecção por microrganismos que causam a queda prematura desses frutos (Morais *et al.*, 1995; Nora & Hickel, 1997; Chiaradia & Milanez, 2003). No solo esses frutos abrigarão uma sucessão faunística de insetos adaptados a utilização dos diferentes estados de

decomposição, entre eles diversas espécies de Drosophilidae, que se alimentam das leveduras e bactérias que crescem no fruto fermentado em decomposição, sendo, assim, consideradas saprófitas (Carson, 1971). Apesar desta interação tritrófica (microorganismos-planta-insetos) não ser tão amplamente conhecida acerca de sua dinâmica espaço-temporal, há evidências que as espécies de plantas sofrem influência tanto da composição de microorganismos como de insetos, fazendo com que haja relações ecológicas consistentes entre frutos e insetos, independentemente das espécies de microorganismos permeadas nesta relação (Morais *et al.*, 1992; Günther & Goddard, 2018). Nesse sentido a interação varia de acordo com a utilização do recurso, podendo constituir predação quando o fruto é predado juntamente com o levedo que se desenvolve sobre ele, ou até mesmo mutualismo quando esse microorganismo é carregado para outro lugar sobre o corpo do inseto (Phaff & Starmer, 1987; Morais *et al.*, 1992; Quan & Eisen, 2018; Guilhot *et al.*, 2021).

Outro fator importante que regula tais interações é a pressão antrópica. Espera-se que a entomofauna associada aos frutos, e a própria composição das espécies de plantas, seja afetada e alterada de acordo com o grau de urbanização do ambiente, uma vez que são reconhecidos pouquíssimos ecossistemas livres da influência humana (McDonnell & Pickett, 1993). Segundo Pickett *et al.* (2001), os ecossistemas urbanos são caracterizados como ambientes com grande densidade populacional humana, grande parte da superfície coberta por construções - o que leva a significativa diminuição, fragmentação e isolamento das áreas naturais. O aumento do nível de urbanização modifica significativamente os habitats e os recursos alimentares, fazendo com que as comunidades se alterem num gradiente urbano no sentido centro-bairro, uma vez que fatores como porcentagem de cobertura vegetal, pavimentação, poluição, entre outros, atuam como condicionadores sobre a fauna desses locais (Ruszczyk, 1986).

O aumento da urbanização também tende a causar severos impactos na paisagem, alterando características como temperatura e níveis de poluentes que impactam diretamente a biodiversidade desses locais (Wenzel *et al.*, 2019). Conhecer a entomofauna de uma área nos ensina muito sobre os impactos antrópicos causados nessas comunidades, já que a riqueza de espécies diminui com o aumento da antropização no ambiente (Thomazini & Thomazini, 2002; Almeida-Neto *et al.*, 2011), assim como pode ocorrer a substituição de espécies especialistas por espécies generalistas, melhores adaptadas as alterações e perturbações do local (Ferreira & Tidon, 2005; Valiati *et al.*, 2005; Kaartnen & Roslin, 2011; Furtado & Martins, 2018;

Valadão et al., 2019).

De encontro a isso, nosso estudo tem como objetivo compreender a utilização de frutos em decomposição de diferentes espécies vegetais em um gradiente entre áreas de Mata Atlântica e áreas urbanas, e como as comunidades se modificam ao longo desse gradiente.

Material e Métodos:

Área de estudo:

As coletas foram realizadas no litoral do estado de Santa Catarina, sul do Brasil. Ao todo foram amostrados 11 pontos, destes, 8 corresponderam a áreas florestais de Mata Atlântica localizadas no continente e em ilhas costeiras do estado, e 3 em áreas urbanizadas no município de Florianópolis. A amostragem nas áreas de Mata Atlântica aconteceu trimestralmente entre 1999 e 2000, com uma coleta por estação em cada ano. A amostragem da área urbanizada seguiu o mesmo padrão, porém as coletas ocorreram posteriormente, em 2002 e 2003 (Tab.1; S1). Os pontos são descritos por De Toni *et al.* (2007) e Gottschalk *et al.* (2009).

Para obtenção dos frutos foi realizada uma busca visual ativa com duração de aproximadamente duas horas em cada ponto. Para os pontos de Mata Atlântica a busca era realizada percorrendo uma trilha de aproximadamente 1km no interior da mata e em suas adjacências, quando eram observados frutos fora da trilha, totalizando cerca de 10.000 m². Nas áreas urbanas foi amostrada uma extensão semelhante, à exceção de um dos pontos (C3), pois as coletas concentraram-se em uma área de descarte de frutos provenientes do mercado.

Os frutos provenientes dos pontos amostrados foram levados ao laboratório em sacos de papel e transferidos para recipientes contendo areia autoclavada e fechados com rolha de espuma ou tecido e foram mantidos a temperatura constante (25±1°C) por aproximadamente 30 dias. Ao longo do tempo, os frutos foram observados e molhados, caso necessário, para manterem-se úmidos, e as moscas adultas emergentes foram aspiradas.

Identificação do Material Biológico:

Os drosofilídeos foram identificados primeiramente pela morfologia externa e os machos confirmados pela morfologia da genitália seguindo o proposto por Wheeler &

Kambysellis (1966) e modificado por Kaneshiro (1969). Os frutos foram identificados com ajuda do Professor Dr. Daniel Falkenberg, do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Análise de dados:

Foram realizadas curvas de rarefação a fim de identificar a suficiência amostral para as áreas estudadas.

Após a identificação do material biológico, foi considerada para as análises de interação a abundância absoluta (n_{ij}) das espécies de moscas (i) em cada espécie de fruto amostrada (j), e sua frequência relativa (f_{ij}) nas espécies de frutos. Os valores foram multiplicados por 100 a fim de eliminar valores fracionados. Tais valores visam refletir a intensidade da interação com os frutos (através da abundância de moscas emergentes) e sua regularidade (através da frequência de encontros das espécies de moscas em cada fruto).

Foi realizada análise de rede, do tipo quantitativa, utilizando o programa R v. 4.1.3 (<https://www.r-project.org/>) e os pacotes *vegan* v. 2.5-7 (<https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>), *bipartite* v. 2.16 (<https://cran.r-project.org/web/packages/bipartite/index.html>), *iNEXT* v. 2.0.20 (Hsieh et al., 2016) (<https://cran.r-project.org/web/packages/iNEXT/index.html>), que nos permitiram verificar diversas características da rede, e o pacote *ggplot2* v. 3.3.5 (<https://cran.r-project.org/web/packages/ggplot2/index.html>) para gerar os modelos gráficos. Foram geradas duas redes utilizando-se os dados dos 8 pontos de Mata Atlântica e outra utilizando-se os dados dos 3 pontos das áreas urbanas, as redes foram comparadas a fim de identificar relação entre as interações que ocorrem entre áreas florestais preservadas e áreas urbanizadas.

Para melhor compreensão das interações, os pacotes utilizados nos permitiram calcular a conectância da rede, ou seja, a quantidade de *links* observados, com relação ao número de *links* que seriam possíveis ocorrer com as espécies observadas, nos indicando assim o grau de especialização da rede ($H2'$). Os valores de especialização variam de 0 a 1, onde 0 indica generalização da rede e 1, sua especialização.

Foi calculada a métrica d' para verificar a especialização de cada espécie observada (de inseto e de planta). Esta métrica deriva da distância Kulback-Leibler, e reflete o quanto uma espécie se desvia de uma amostragem aleatória dos parceiros interativos

disponíveis. Seus valores também variam de 0 (sem especialização) a 1 (especialista perfeito).

Também verificamos o aninhamento da rede através do cálculo da métrica **WNODEF** (*Weighted Nestedness metric based on Overlap and Decreasing Fill*), ou seja, formação de subconjuntos de espécies com poucas interações oriundas de um conjunto de espécies que interage mais. Os valores de aninhamento variam de 0 a 100, sendo valores próximos a zero menos aninhados.

Outra métrica utilizada em nosso estudo foi a modularidade, que verifica a formação de módulos (agrupamentos) dentro da rede. Semelhante à especialização, podemos obter um valor para a modularidade que também varia de 0 a 1. A modularidade foi rodada cinco vezes e foram utilizados os módulos obtidos com a configuração que apresentou maior verossimilhança (Tab. S2).

Todas as métricas calculadas para a rede foram testadas através de análises de modelos nulos com 1000 réplicas, utilizando métrica *Vaznull*, que descreve até que ponto as interações observadas se desviam daquelas que seriam esperadas dados os totais marginais das espécies se mantenhiam.

Resultados:

Foram obtidos 38.771 indivíduos pertencentes a 66 espécies de Drosophilidae, distribuídas em oito gêneros (*Chymomyza*, *Diathoneura*, *Drosophila*, *Rhinoleucophenga*, *Scaptodrosophila*, *Scaptomyza*, *Zaprionus* e *Zygothrica*) oriundos da emergência dos frutos coletados nos 11 pontos amostrados. Também obtivemos 80 espécies vegetais pertencentes a 34 famílias. Os frutos oriundos dos pontos de Mata Atlântica resultaram num total de 26.665 drosofilídeos pertencentes a 57 espécies, sendo 7 exóticas (Tab. S3). Já a amostragem dos pontos de cidade resultou em 12.106 indivíduos de 32 espécies, sendo 10 exóticas (Tab.S4). Do total de frutos amostrados para as áreas estudadas (Tab. 2; S5 e S6), 19 espécies não apresentaram emergência de Drosophilidae.

Nas curvas de rarefação geradas para ambas as redes (Fig.1), observamos estabilidade tanto para a área de Mata Atlântica como para a área de cidade.

Na rede gerada para os dados das áreas de Mata Atlântica observamos interações fortes entre *D. simulans* Sturtevant, 1919 e *D. willistoni* Sturtevant, 1916 e o fruto *Syagrus romanzoffiana*. Destaca-se, também, a interação de *D. melanogaster* Meigen,

1830 e o fruto de uma espécie de Malpighiaceae. A especialização em nível de espécie indicou *D. medioimpressa* Frota-Pessoa, 1954 ($d' = 0,89$) e frutos de *Daphnopsis* sp. ($d' = 0,80$) foram as espécies mais especializadas de drosofilídeo e fruto, respectivamente (Tab. 3). A rede apresentou ainda baixo valor de conectância (0,12) e valor de H2' intermediário (0,51), confirmado pela análise de modelos nulos .

Com relação ao aninhamento e à modularidade, a rede apresentou baixo valor para ambas as métricas (WNODF = 26,87 e modularidade = 0,46). O valor observado de WNODF foi inferior ao obtido através da análise de modelos nulos (cujo intervalo de 95% de variância foi 41,31 à 49,88), indicando que nossa rede não é aninhada (Tab. 4). Quanto à modularidade, a análise de modelos nulos revelou que o valor observado é muito maior do que os esperados ao acaso (intervalo de 95% de variância foi 0,046 à 0,063), sendo foram observados sete módulos na rede (Fig. 2). O módulo 3 foi o que abrigou o maior número de espécies, resgatando forte interação entre *S. romanzoffiana* e *D. simulans*. Mesmo o módulo sendo composto por 19 espécies de drosofilídeos, *D. simulans* foi a única espécie a apresentar interação com praticamente todos os frutos que compõem o módulo (*Averrhoa carambola*, *Campomanesia* sp., *Cinamomum* sp., *Coussapoa* sp., *Chrysophyllum* sp., *Citrus sinensis*, *Helicostylis* sp., *Psidium guayava*, *Pseudobombax* sp., *Syagrus romanzoffiana*), porém com interações mais fracas. Também é possível constatar fraca interação de *D. frotapessoai* Vilela & Bächli, 1990 e *Z. indianus* com os frutos de *Psidium guayava*, da família Myrtaceae. O módulo 2 foi composto por apenas três espécies de Drosophilidae (*D. guaru* Dobzhansky & Pavan, 1943; *D. willistoni* e *Zygothrica* spp.), no entanto apenas *D. willistoni* apresentou interação com todos os frutos que compõem o módulo (*Gomidesia spectabilis*, *Myrcia* sp., *Prunus* sp.2, *Psidium cattleyanum*, *Solanum inaequale* e *Sygygium cumini*, a interação mais forte foi representada por *Byrsonima legustrifolia* da família Malpighiaceae). No módulo 5, destaca-se a interação que ocorre entre *D. melanogaster* e frutos de uma espécie de Malpighiaceae, e com menos força, mas ainda interagindo, com *Eugenia uniflora* e *Ficus* sp. Ainda compõem o módulo *D. dreyfusi* Dobzhansky & Pavan, 1943 e *D. mediopunctata* Dobzhansky & Pavan, 1943, *D. malerkotliana* Parshad & Paika, 1964 com interações fracas. Já os módulos 1, 4, 6 e 7 comportaram grande parte das espécies e apresentaram interação mais fracas.

A rede gerada com os dados obtidos dos frutos coletados nos pontos com perturbação antrópica, classificados como “cidade”, totalizou 32 espécies de Drosophilidae interagindo com 24 espécies vegetais. Entre as interações verificadas na rede, a mais robusta parece acontecer entre *D. busckii* Coquillett, 1901 e o fruto

Passiflora edulis. No entanto, outras interações se destacam na rede, como entre *D. simulans* e as espécies *Syagrus romanzoffiana* e *Musa* sp. com maior intensidade enquanto que com *Prunus* sp.1, *Diospyros kaki*, *Melia azedarach*, *Citrus reticulata*, houve interação com menor intensidade, porém com maior destaque que outras interações. Também se destaca a interação entre *Z. indianus* Gupta, 1970, *D. malerkotliana* e *D. willistoni* com frutos de *Terminalia catappa*.

A rede com os dados da cidade apresentou baixo valor de conectância (0,23) e especialização (H2') (0,42), entretanto com valores bem acima daqueles esperados ao acaso, conforme apontado pela análise de modelos nulos (Tab. 5). A rede também apresentou baixo valor de aninhamento (WNODF = 32,88), diferindo do obtido segundo teste de modelos nulos (no qual o intervalo de 95% de variância foi 55,38 a 66,72) indicando, novamente, que a rede não é aninhada (Tab. 5). Com relação à especialização a nível de espécie (d'), *D. atrata* Burla & Pavan, 1953 (d' = 0.79) e *Aleurites moluccana* (d' = 0.87) foram as espécies mais especializadas de Drosophilidae e planta, respectivamente (Tab. 6). O teste de modularidade foi realizado cinco vezes sendo selecionada a de maior verossimilhança (0,44), já o teste de modelos nulos demonstrou que o valor observado foi superior ao esperado ao acaso (intervalo de 95% de variância 0,032 – 0,049) resultando em quatro módulos (Fig. 3). Interações fortes foram observadas em todos os módulos gerados, entre elas, destaca-se as interações do módulo 1 entre *D. malerkotliana* e *Z. indianus* com o fruto de *Terminalia catappa* e com menos intensidade com a mirtácea *Psidium guayava*. O módulo 1 ainda apresenta diversas interações visíveis na modularidade, porém com menor intensidade. Esse módulo agrupa grande parte das espécies de moscas (13) e frutos (7), no entanto apenas três espécies de moscas apresentam interação fortes (*Z. indianus*, *D. malerkotliana* e *D. willistoni*). O módulo 2 também se destaca pelo grande número de espécies agrupadas nesse módulo (12 frutos e 7 moscas), com destaque para a interação de *D. simulans* e *Syagrus romanzoffiana* e *Musa* sp. pertencentes as famílias Arecaceae e Musaceae, respectivamente. *Drosophila simulans* ainda apresenta interação com quase todos os frutos que compõem o módulo, porém mais fracas. O módulo 3 é composto por apenas 2 espécies vegetais e 3 espécies de moscas, destacando uma interação com pouca força entre *D. cardinoides* Dobzhansky & Pavan 1943 e *Aleurites molucanna*. Já o módulo 4 foi composto por 9 espécies de Drosophilidae e apenas 3 espécies vegetais, entre elas destaca-se a interação entre *D. busckii* e a Passifloraceae *Passiflora edulis*. Com menor intensidade verifica-se *D. ananassae* também com *P. edulis*, enquanto *D. immigrans* e *D. busckii* interagem com a Solanaceae *Capsicum cordiforme*.

Nas comparações entre os módulos geradas para áreas de Mata Atlântica e áreas urbanas observamos que as interações não se repetem na grande maioria, com exceção da forte interação entre *D. simulans* e *S. romanzoffiana* que é similar nas duas áreas. Em geral as interações de maior destaque são representadas pelas espécies exóticas de Drosophilidae como *Z. indianus*, *D. malerkotliana*, *D. busckii* e *D. simulans* interagindo com diferentes espécies vegetais de diferentes famílias. A única espécie nativa que se destaca é *D. willistoni*, apresentando fortes interações apenas na área de floresta.

Discussão:

Estudos com Drosophilidae utilizando frutos como recurso principal na obtenção dos organismos é utilizado há muitas décadas com diferentes ênfases (Martins, 1989; Tidon, 2006; Kim *et al.*, 2016; Duarte *et al.*, 2018; Kaçar, 2020), no entanto os trabalhos eram majoritariamente realizados com banana fermentada como atrativo, proporcionando abundância alta de indivíduos. Apesar desta isca se mostrar eficiente em estudos de levantamento de espécies, pouca informação acrescentava sobre os sítios de oviposição desses organismos. Estudos recentes na ilha de Santa Catarina relatam emergência de Drosophilidae em frutos e flores da região (De Toni *et al.*, 2001; Schmitz & Hofmann, 2005; Schmitz *et al.*, 2007). Nosso estudo identificou uma grande diversidade de frutos determinados em 80 espécies dos quais 69 delas foram comprovadamente utilizadas como sítio de oviposição resultando em emergência, o que não significa que as 19 espécies que não verificamos emergência não tenham sido utilizadas como sítio de oviposição, apenas não foi possível identificar o ciclo completo de desenvolvimento por diversas razões (ambientais e biológicas como predação das larvas, por exemplo), mas principalmente pelo acondicionamento em laboratório que difere das condições na natureza.

Observamos 57 e 32 espécies de Drosophilidae interagindo com 42 e 24 espécies vegetais de frutos amostrados nas áreas de Mata Atlântica e cidade, respectivamente. Dentre as inúmeras interações observadas nas redes para os ambientes amostrados, apenas uma espécie de Drosophilidae destaca-se nas duas áreas. A espécie exótica *D. simulans* interage com muitas espécies vegetais, mas foi predominantemente encontrada utilizando a Arecaceae *Syagrus romanzoffiana* (também conhecida como Jerivá, coqueiro-jerivá, coco-de-cachorro, baba-de-boi entre outros nomes) nos dois ambientes com interações bem robustas. Endêmico da América do Sul, *S. romanzoffiana* apresenta a maior distribuição do gênero que compreende 42 espécies, com ocorrência que vai desde a

Bolívia até o estado brasileiro da Bahia, até o Uruguai e Argentina, sendo mais abundante no sul e leste do Brasil (Glassman, 1987; Noblick, 1996; Bernacci et al., 2008), sendo a palmeira mais comum para arborização no Brasil (Lorenzi, 1992) com frutos de importância para o consumo humano e animal (Sanhotene, 1989). Em Santa Catarina apresenta distribuição expressiva, ocorrendo em quase todas formações florestais (Reitz, 1974). *Syagrus romanzoffiana* foi a espécie hospedeira na qual a abundância de *D. simulans* foi extremamente representativa, resultando num total de 49.785 e 27.900 indivíduos na Mata Atlântica e cidade, respectivamente. No entanto, quando observada à especialização em nível de espécie (d') nenhuma delas apresentou máxima especialização (*D. simulans*: d' = 0,50 e 0,26; *S. romanzoffiana*: d' = 0,15 e 0,33 para Mata e Cidade respectivamente). Essa abundância de *D. simulans* pode ser associada a alta capacidade de invasão e plasticidade de adaptação aos diversos ambientes que coloniza (Salvino et al., 2021), uma vez que se trata de uma espécie exótica com alta capacidade de invasão e colonização, é facilmente coletada tanto em áreas de mata como em ambientes antropizados sempre em abundância superior as espécies nativas. *Drosophila simulans* também foi bem representada associada às espécies *Averrhoa carambola* (Oxalidaceae) e *Coussapoa* sp. (Moraceae), também com menor intensidade, mas ainda sim em destaque, com as espécies da família Myrtaceae *Psidium guayava* e *Chrysophyllum* sp. e com a Lauraceae *Cinamomum* na área de Mata Atlântica e na cidade apresentou associação com *Musa* sp. (Musaceae), *Passiflora edulis* (Passifloraceae), também associada com menor força mas ainda em destaque, *Psidium guayava* (Myrtaceae), *Melia azedarach* (Meliaceae), *Diospyros kaki* (Ebenaceae) e *Prunus* sp.1 (Rosaceae), o que demonstra a capacidade de colonização das mais diferentes famílias vegetais, uma vez que a espécie é considerada generalista (Bizzo et al., 2005).

Além de *D. simulans*, que foi a espécie com maior destaque tanto na Mata Atlântica como na cidade, verificamos que as interações mais fortes foram predominantemente observadas em espécies exóticas como *D. melanogaster*, *D. busckii*, *D. malerkotliana* e *Z. indianus*. A exceção fica para a nativa *D. willistoni* que, apesar de interagir com muitas espécies na amostragem da Mata Atlântica, se destaca pela forte interação com a Malpighiaceae *Byrsonima legustifolia* e com a Areaceae *Syagrus romanzoffiana*, no entanto também podemos identificar uma interação considerável com *Myrcia* sp. (Myrtaceae), *Solanum inaequale* (Solanaceae) e uma espécie não identificada (Frut3). Por outro lado esse padrão não foi observado na área da cidade, onde *D. willistoni* apresentou menos conexões, com destaque apenas para a

interação com a Combretaceae *Terminalia catappa*, popularmente conhecida como amendoeira-da-praia, terminália, coração-de-negro, entre outros. *Terminalia catappa* é conhecida por seu fruto nutricionalmente rico em benefícios medicinais e farmacológicos com propriedades antimicrobianas, anti-inflamatória, antioxidante entre outras (Anand *et al.*, 2015). Sua maior abundância na Mata Atlântica vai de encontro com estudos anteriores realizados na Floresta Atlântica, comprovando a preferência de *D. willistoni* por ambientes de floresta em comparação com ambientes antropizados (Gottschalk *et al.*, 2007; Garcia *et al.*, 2014), o que está associado à preferência da espécie por ambientes mais úmidos (Dobzhansky, 1957; Spassky *et al.*, 1971). No entanto, com relação à especialização em nível de espécie (d'), *D. willistoni* apresentou baixo valor de especialização, assim como as espécies vegetais com que ela interagiu. Assim sendo, nenhuma espécie no nosso estudo apresentou máxima especialização (d') na utilização do recurso, sendo os valores mais próximos atribuídos a *D. medioimpressa* ($d'=0.89$) e a Thymelaceae *Daphnopsis* sp. ($d'=0.80$) para a área de Mata Atlântica, enquanto que para a cidade foi representada por *D. atrata* ($d'=0.78$) e a Euphorbiaceae *Aleurites moluccana* ($d'=0.87$), dessa forma, a falta de espécies especialistas contribuem para os baixos valores de especialização das redes.

Ambas as redes apresentaram baixa especialização, bem como a formação de estrutura modular e não aninhada, semelhante ao observado por Cordeiro *et al.* (2020) em seu estudo com espécies floríferas. A modularidade, em particular, sugere um alto grau de especialização, resultando na formação de conjuntos de espécies fortemente interligadas, gerando módulos de interação (Cordeiro *et al.*, 2020). Isso é verificado em nossas redes, mesmo com valor de especialização da rede não tão elevado. Segundo Aizen *et al.* (2008) a presença de espécies exóticas pode afetar a estrutura de redes mutualísticas, uma vez que essas espécies se comportam como super-generalistas, compondo, assim, a maioria das interações, e dessa forma, aumentando o aninhamento da rede. Além disso, espécies exóticas podem diminuir a conectividade entre as espécies nativas, diminuindo o mutualismo entre elas (Aizen *et al.*, 2008).

De modo geral, nosso estudo observou que algumas espécies hospedeiras tendem a abrigar maior diversidade de drosofilídeos, como é o caso da *Syagrus romanzoffiana* que resultou a emergência de 41 espécies de Drosophilidae. De fruto carnoso e doce, *S. romanzoffiana* é bastante produtiva e apresenta interações ecológicas com polinizadores e frugívoros, o que a caracteriza como uma espécie-chave dos ecossistemas que habita (Reitz, 1974; Galetti *et al.*, 1992; Galetti *et al.*, 2001; Genini *et al.*, 2009). A família Aracaceae é uma das mais exploradas por Drosophilidae em

florestas neotropicais, onde suas espécies sustenta grande parte da diversidade desses locais, entre elas, as moscas (Martins & Santos, 2007).

Nesse sentido, nossos resultados contribuem para os conhecimentos existentes sobre as comunidades de Drosophilidae frugívoros, expandindo essas relações para estudos de redes, que até então não haviam sido explorados para esse grupo. Nosso estudo também observou maior especialização para a rede gerada para Mata Atlântica quando comparado com a rede da cidade. No entanto, a presença das espécies exóticas ainda é predominante, mesmo nas áreas com menor interferência antrópica.

Financiamento:

Este trabalho contou com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (código financeiro 001) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (número das bolsas 426685/2018-0 e 309186/2022-7).

Referências bibliográficas:

Aizen, M. A., Morales, C. L., Morales, J. M. 2008. Invasive mutualists erode native pollination webs. *Plos Biology*. 6, 0396-0403.

Almeida-Neto, M., Prado, P. I., Lewinsohn, T. M. 2011. Phytophagous insect fauna tracks host plant responses to exotic grass invasion. *Oecologia*. 165, 1051-1062.

Anand, A. V., Divya, N., Kotti, P. P. 2015. An updated review of *Terminalia cattapa*. *Pharmacognosy Reviews*. 9, 93-98.

Bernacci, L. C., Martins, F. R., Dos Santos, F. A. M. 2008. Estrutura de estádios ontogenéticos em população nativa da palmeira *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman (Areaceae). *Acta Botânica Brasileira*. 22, 119-130.

Bizzo, L., Gottschalk, M. S., De Toni, D. C., Hofmann, P. R. P. 2005. Riqueza e distribuição temporal de uma assembléia de drosofilídeos (Diptera: Drosophilidae) na restinga da praia da Joaquina, Florianópolis, ilha de Santa Catarina. Anais do VII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambú-MG, (Floresta tropical Pluvial Atlântica). 1-2.

Carson, H. L. 1971. The Ecology of *Drosophila* Breeding sites. Harold L. Lyon Arboretum Lecture two. University Of Hawaii, Honolulu. 1–32.

Chiaradia, L. A., Milanez, J. M. 2003. Bioecologia e manejo das moscas-das-frutas em pomares de laranjeiras. *Revista Agropecuária Catarinense*. 16, 51-55.

Daly, H. V., Doyen, J. T., Ehrlich, P. R. 1978. Introduction to insect biology and diversity. McGraw-Hill, New York. 564pp.

- De Toni, D. C., Hofmann, P. R. P., Valente, V. L. S. 2001. First Record of *Zaprionus indianus* (Diptera, Drosophilidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. *Biotemas*. 14, 71-85.
- De Toni, D. C., Gottschalk, M. S., Cordeiro, J., Hofmann, P. P. R., Valente, V. L. S. 2007. Study of Drosophilidae (Diptera) communities on Atlantic Forest islands of Santa Catarina state, Brazil. *Neotropical Entomology*. 36, 356-375.
- Dobzhansky, T. 1957. Chromosomal variability in Islands and continental populations of *Drosophila willistoni* from Central America and the West Indies. *Evolution*. 11, 280-293.
- Duarte, L. B., Gottschalk, M. S., Robe, J. L. 2018. Assemblage of drosophilids (Diptera, Drosophilidae) inhabiting flooded and nonflooded areas in the extreme South of Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*. 62, 29-35.
- Ferreira, L. B., Tidon, R. 2005. Colonizing potential of Drosophilidae (Insecta, Diptera) in environments with different grades of urbanization. *Biodiversity and Conservation*. 14, 1809-1821.
- Furtado, I. S., Martins, M. B. 2018. The impacts of land use intensification on the assembly of Drosophilidae (Diptera). *Global Ecology and Conservation*. 16, 1-12.
- Galetti, M., Paschoal, M., Pedroni, F. 1992. Predation on palms nuts (*Syagrus romanzoffiana*) by squirrels (*Sciurus ingrami*) in southeast Brazil. *Journal of Tropical Ecology*. 8,121-123.
- Galetti, M., Keuroghlian, A., Hanada, L., Morato, M.I. 2001. Frugivory and seed dispersal by the lowland tapir (*Tapirus terrestris*) in southeast Brazil. *Biotropica*. 33, 723-726.
- Garcia, A. C. L., Silva, D. M. I. O., Monteiro, A. G. F., Oliveira, G. F., Montes, M. A., Rohde, C. 2014. Abundance and richness of cryptic species of the *willistoni* group of *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) in the biomes Caatinga and Atlantic Forest, Northeastern Brazil. *Annals of the Entomological Society of America*. 107, 975-982.
- Genini, J., Galetti, M., Morellato, L. P. C. 2009. Fruiting phenology of palms and trees in an Atlantic rainforest land-bridge island. *Flora*. 204, 131-145.
- Giacomini, H. C. 2007. Os mecanismos de coexistência como vistos pela teoria ecológica. *Oecologia Brasiliensis*. 11, 521-543.
- Giacomini, H. C., Junior, M. P. 2010. A estrutura de teias tróficas. *Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia*. 38, 1-33.
- Glassman, S. F. 1987. Revision of the palm genus *Syagrus* Mart. and the other genera in the Cocos Alliance. *Illinois Biological Monographs*. 56, 1-231.

- Gottschalk, M. S., De Toni, D. C., Valente, V. L. S., Hofmann, P. R. P. 2007. Changes in Brazilian Drosophilidae (Diptera) assemblages across an urbanisation gradient. *Neotropical Entomology*. 36, 848-862.
- Gottchalk, M. S., Bizzo, L., Döge, J. S., Profes, M. S., Hofmann, P. R. P., Valente, V. L. S. 2009. Drosophilidae (Diptera) associated to fungi: differential use of resources in anthropic and Atlantic Rain Forest areas. *Iheringia Série Zoologia*. 99, 442-448.
- Guilhot, R., Rombaut, A., Xuéreb, A., Howell, K., Fellous, S. 2021. Influence of bacteria on the maintenance of a yeast during *Drosophila melanogaster* metamorphosis. *Animal Microbiome*. 3, 1-8.
- Günther, C. S., Goddard, M. 2018. Do yeasts and *Drosophila* interact just by chance? *Fungal Ecology*. 38, 37-43.
- Kaartinen, R., Roslin, T. 2011. Shrinking by numbers: landscape context affects the species composition but not the quantitative structure of local food webs. *Journal of Animal Ecology*. 80, 622-631.
- Kaneshiro, K. Y. 1969. A study of the relationships of Hawaiian *Drosophila* species based on the external male genitalia. The University of Texas Publication, Austin. 6918, 55-69.
- Kaçar, G. 2020. New records of the parasitoids of *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) in newly invaded areas in Turkey: molecular identification. *Turkish Journal of Entomology*. 44, 71-79.
- Kim, Y. H., Hur, J. H., Lee, G. S., Choi, M. Y., Koh, Y. H. 2016. Rapid and highly accurate detection of *Drosophila suzukii*, spotted wing *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) by loop-mediated isothermal amplifications assays. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 19, 1211-1216.
- Lorenzi, H. 1992. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, *Plantarum*. 352p.
- Martins, M. B. 1989. Invasão de fragmentos florestais por espécies oportunistas de *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae). *Acta Amazônica*. 19, 265-271.
- Martins, M. B., Santos, R. C. O. 2007. Sítio de criação de *Drosophila* na Reserva Mocambo, Bemém, Pará. 315-331. **In:** Gomes, J. I., Martins, M. B., Martins-da-Silva, R. C. V., & Almeida, S. S. (Eds.) Mocambo. Diversidade e dinâmica biológica da área de pesquisa ecológica do Guamá (Apeg). Belém, Embrapa Amazônia Oriental & Museu Paraense Emílio Goeldi, 445p.
- McDonnell, M. J., Pickett, S. T. A. 1993. Humans as Components of Ecosystems: the Ecology of Subtle Human Effects and Populated Areas. New York: *Springer-Verlag*. 6, 310-316.

- Morais, P. B., Hagler, A. N., Rosa, C. A., Mendonça-Hagler, L. C., Klaczko, L. B. 1992. Yeasts associated with *Drosophila* in tropical forests of Rio de Janeiro, Brazil. *Canadian Journal of Microbiology*. 38, 1150–1155.
- Morais, P. B., Rosa, C. A., Hagler, A. N. Mendonça-Hagler, L. C. 1995. Yeast communities as descriptors of habitat use by the *Drosophila fasciola* subgroup (*repleta* group) in Atlantic rain forests. *Oecologia*. 104, 45-51.
- Noblick, L.R. 1996. Syagrus. *The Palm Journal*. 126, 12-46.
- Nora, I., & Hickell, E. R. 1997. Controle integrado de mosca-das-frutas. Manual do produtor. Florianópolis: EPAGRI. 1-21.
- Phaff, H. J. & Starmer, W. T. 1987. Yeasts associated with plants, insects and soils. **In** The yeasts. Vol. 1. Biology of the yeasts. 2nd ed. Edited by A. H. Rose and J. S. Harrison. Academic Press, New York. 123-179.
- Picanço, M. C., Crespo, A. L. B., Ecole, C. C., Badji, C. A., Costa, H., Couto, F. A. D. 2003. Dano, sistema de tomada de decisão, controle de *Pseudophilothrips* sp. (Thysanoptera: Phlaeothripidae) e sua relação com lesões fúngicas em frutos de goiaba. *Acta Scientiarum: Agronomy*. 25, 223-230.
- Pickett, S. T. A., Cdenasso, M. L., Grove, J. M., Nilon, C. H., Pouyat, R. V., Zipperer, W. C., Costanza, R. 2001. Urban Ecological Systems: Linking terrestrial ecological, physical, and socioeconomic components of metropolitan areas. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 32, 127-157.
- Price, P. W. 1984. Insect Ecology. 2ªed. New York, John Wiley & Sons. 607p.
- Quan, A. S. & Eisen, M. B. 2018. The ecology of the *Drosophila*-yeast mutualism in wineries. *Plos One*. 13, 1-25.
- Reitz, P. R. 1974. Flora Ilustrada Catarinense. *Palmeiras*. 189p.
- Ruppert, E. E., Fox, R. S. & Barnes, R. D. 2005. Zoologia dos invertebrados – Uma abordagem funcional-evolutiva. 7ª ed., Roca Ed., São Paulo. 1145p.
- Ruszczyk, A. 1986. Hábitos alimentares de borboletas adultas e sua adaptabilidade ao ambiente urbano. *Revista Brasileira de Biologia*. 46, 419-427.
- Salvino, M. S., Rohde, C., Verçosa, C. J., Mendes, J. F. C., da Silva, R. D. C., Oliveira, G. F. 2021. High abundance of drosophilids and low species richness, a reality of composition in a cultivated environment in Pernambuco. *Research, Society and Development*. 10, 1-8.
- Sanchotene, M. C. C. 1989. Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana. Porto Alegre, *Sagra*. 163p.

- Schmitz, H. J., Hofmann, P. R. P. 2005. First record of subgenus *Phloridosa* of *Drosophila* in southern Brazil, with notes on breeding sites. *Drosophila Information Service*. 88, 97-101.
- Schmitz, H. J., Valente, V. L. S., Hofmann, P. R. P. 2007. Taxonomic Survey of Drosophilidae (Diptera) from Mangrove Forest of Santa Catarina Island, Southern Brazil. *Neotropical Entomology*. 36, 053-064.
- Spassky, B., Richmond, R. C., Pérez-Salas, S., Pavlovsky, O., Mourão, C. A., Hunter, A. S., Hoenigsberg, H., Dobzhansky, T., Ayala, F. J. 1971. Geography of 54 the sibling species related to *Drosophila willistoni* and the semispecies of the *Drosophila paulistorum* complex. *Evolution*. 25, 129-143.
- Strong, D. R., Lawton, J. H., Southwood, S. R. 1984. Insects on plants. Community patterns and mechanisms. Florida State University. Tallahassee, USA. 313p.
- Tidon, R. 2006. Relationships between drosophilids (Diptera, Drosophilidae) and the environment in two contrasting tropical vegetation. *Biological Journal of the Linnean Society*. 87, 233-247.
- Thomanzini, M. J., Thomanzini, A. P. B. W. 2002. Levantamento de insetos e análise entomofaunística em floresta, capoeira e pastagem no Sudeste Acreano. Rio Branco, EMBRAPA Acre. 41p.
- Valadão, H., Proença, C. E. B., Kuhlmann, M. P., Harris, S. A., Tidon, R. 2019. Fruit-breeding drosophilids (Diptera) in the Neotropics: playing the field and specialising in generalism? *Ecological Entomology*. 44, 721-737.
- Valiati, V. H., Sofia, T., Silva, N. M., Garcia, A. C. L., Rohde, C., Valente, V. L. S. 2005. Colonização, competição e coexistência: insetos como modelo de invasões biológicas. *Logos*. 16, 13-23.
- Wenzel, A., Grass, I., Belavadi, V. V., Tschardt, T. 2019. How urbanization is driving pollinator diversity and pollination – A systematic review. *Biological Conservation*. 241, 108321.
- Wheeler, M. R., Kambyzellis, M. P. 1966. Notes on the Drosophilidae (Diptera) of Samoa. The University of Texas Publications, Austin. 6615, 533-565.

Legenda das figuras

Figura 1: Curvas de rarefação das interações observadas entre as espécies de Drosophilidae e dos frutos. A) Dados da área de Mata Atlântica. B) Dados da área da cidade.

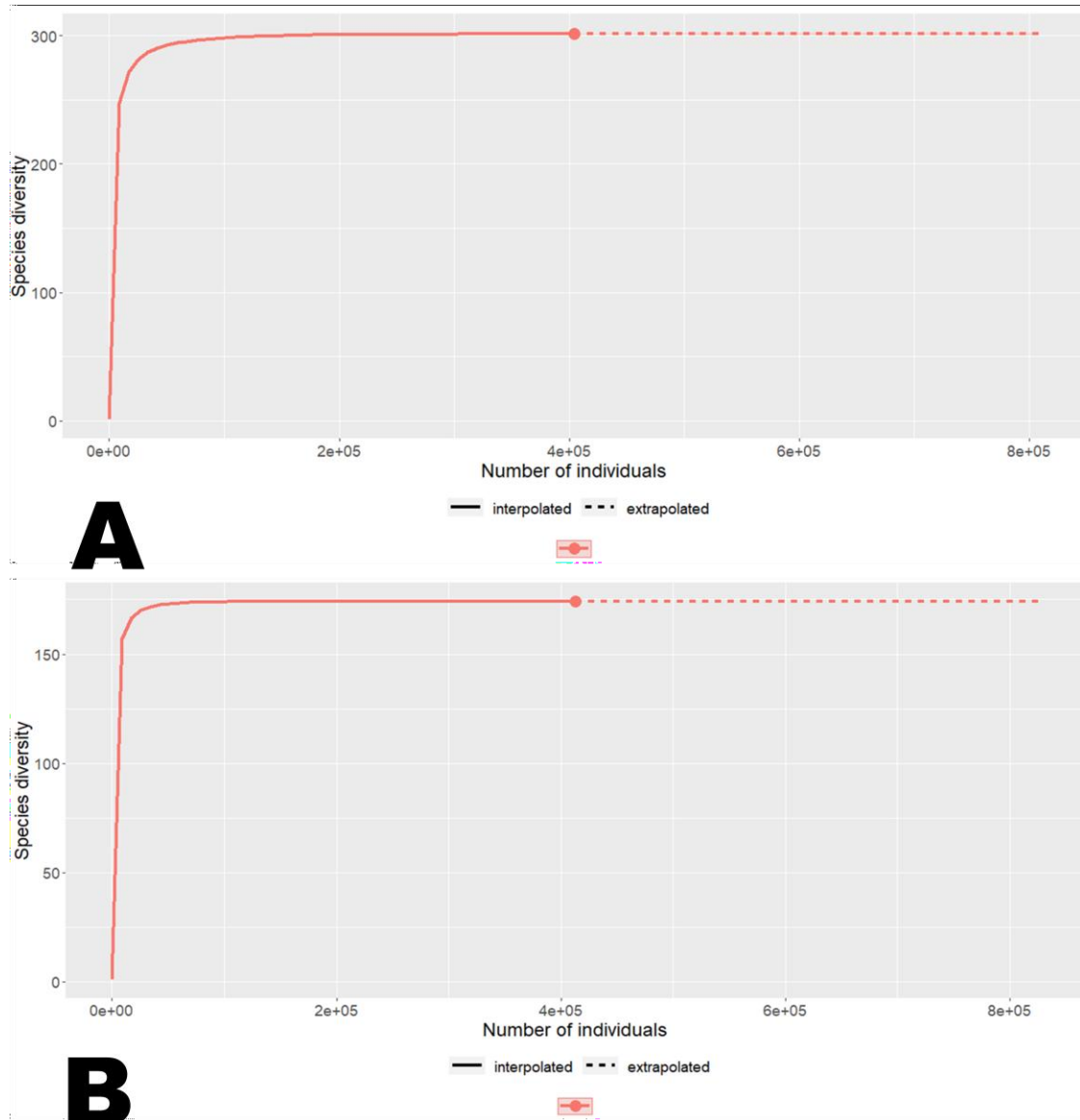


Figura 2: Modularidade das espécies de frutos e de drosofilídeos gerados a partir dos dados da área de Mata Atlântica.

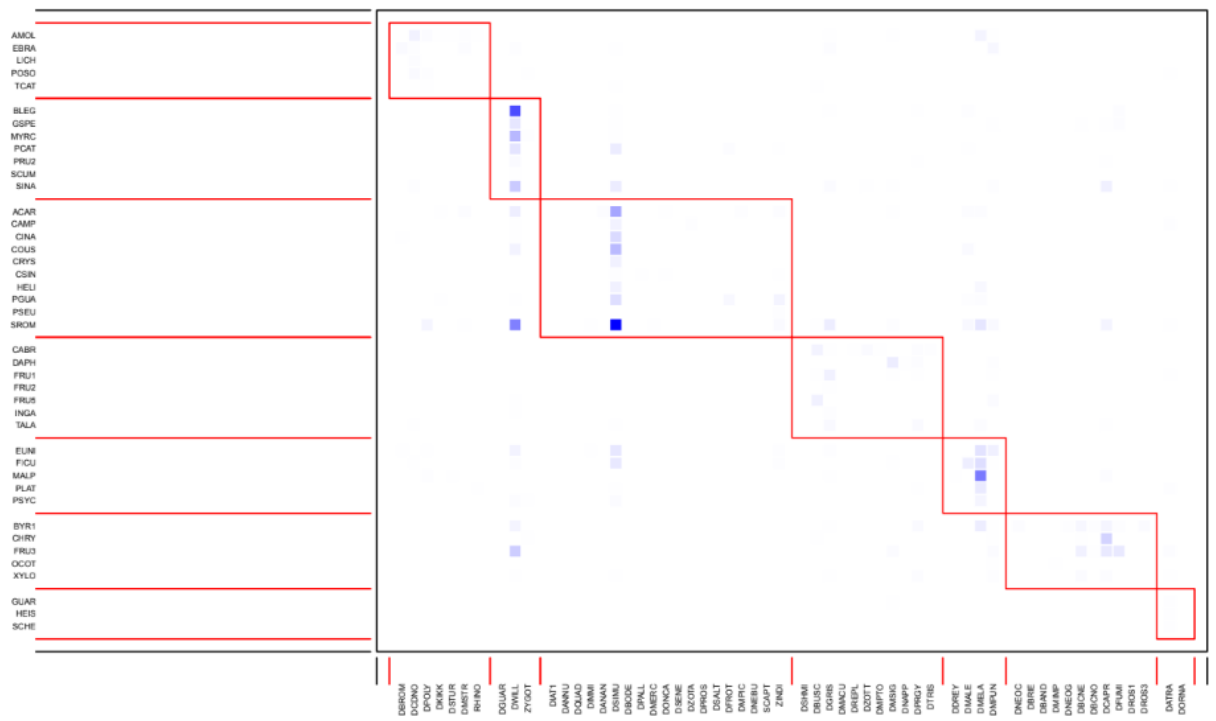
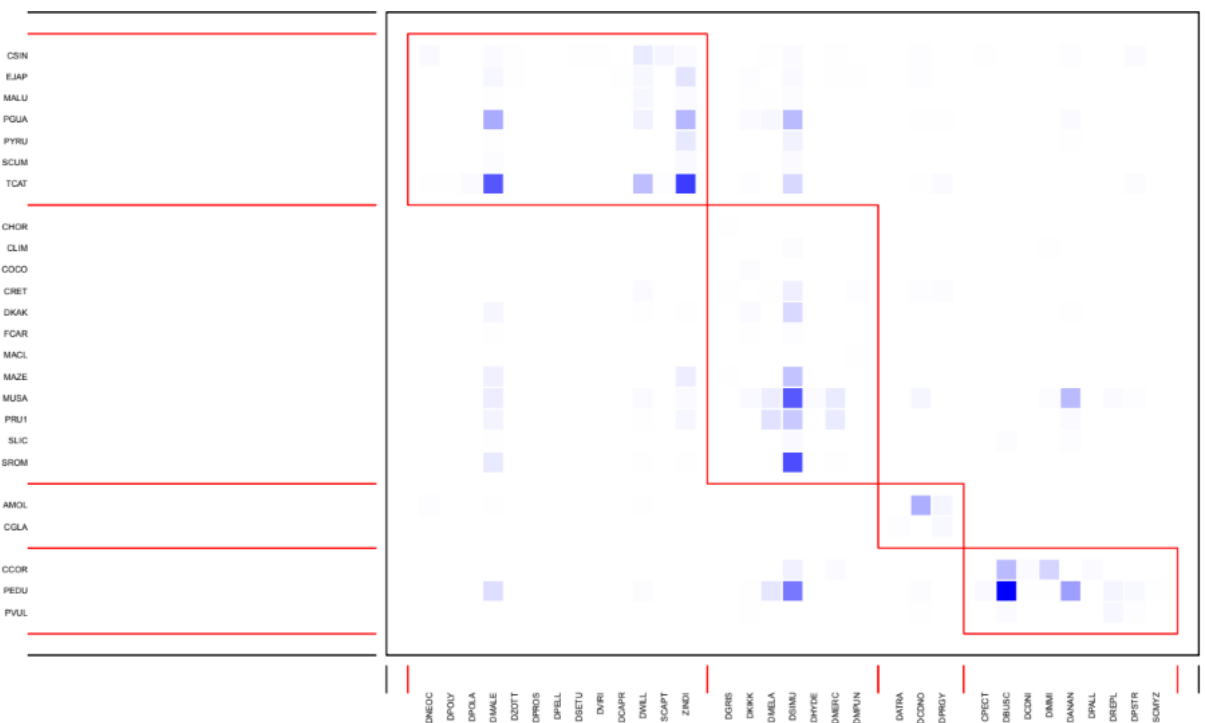


Figura 3: Modularidade das espécies de frutos e de drosofilídeos gerados a partir dos dados da área da cidade.



Legenda das Tabelas

Table 1: Localidades amostradas no estado de Santa Catarina/SC nos ambientes de Mata Atlântica e áreas urbanizadas com diferentes níveis de perturbação antrópica.

Table 2: Identificação das espécies vegetais amostradas entre as áreas de Mata Atlântica e Áreas urbanas entre 1999-2000 e 2002-2003.

Table 3: Valores individuais de especialização a nível de espécie gerados a partir da métrica d' para os dados de Floresta (Mata Atlântica).

Table 4 - Valores de conectância, especialização da rede e aninhamento observados para os dados de Floresta (Mata Atlântica) e testados com análise de modelos nulos utilizando a métrica *Vaznull* com 1000 réplicas.

Table 5 - Valores de conectância, especialização da rede e aninhamento observados para os dados de cidade (Áreas urbanas) e testados com análise de modelos nulos utilizando a métrica *Vaznull* com 1000 réplicas.

Table 6 - Valores individuais de especialização a nível de espécie gerados a partir da métrica d' para os dados de cidade (Área urbana).

Tabela 1

Ponto de coleta	Local	Ambiente*	Grau de preservação**	Coordenadas geográficas
F1	Parque Estadual da Serra do Tabuleiro I	M.A	1	27°44'48"S; 48°48'44"W
F2	Parque Estadual da Serra do Tabuleiro II	M.A	1	27°44'55"S; 48°48'72"W
F3	Parque Municipal da Lagoa do Peri	M.A	2	27°45'23"S; 48°32'58"W
F4	Morro da Lagoa da Conceição	M.A	3	27°35'27"S; 48°28'33"W
F5	Ilha Ratonas Grande	M.A	4	27°28'58"S; 48°33'71"W
F6	Ilha Ratonas Pequeno	M.A	4	27°29'69"S; 48°33'97"W
F7	Ilha do Arvoredo	M.A	5	27°17'57"S; 48°21'23"W
F8	Ilha do Campeche	M.A	5	27°41'81"S; 48°28'88"W
C1	Morro da Cruz	A.U	6	27°35'04"S; 48°31'04"W
C2	Campus da UFSC	A.U	6	27°36'13"S; 48°31'22"W
C3	Mercado Público	A.U	6	27°34'24"S; 48°32'15"W

*M.A - Mata Atlântica; A.U - Área Urbana

** 1 - área bem preservada, avançado estado de regeneração e muito pouca influência humana; 2 - área bem preservada, avançado estado de regeneração e pouca influência humana; 3 - área moderadamente preservada, avançado estado de regeneração, razoável influência humana; 4 - estado de regeneração intermediário e moderada influência humana; 5 área de regeneração intermediário e alta influência humana; 6 - áreas urbanas.

Tabela 2

Família Hospedeira	Espécie Hospedeira
Annonaceae	<i>Xylopi</i> sp.
Araliaceae	<i>Schefflera</i> sp.
Arecaceae	COCO <i>Syagrus romanzoffiana</i>
Bombacaceae	<i>Pseudobombax</i> sp.
Combretaceae	<i>Terminalia catappa</i>
Ebenaceae	<i>Diospyros kaki</i>
Euphorbiaceae	<i>Aleurites moluccana</i>
Fabaceae	<i>Inga</i> sp. <i>Phaseolus vulgaris</i>
Lauraceae	<i>Cinamomum</i> sp. <i>Ocotea</i> sp.
Magnoliaceae	<i>Talauma</i> sp.
Malpighiaceae	<i>Byrsonima legustifolia</i> <i>Byrsonima</i> sp. Malpighiaceae
Malvaceae	<i>Chorisia</i> sp.
Meliaceae	<i>Cabralea</i> sp. <i>Guarea</i> sp. <i>Melia azedarach</i>
Moraceae	<i>Coussapoa</i> sp. <i>Ficus</i> sp. <i>Fucus carica</i> <i>Helicostylis</i> sp. <i>Maclusa</i> sp.
Musaceae	<i>Musa</i> sp.
Myrtaceae	<i>Campomanesia</i> sp. <i>Chrysophyllum</i> sp. <i>Eugenia brsiliensis</i> <i>Eugenia uniflora</i> <i>Gomidesia spectabilis</i> <i>Myrcia</i> sp. <i>Psidium cattleyanum</i> <i>Psidium guayava</i>

	<i>Sygygium cumini</i>
Olacaceae	<i>Heisteria</i> sp.
Oxalidaceae	<i>Avehrroa carambola</i>
Passifloraceae	<i>Passiflora edulis</i>
Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i> <i>Malu</i> sp. <i>Prunus</i> sp. <i>Prunus</i> sp1. <i>Pyrus</i> sp.
Rubiaceae	<i>Lichia</i> sp. <i>Posoqueria latifolia</i> <i>Posoqueria</i> sp.
	<i>Psychotria</i> sp.
Rutaceae	<i>Citrus x limon</i> <i>Citrus reticulata</i> <i>Citrus x sinensis</i>
Sapotaceae	<i>Crysophyllum</i> sp.
Solanaceae	<i>Capsicum cordiforme</i> <i>Solanum inaequale</i> <i>Solanum lycopersicum</i>
Thymelaeaceae	<i>Daphnopsis</i> sp.
NÃO IDENTIFICADO	Fruit 1
NÃO IDENTIFICADO	Fruit 2
NÃO IDENTIFICADO	Fruit 3
NÃO IDENTIFICADO	Fruit 4

Tabela 3

Espécie	d'	Espécie	d'
DMIMP	0.89248571	DAPH	0.8057199
DBUSC	0.79533826	CABR	0.7674728
DBRIE	0.78174569	OCOT	0.7464600
DCDNO	0.70958958	CHRY	0.7233817
DZOTA	0.69126057	FRU5	0.7123537
DTRIS	0.62210494	SCHE	0.6972439
DMSIG	0.61993823	HEIS	0.6972439
DMELA	0.61006194	MALP	0.6715707
DORNA	0.60737152	LICH	0.6669176
DZOTT	0.57882561	POSO	0.6466656
DFROT	0.56406749	PSEU	0.6014067

DREPL	0.56649211	FRU1	0.5706164
DMPTO	0.55688839	AMOL	0.5412283
DROS3	0.55118644	EBRA	0.5353883
DBROM	0.53542450	GUAR	0.5172037
DCAPR	0.53213426	BLEG	0.4679377
DSHMI	0.51279649	FRU2	0.4407206
DMACU	0.51078577	FRU3	0.4117482
DPRGY	0.50680074	CSIN	0.4065483
DATRA	0.50457029	TALA	0.4062217
DSIMU	0.50278802	XYLO	0.3853126
DFUMI	0.48940865	PLAT	0.3673925
DBCNE	0.48836956	MYRC	0.3563373
DNEOG	0.47225992	PGUA	0.3330503
DWILL	0.44882792	BYR1	0.3322751
DPALL	0.44488794	TCAT	0.3173918
ZYGOT	0.43167702	INGA	0.3024363
DNEOC	0.41215868	CAMP	0.2936622
DANAN	0.41036131	CINA	0.2769030
DGRIS	0.40352828	FICU	0.2707923
DMSTR	0.40041578	CRYS	0.2422215
DONCA	0.36741105	COUS	0.2386926
DGUAR	0.36522949	ACAR	0.2295811
DBCNO	0.35707990	GSPE	0.2210835
ZINDI	0.35206022	PRU2	0.2065228
DKIKK	0.34465163	HELI	0.1772885
RHINO	0.34452017	EUNI	0.1668713
DMPUN	0.34430680	SCUM	0.1600687
DNAPP	0.33914948	PSYC	0.1584273
DMPIC	0.33179973	SROM	0.1536255
DMALE	0.31885113	SINA	0.1463705

DPOLY 0.30545648 PCAT 0.1346624
 DSTUR 0.30415405
 DDREY 0.29520611
 DROS1 0.28931088
 DIMMI 0.20426656
 DMERC 0.16356103
 DBAND 0.16238728

 DQUAD 0.12900009

 DBODE 0.11858505

 DIAT1 0.06070616

 DANNU 0.06070616

 DNEBU 0.06070616

 SCAPT_T 0.06070616
 DSENE 0.06070616

 DPROS 0.06070616

 DSALT 0.06070616

Tabela 4

	Obs	Vaznull (1000 réplicas)
Conectância	0.1257	0.0460 - 0.0625
H2' (especialização)	0.5112	0.0482 - 0.0601
Weighted NODF (aninhamento)	26.8773	41.3098 - 49.8832
Modularidade	0.47	0.046 – 0.063

Tabela 5

	Obs	Vaznull (1000 réplicas)
Conectância	0.2266	0.0323 - 0.0495
H2' (especialização)	0.4178	0.0291 - 0.0430
Weighted NODF (aninhamento)	32.8860	55.3812 - 66.7298
Modularidade	0.45	0.032 – 0.049

Tabela 6

Espécie	d'	Espécie	d'
DATRA	0.7867134	AMOL	0.87171984
DCDNO	0.7226238	AMOL	0.83731202
DMPUN	0.6626307	MACL	0.83241607
DBUSC	0.6108786	CGLA	0.82391673
DIMMI	0.6020130	COCO	0.67447257
SCAPT	0.5422121	PVUL	0.55679563
DGRIS	0.5242526	CCOR	0.54853127
DPRGY	0.5040525	TCAT	0.45105297
DCAPR	0.4581811	CSIN	0.40052678
DPALL	0.4503639	PEDU	0.39701955
DPROS	0.4421802	SROM	0.33682560
ZINDI	0.4355131	PRU1	0.26187244
DSETU	0.4386911	CRET	0.25285577
DVIRI	0.4386911	MUSA	0.24545172
DZOTT	0.4233378	PYRU	0.20629202
DNEOC	0.4201972	EJAP	0.19952058
DREPL	0.4090508	MALU	0.19117089
DPELL	0.3519301	DKAK	0.18573883
DMERC	0.3517632	CLIM	0.18234074
DCDNI	0.3187605	PGUA	0.17093045
DANAN	0.3135420	FCAR	0.15980420
DHYDE	0.3135143	MAZE	0.15648533
DWILL	0.2877437	SCUM	0.10872568
DKIKK	0.2747878	SLIC	0.09372476
DSIMU	0.2608702		
MELA	0.2558598		
DPOLA	0.2472599		
DMALE	0.2078284		
DPSTR	0.2073873		
CPECT	0.2056315		
SCMYZ	0.1903964		
DPOLY	0.1440055		

Material suplementar 1

Coletas trimestrais realizadas entre os anos de 1999 e 2000 nas áreas de Mata Atlântica e de 2002 e 2003 para as áreas urbanizadas com amostragens em todas as estações do ano.

Data da coleta	Estação do ano	Ponto amostrado
Março de 1999	Outono	F1,F2,F3,F4,F5,F6,F7,F8
Junho de 1999	Inverno	F1,F2,F3,F4,F5,F6,F7,F8
Setembro de 1999	Primavera	F1,F2,F3,F4,F5,F6,F7,F8
Dezembro de 1999	Verão	F1,F2,F3,F4,F5,F6,F7,F8
Março de 2000	Outono	F1,F2,F3,F4,F5,F6,F7,F8
Junho de 2000	Inverno	F1,F2,F3,F4,F5,F6,F7,F8
Setembro de 2000	Primavera	F1,F2,F3,F4,F5,F6,F7,F8
Dezembro de 2000	Verão	F1,F2,F3,F4,F5,F6,F7,F8
Agosto de 2002	Inverno	F4,C1,C2
Novembro de 2002	Primavera	F4,C1,C2
Fevereiro de 2003	Verão	F4,C1,C2
Mai de 2003	Outono	F4,C1,C2
Agosto de 2003	Inverno	F4,C1,C2

Material suplementar 2

Valores de modularidade geradas com cinco réplicas para Mata Atlântica (M.A) e para Áreas Urbanas (A.U). Em amarelo a modularidade com maior verossimilhança para cada uma das áreas.

	Modularidade M.A
Mod1	0.4687145*
Mod2	0.4687145
Mod3	0.4652749
Mod4	0.462447
Mod5	0.4684893

* Likelihood

	Modularidade A.U
Mod1	0.4440314
Mod2	0.4464005
Mod3	0.4466375*
Mod4	0.4464005
Mod5	0.4464929

* Likelihood

Material suplementar 3

Dados brutos de Drosophilidae obtidos nos frutos para área de Mata Atlântica (valores brutos multiplicados por 100)

*Tabela nos anexos da Tese

Material suplementar 4

Dados brutos de Drosophilidae obtidos nos frutos para área de Cidade (valores brutos multiplicados por 100).

*Tabela nos anexos da Tese

Material suplementar 5

Abundância de frutos amostrados na área de Mata Atlântica (Floresta).

Código	Espécie Hospedeira	Família Hospedeira	Nº de frutos
XYLO	<i>Xylopia</i> sp.	Annonaceae	4
SCHE	<i>Schefflera</i> sp.	Araliaceae	1
SROOM	<i>Syagrus romanzoffiana</i>	Arecaceae	24
PSEU	<i>Pseudobombax</i> sp.	Bombacaceae	1
TCAT	<i>Terminalia catappa</i>	Combretaceae	1
AMOL	<i>Aleurites moluccana</i>	Euphorbiaceae	2
INGA	<i>Inga</i> sp.	Fabaceae	1
CINA	<i>Cinamomum</i> sp.	Lauraceae	4
OCOT	<i>Ocotea</i> sp.	Lauraceae	2
TALA	<i>Talauma</i> sp.	Magnoliaceae	4
BLEG	<i>Byrsonima legustifolia</i>	Malpighiaceae	1
BYRS	<i>Byrsonima</i> sp.	Malpighiaceae	9
MALP	Malpighiaceae	Malpighiaceae	1
CARB	<i>Cabralea</i> sp.	Meliaceae	5
GUAR	<i>Guarea</i> sp.	Meliaceae	7
CAUS	<i>Coussapoa</i> sp.	Moraceae	1
FICU	<i>Ficus</i> sp.	Moraceae	7
HELI	<i>Helicostylis</i> sp.	Moraceae	1
CAMP	<i>Campomanesia</i> sp.	Myrtaceae	5
CHRY	<i>Chrysophyllum</i> sp.	Myrtaceae	1
EBRA	<i>Eugenia brasiliensis</i>	Myrtaceae	1
EUNI	<i>Eugenia uniflora</i>	Myrtaceae	5
GSPE	<i>Gomidesia spectabilis</i>	Myrtaceae	7
MYRC	<i>Myrcia</i> sp.	Myrtaceae	2
PCAT	<i>Psidium cattleianum</i>	Myrtaceae	13
PGUA	<i>Psidium guayava</i>	Myrtaceae	9
SCUM	<i>Sygygium cumini</i>	Myrtaceae	2
HEIS	<i>Heisteria</i> sp.	Olacaceae	1
ACAR	<i>Avehrroa carambola</i>	Oxalidaceae	1
PRU2	<i>Prunus</i> sp.	Rosaceae	2
LICH	<i>Lichia</i> sp.	Rubiaceae	1
PLAT	<i>Posoqueria latifolia</i>	Rubiaceae	4
POSO	<i>Posoqueria</i> sp.	Rubiaceae	2
PSYC	<i>Psychotria</i> sp.	Rubiaceae	8
CSIN	<i>Citrus sinensis</i>	Rutaceae	3
CHRY	<i>Chrysophyllum</i> sp.	Sapotaceae	1
SINE	<i>Solanum inaequale</i>	Solanaceae	11
DAPH	<i>Daphnopsis</i> sp.	Thymelaeaceae	1
FRU1	Fruit 1	NÃO IDENTIFICADO	15
FRU2	Fruit 2	NÃO IDENTIFICADO	6
FRU3	Fruit 3	NÃO IDENTIFICADO	2
FRU4	Fruit 4	NÃO IDENTIFICADO	2

181

Material suplementar 6

Abundância de frutos amostrados na área urbana (Cidade).

Código	Espécie Hospedeira	Família Hospedeira	Nº de frutos
SROM	<i>Syagrus romanzoffiana</i>	Arecaceae	2
COCO	COCO	Arecaceae	3
CGLA	<i>Cecropia glaziovii</i>	Cecropiaceae	3
TCAT	<i>Terminalia catappa</i>	Combretaceae	2
DKAK	<i>Diospyros kaki</i>	Ebenaceae	3
AMOL	<i>Aleurites moluccana</i>	Euphorbiaceae	3
PVUL	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fabaceae	1
CHOR	<i>Chorisia</i> sp.	Malvaceae	2
MAZE	<i>Melia azedarach</i>	Meliaceae	5
FCAR	<i>Fucus carica</i>	Moraceae	1
MACL	<i>Maclusa</i> sp.	Moraceae	1
MUSA	<i>Musa</i> sp.	Musaceae	6
PGUA	<i>Psidium guayava</i>	Myrtaceae	8
SCUM	<i>Sygygium cumini</i>	Myrtaceae	2
PEDU	<i>Passiflora edulis</i>	Passifloraceae	3
EJAP	<i>Eriobotrya japonica</i>	Rosaceae	4
MALU	<i>Malu</i> sp.	Rosaceae	3
PRUN	<i>Prunus</i> sp1.	Rosaceae	1
PYRU	<i>Pyrus</i> sp.	Rosaceae	1
CLIM	<i>Citrus x limon</i>	Rutaceae	1
CRET	<i>Citrus reticulata</i>	Rutaceae	3
CSIN	<i>Citrus x sinensis</i>	Rutaceae	7
CCOR	<i>Capsicum cordiforme</i>	Solanaceae	3
SLYC	<i>Solanum lycopersicum</i>	Solanaceae	4

72

Material Suplementar 7

Diversidade total de Drosophilidae observados para as áreas amostradas.

Grupo	Espécie	Código
Gênero <i>Chymomyza</i> <i>procnemis</i>	<i>C. pectinifemur</i> Duda, 1927	CPECT
Gênero <i>Diathoneura</i> Subgênero <i>Diathoneura</i>	<i>D. smithi</i> Vilela & Bächli, 1990 <i>Diathoneura</i> sp.1	DSMIT DIATH
Gênero <i>Drosophila</i> Subgênero <i>Dorsilopha</i> <i>busckii</i>	<i>D. busckii</i> Coquillett, 1901	DBUSC
Subgênero <i>Drosophila</i> <i>annulimana</i>	<i>D. annulimana</i> Duda, 1927	DANNU
<i>bromeliae</i>	<i>D. bromelioides</i> Pavan & Cunha, 1947	DBROM
<i>calloptera</i>	<i>D. atrata</i> Burla & Pavan, 1953 <i>D. quadrum</i> Wiedemann, 1830	DATRA DQUAD
<i>cardini</i>	<i>D. cardini</i> Sturtevant, 1916 <i>D. cardinoides</i> Dobzhansky & Pavan, 1943 <i>D. neocardini</i> Streisinger, 1946 <i>D. polymorpha</i> Dobzhansky & Pavan, 1943 <i>D. polymorpha</i> (aff)	DCDNI DCDNO DNEOC DPOLY DPOLA
<i>dreyfusi</i>	<i>D. dreyfusi</i> Dobzhansky & Pavan, 1943 <i>D. briegei</i> Pavan & Breuer, 1954	DDREY DBRIE
<i>guarani</i>	<i>D. griseolineata</i> Duda, 1927 <i>D. guaru</i> Dobzhansky & Pavan, 1943 <i>D. maculifrons</i> Duda, 1927 <i>D. ornatifrons</i> Duda, 1927	DGRIS DGUAR DMACU DORNA
<i>immigrans</i>	<i>D. immigrans</i> Sturtevant, 1921	DIMMI
<i>pallidipennis</i>	<i>D. pallidipennis</i> Dobzhansky & Pavan, 1943	DPALL
<i>repleta</i>	<i>D. hydei</i> Sturtevant, 1921 <i>D. mercatorum</i> Patterson & Wheeler, 1942	DHYDE DMERC

	<i>D. onca</i> Dobzhansky & Pavan, 1943	DONCA
	<i>D. repleta</i> Wollaston, 1858	DREPL
	<i>D. senei</i> Vilela, 1983	DSENE
	<i>D. zottii</i> Vilela, 1983	DZOTT
	<i>D. zottii</i> (aff.)	DZOTA
<i>tripunctata</i>	<i>D. bandeirantorum</i> Dobzhansky & Pavan, 1943	DBAND
	<i>D. bodemanae</i> Pipkin & Heed, 1964	DBODE
	<i>D. frotapessoai</i> Vilela & Bächli, 1990	DFROT
	<i>D. medioimpressa</i> Frota-Pessoa, 1954	DMIMP
	<i>D. midiopicta</i> Frota-Pessoa, 1954	DPIC
	<i>D. mediopictoides</i> Heed & Wheeler, 1957	DPICO
	<i>D. mediopunctata</i> Dobzhansky & Pavan, 1943	DPUNC
	<i>D. mediosignata</i> Dobzhansky & Pavan, 1943	DSIGN
	<i>D. mesiostrata</i> Duda, 1925	DSTRI
	<i>D. nappae</i> Vilela, Valente & Basso-da-Silva, 2004	DNAPP
	<i>D. neoguaramunu</i> Frydenberg, 1956	DNGUA
	<i>D. paraguayensis</i> Duda, 1927/ <i>D. cuaso</i> Bächli, Vilela & Ratcov, 2000	DPGUA
	<i>D. paramediostrata</i> Townsend & Weeler, 1955	DPSTR
	<i>D. pellewae</i> Pipkin & Heed, 1964	DPELL
	<i>D. setula</i> Heed & Wheeler, 1957	DSETU
	<i>D. tristriata</i> Heed & Wheeler, 1957	DTRIS
<i>virilis</i>	<i>D. virilis</i> Sturtevant, 1916	DVIRI
Subgênero <i>Sophophora</i>		
<i>melanogaster</i>	<i>D. ananassae</i> Doleschall, 1858	DANAN
	<i>D. kikkawai</i> Burla, 1954	DKIKK
	<i>D. malerkotliana</i> Parshad & Paika, 1964	DMALE
	<i>D. melanogaster</i> Meigen, 1830	DMELA
	<i>D. simulans</i> Sturtevant, 1919	DSIMU
<i>saltans</i>	<i>D. prosaltans</i> Duda, 1927	DPROS
	<i>D. saltans</i> Sturtevant Duda, 1916	DSALT
	<i>D. sturtevantii</i> Duda, 1927	DSTUR
<i>willistoni</i>	<i>D. bocainensis</i> Pavan & Cunha, 1947	DBCNE
	<i>D. bocainoides</i> Carson, 1954	DBCNO
	<i>D. capricorni</i> Dobzhansky & Pavan, 1943	DCAPR
	<i>D. fumipennis</i> Duda, 1925	DFUMI

	<i>D. nebulosa</i> Sturtevant, 1916	DNEBU
	<i>D. willistoni</i> Sturtevant, 1916/ <i>D. paulistorum</i> Dobzhansky & Pavan, in Burla et al., 1949	DWILL
não determinadas	<i>Drosophila</i> sp.1	DSP1
	<i>Drosophila</i> sp.3	DSP3
Gênero <i>Rhinoleucophenga</i>	<i>Rhinoleucophenga</i> spp.	RHINO
Gênero <i>Scaptodrosophila</i>		
<i>latifasciaeformis</i>	<i>S. latifasciaeformis</i> Duda, 1940	SLATI
Gênero <i>Scaptomyza</i>	<i>Scaptomyza</i> sp.	SCAPT
Gênero <i>Zaprionus</i>		
<i>armatus</i>	<i>Z. indianus</i> Gupta, 1970	ZINDI
Gênero <i>Zygothrica</i>	<i>Zygothrica</i> sp.	ZYGOT

Conclusões gerais e perspectivas

Os insetos da família Drosophilidae são utilizados como modelos biológicos à centenas de anos, o que permitiu o amplo conhecimento acerca desses organismos e sua história de vida. Desde os primeiros trabalhos descritivos até os estudos mais atuais envolvendo o genoma desses organismos, muitas descobertas foram feitas ao mesmo tempo em que tantas outras lacunas surgiam, possibilitando novos estudos a fim de elucidar essas questões. Ao passar do tempo, diversos estudos ecológicos ampliaram o conhecimento sobre a captura desses organismos, observando que a até então “mosca-da-fruta” apresentava interesse por uma série de recursos muito além de frutos em decomposição, como por exemplo, os corpos de frutificação de fungos macroscópicos. No entanto, ainda faltava entender qual o tipo de relação estava presente nessa interação, sabendo que os drosofilídeos utilizam os recursos tanto como fonte de alimentação como arena para corte ou até mesmo oviposição e berçário das larvas.

Nesse sentido, o presente estudo ampliou o conhecimento sobre os Drosophilidae micófagos e a utilização de diferentes espécies de fungos macroscópicos (Capítulo I), demonstrando a especialização de cada espécie. Para isso nosso estudo propõe a utilização de redes de interação ecológicas, que apesar de amplamente utilizada em estudos com insetos, ainda era desconhecido para o grupo. Nossos resultados confirmam a especialização de Drosophilidae para determinadas espécies de fungos, mesmo com alto número de espécies generalistas. No entanto, nosso estudo abre algumas lacunas para que estudos futuros possam ampliar o conhecimento sobre a especialização dos drosofilídeos na utilização de corpos de frutificação em diferentes estágios de maturação/decomposição, uma vez que existe alteração das comunidades de acordo com o estado de decomposição do recurso.

Também ampliamos o conhecimento sobre os Drosophilidae frugívoros ao aplicar metodologia de redes de interação ecológica para compreender os padrões de utilização de frutos de diferentes espécies vegetais em um gradiente entre área de Mata Atlântica e áreas urbanizadas (Capítulo II). Nosso estudo corrobora a influência da antropização/urbanização sobre as comunidades de Drosophilidae, que diminuem sua riqueza e especialização com o aumento da urbanização, permitindo a dominância de espécies exóticas e generalistas. Nesse sentido, nosso estudo deixa em aberto a análise de características morfológicas dos frutos como dureza, valor nutricional, casca, polpa etc para mensurar a preferência das espécies pelos diferentes tipos de frutos em

estudos futuros.

Por fim, sugerimos a confirmação da identificação de alguns organismos por parte de especialistas dos determinados grupos para descrição de prováveis espécies novas amostradas em nosso estudos.

Referências Bibliográficas

Araújo, G. M.; Nunes, J. J.; Rosa, A. G. & Resende, E. J. 1997. Estrutura comunitária de vinte áreas de cerrados residuais no município de Uberlândia, MG. *Daphne* 7: 7-14.

Ashburner, M., Carson, H. L., Thompson Jr., J. N. 1983. The genetics and biology of *Drosophila*. Volume 3d. Academic Press. London. United Kingdom. 467p.

Bächli, G. 2024. The database on taxonomy of Drosophilidae. *Taxodros*. Disponível em: <http://www.taxodros.unizh.ch>. Acesso em: 24 abr. 2024.

Bascompte J, Jordano P, Melián CJ, Olesen JM. 2003. The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Science*. 100:9383–87

Bascompte, J. & Jordano, P. 2007. Plant-Animal mutualistic networks: The architecture of Biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematic*. 38: 567-593.

Begon, M., Harper, J. L., Townsend, C. R. 1996. Ecology – individuals, populations and communities. 2ª Ed. *Blackwell Scientific Publications*.

Brcic, D. 1983. A review of the genus *Scaptomyza* Hardy (Diptera, Drosophilidae) in Chile with the description of a new species. *Revista Chilena de Historia Natural*. 56, 71-76.

Chamberlain, S. A., Bronstein, J. L., Rudgers, J. A. 2014. How context dependent are species interactions? *Ecology Letters*. 17, 881–890.

Cordeiro, J., de Oliveira, J. H. F., Schmitz, H. J., & Vizentin-Bugoni, J. 2020. High niche partitioning promotes highly specialized, modular and non-nested florivore–plant networks across spatial scales and reveals drivers of specialization. *Oikos*. 129(5), 619–629.

Da Mata, R. A. 2007. Diversidade das assembléias de Drosofilídeos (insecta, diptera) do Cerrado. 112 f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Universidade de Brasília, Brasília.

Darwin, C. 1979 A origem das espécies. Traduzido por Eduardo Fonseca. Editora *Hemus*, 471p.

- Del-Claro, K. & Torezan-Silingardi, H. M. 2012 – Ecologia das Interações Plantas-Animais: Uma abordagem ecológico-evolutiva. *Technical*. 1ª Ed. 336p.
- Dale, V.H. & Beyeler, S.C. 2001. Challenges in the development and use of ecological indicators. *Ecological indicators*. 1, 3-10.
- Deprá, M.; Poppe, J.L.; Schmitz, H.J.; De Toni, D.C; Valente, V.L.S. 2014. The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in the South American continent. *Journal of Pest Science*. V.87 N°3, P. 379–383.
- De Toni, D.C.; Hofmann, P.R.P.; Valente, V.L.S. 2001. First Record of *Zaprionus indianus* (Diptera, Drosophilidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. *Biotemas*. 14(1), 71-85.
- De Toni, D. C.; Gottschalk, M. S., Cordeiro, J., Hofmann, P. P. R., Valente, V. L. S. 2007. Study of Drosophilidae (Diptera) communities on Atlantic Forest islands of Santa Catarina state, Brazil. *Neotropical Entomology*. 36(3), 356-375.
- Dobzhansky, T. & Pavan, C. 1950. Local and seasonal variations in relative frequencies of species of *Drosophila* in Brazil. *Journal of Animal Ecology*, 19, 1–14.
- Döge, J. S., Valente V.L.S., Hoffman, P.R.P. 2008, Drosofilídeos (Diptera) de uma área de floresta atlântica em Santa Catarina, Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, Curitiba, v. 52, p. 615-624.
- Dos Santos, R.C.O. & Vilela, C.R. 2005. Breeding sites of Neotropical Drosophilidae (Diptera). IV. Living and fallen flowers of *Sessea brasiliensis* and *Cestrum* spp. (Solanaceae). *Revista Brasileira de Entomologia*. 49(4), 544-551.
- Dos Santos, R. S. S. 2014. *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) atacando frutos de morango no Brasil. *Enciclopédia Biosfera*. Centro Científico Conhecer. 10(18), 4005-4011.
- Duarte, L.B., Gottschalk, M. S. & Robe, L. J., 2018. Assemblage of drosophilids (Diptera, Drosophilidae) inhabiting flooded and non flooded areas in the extreme South of Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 62, 29-35.
- Forup, M.L., Henson, K.S.E., Craze, P.G., Memmott, J. 2008. *Journal of Applied Ecology*. 45, 742-752.
- Frank van Veen, F. J., Morris, R. J., & Godfray, H. C. J. 2006. Apparent competition,

quantitative food webs, and the structure of phytophagous insect communities. *Annual Review of Entomology*. 51, 187–208.

Garcia, A.C.L., Gottschalk, M.S., Montes, M.A., Valiati, V.H., Rohde, C., Valente, V.L.S. 2009. Spatial and temporal variation in Drosophilidae (Diptera) abundance in three environments with different vegetal cover levels in a park in Porto Alegre, Southern Brazil. *Drosophila Information Service*. 94, 80-87.

Groff, B. L., Vizantin-Bugoni, J., Gottschalk, M. S. 2022. Variação interanual nas interações entre macrofungos e insetos, com ênfase em Drosophilidae. *XXXI CIC – Congresso de Iniciação Científica*. 8ª Semana Integrada da UFPel. 1-4.

Gonçalves, T. S. 2015. Interações ecológicas e evolutivas entre: plantas, herbívoros e seus inimigos naturais. *Agropecuária científica no semiárido*. 03(03), 1-9.

Goñi, B.; Martinez, M.E.; Valente, V.L.S.; Vilela, C.R. 1998. Preliminary Data on the *Drosophila* Species (Diptera, Drosophilidae) from Uruguay. *Revista Brasileira de Entomologia*. 42(3/4), 131-140.

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

Gottschalk, M. S., Bizzo, L., Döge, J. S., Profes, M. S., Hofmann, P. R., Valente, V. L. 2009. Drosophilidae (Diptera) associated to fungi: differential use of resources in anthropic and Atlantic Rain Forest areas. *Iheringia. Série Zoologia*. 99, 442-448.

Gottlieb, O.R. & Borin, M.R.M. 2012. Químico-biologia quantitativa, um novo paradigma? *Química Nova*. 35(11), 2105-2114.

Hochmüller, C.J.C., Lopes-da-Silva, M.; Valente, V.L.S.; Schmitz, H.J. 2010. The drosophilidae fauna (Diptera, Drosophilidae) of the transition between the Pampa and Atlantic Forest Biomes in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil: first records. *Papéis Avulsos de Zoologia*. 50 (19), 285-295.

Ibanez, S., 2012. Optimizing size thresholds in a plant-pollinator interaction web: towards a mechanistic understanding of ecological networks. *Oecologia* 170, 233–242.

Jordano, P.; Bascompte, J.; Olesen, J. M. 2003. Invariant properties in coevolutionary networks of plant-animal interactions. *Ecology Letters*, Montpellier, v. 6, p. 69-81.

- Kawatsu, K., Ushio, M., Veen, F. J. F., & Kondoh, M. 2021. Are networks of trophic interactions sufficient for understanding the dynamics of multi-trophic communities? Analysis of a tri-trophic insect food-web time-series. *Ecology Letters*, 24(3), 543–552.
- Lachaise, D., Tsacas, L. (1983) Breeding-sites in tropical African drosophilids. In: Ashburner, M., Carson, H.L., Thompson Jr., J.N. (eds) *The Genetics and Biology of Drosophila*. Academic Press, London, 3ed, 221-332.
- Landres, P.B., Verner, J., Thomas, J.W. 1988. Ecological uses of vertebrate indicator species: a critique. *Conservation Biology*, 2, 316-328.
- Lee, J.C.; Bruck, D.J.; Curry, H.; Edwards, D.; Havelands, D.R.; Van Streenwyk, R.A.; Yorgey, B.M. 2011. The susceptibility of small fruits and cherries to the spotted-wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii*. *Pest Management Science*. 67(11), 1358-1367.
- Lewinsohn, T. M., Loyola, R. D., Prado, P. I. 2006. Matrizes, redes e ordenações: A detecção de estrutura em comunidades interativas. *Oecologia Brasilienses*. 10(1): 90-104.
- Lima, J. S., Pinto, O. R. O., Honorato, T. B., Melo, J. G. M., Pinto, C. M. 2013. Interações tritróficas nos agroecossistemas. *Revista Enciclopédia Biosfera*, Goiânia, v. 9, n.16, 1347-1360.
- Losapio, G., Jordán, F., Caccianiga, M., Gobbi, M., 2015. Structure-dynamic relationship of plant-insect networks along a primary succession gradient on a glacier foreland. *Ecol. Modell.*, 314, 73–79.
- Lovatto, P. B.; Schiedeck, G.; Garcia, F. R. M. 2012. A interação coevolutiva entre insetos e plantas como estratégia ao manejo agroecológico em agroecossistemas sustentáveis. *Revista Interciência*, v. 37, n.9, p. 657-663.
- Markow, T.A. & O’Grady, P.M. 2007. *Drosophila* Biology in the Genomic Age. *Genetics*. 177, 1269-1276.
- Markow, T.A. & O’Grady, P.M. 2008. Reproductive ecology of *Drosophila*. *Functional Ecology*. 22, 747-759.
- Martin, Thomas E. 2001. "Abiotic vs. Biotic Influences on Habitat Selection of Coexisting Species: Climate Change Impacts?" *Wildlife Biology Faculty Publications*. 82, 175-188.
- Martins, L. A-C P. 1998. Thomas Hunt Morgan e a teoria cromossômica: de crítico a defensor. *Episteme*, 3(6): 100-126.

- Mello, M. A. R., Marquitti, F. M. D., Guimaraes, J. R. P. R., Kalko, E. K. V., Jordano, P., Aguiar, M. A. M. 2011. The modularity of seed dispersal: differences in structure and robustness between bat- and bird-fruit networks. *Oecologia*, Heidelberg, v. 167, p. 131-140.
- Mendes, M. F., Valer, F. B., Vieira, J. G. A., Blauth, M. L., Gottschalk, M. S. 2017. Diversity of Drosophilidae (Insecta, Diptera) in the Restinga forest of southern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*. 61, 248-258.
- Moraes, E.M., & Sene, F.M. 2003. Relationships between necrotic cactus availability and population size in a cactophilic *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) located on a sandstone table hill in Brazil. *Revista de Biología Tropical*, 51(1), 205-212.
- Morales, M. M. 2008. Métodos alternativos à utilização de animais em pesquisa científica: mito ou realidade? *Experimentação Animal/Artigos*, v.60, n.2, p.33-36.
- Nascimento, J. B. 2011. Fatores que afetam a liberação e a eficiência de parasitoides no controle biológico de insetos-praga. *Enciclopédia Biosfera*. 7(13), 550- 570.
- Navarrete-Heredia, J. L.; Miranda, H. E. G. 1997. Escarabajos asociados a basidiomycetes en San José de los Laureles, Morelos, México (Coleoptera: Scarabaeidae). *Folia Entomológica Mexicana*. 99, 1-16.
- Okada, T. & Carson, H.L. 1983. Drosophilidae from banana traps over an altitudinal transect in Papua New Guinea – Descriptions of new species with notes on newly recorded species. *International Journal of Entomology*. 25(2/3), 127-141.
- Pereira, A.C.F., Fonseca, F.S.A., Mota, G.R., Fernandes, A.K.C., Fagundes, M., Reis-Junior, R., Faria, M.L., 2014. Ecological interactions shape the dynamics of seed predation in *Acrocomia aculeate* (Arecaceae). *PloS One* 9, e98026.
- Perveen, F. K. 2018. Introduction to *Drosophila*. In: *Drosophila melanogaster – Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics*. 1 ed. London: IntechOpen, 2018.
- Pigozzo, C. M., & Vianna, B. F. 2010. Estrutura da rede de interações entre flores e abelhas em ambientes de Caatinga. *Oecologia Australis*. 14(1), 100-114.
- Poppe, J.L., Valente, V.L.S., Schmitz, H.J., 2012. Structure of Drosophilidae Assemblage (Insecta, Diptera) in Pampa Biomes (São Luiz Gonzaga, RS). *Papéis Avulsos de Zoologia*. 185-195.

- Poppe, J. L., Schmitz, H. J., Valente, V. L. S. 2016. Changes in the structure of Drosophilidae (Diptera) assemblages associated with contrasting environments in the Pampas biome across temporal and spatial scales. *Annals of the Entomological Society of America*, Maryland, v. 109, n. 4, p. 567-573.
- Rice, C. 2003. Odonates (dragonflies and damselflies) as biological indicators at grazed prairie wetlands. MSc Thesis. Alberta: University of Alberta, 292p.
- Ricklefs, R. E. Traduzido por Bueno, C. (et al). 2003. A economia da natureza. Ed. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro, 2003. Pg.305.
- Roque, F.; Hay, J.D.V.; Tidon, R. 2009. Breeding sites of drosophilids (Diptera) in the Brazilian Savanna. I. Fallen fruits of *Emmotum nitens* (Icacinaceae), *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) and *Anacardium humile* (Anacardiaceae). *Revista Brasileira de Entomologia*, n. 53, v. 2, p. 308-313.
- Santa-Brigida, R., Schmitz, H. J., Martins, M. B. 2017. Drosophilidae (Insecta, Diptera) in the state of Pará (Brazil). *Biota Neotropica*, Campinas, v. 17, n. 1, p. 42-53.
- Schoenly, K., Beaver, R. A., & Heumier, T. A. 1991. On the Trophic Relations of Insects: A Food-Web Approach. *The American Naturalist*, 137(5), 597–638
- Sepel, L. M. N. & Loreto, E.L.S. 2010. 2010: Um século de *Drosophila* na Genética. *Genética na Escola*. Santa Maria RS, v. 5, n. 2, 42-47.
- Schmitz, H.J.; Valente, V.L.S.; Hofmann, P.R.P. 2007. Taxonomic Survey of Drosophilidae (Diptera) from Mangrove Forest of Santa Catarina Island, Southern Brazil. *Neotropical Entomology*. 36(1), 053-064.
- Souza, D.S.; Valer, F.B.; Cordeiro, J.; Gottschalk. 2013. Primeiro registro de *Drosophila suzukii* no Brasil. In: Congresso De Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS. Anais. Pelotas, RS, UFPEL.
- Tidon, R. 2006. Relationships between drosophilids (Diptera, Drosophilidae) and the environment in two contrasting tropical vegetations. *Biological Journal of Linnean Society*. 87, 233-247.

- Tidon R., Gottschalk, M. S., Schmitz, H. J., Martins, M. B., Costa, S. C. 2024. Drosophilidae in **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil**. PNUD. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/183186>>. Acesso em: 11 jan. 2024
- Tosi, D., Martins, M.B., Vilela, C.R. & Pereira, M.A.Q.R. 1990. On a new cave-dwelling species of bat guano-breeding *Drosophila* closely related to *D. repleta* Wollaston. *Revista Brasileira de Genética*, 13, 19-31
- Throckmorton, L.H. 1975. The phylogeny, ecology and geography of *Drosophila*. In: King, R.C. Handbook of Genetics. New York: Plenum Press, p. 421-469.
- Valer, F. B., Bernardi, E., Mendes, M. F., Blauth, M. L., Gottschalk, M. S. 2016. Diversity and association between Drosophilidae (Diptera) species and Basidiomycetes in a Neotropical forest. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 88, 705-718.
- Vieira, J. G. A., Wollmann, J., Schlesener, D. C. H., Mendes, S. R., Garcia, F. R. M. 2019. Níveis de infestação de *Zaprionus indianus* (Diptera, Drosophilidae) em diferentes frutos hospedeiros. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. 18(2), 268-273.
- Walsh, D.B.; Bolda, M.P.; Goodhue, R.E.; Dreves, A.J.; Lee, J.; Bruck, D.J.; Walton, V.M.; O'Neal, S.D.; Zalom, F.G. (2011). *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive Pest of Ripening Soft Fruit Expanding its Geographic Range and Damage Potential. *Journal of Integrated Pest Management*. 2(1),1-7.
- Yamashita, S., Ando, K., Hoshina, H., Ito, N., Katayama, Y., Kawanabe, M., Maruyama, M. Itioka, T. 2015. Food web structure of the fungivorous insect community on bracket fungi in a Bornean tropical rain forest. *Ecological Entomology*. 40(4), 390–400.

Anexos:

Tabela S3 - Dados brutos de Drosophilidae obtidos nos frutos para área de Mata Atlântica (valores brutos multiplica

	DSHMI	DIAT1	DANNU	DBROM	DBUSC	DATRA	DQUAD	DCDNO	DNEOC	DPOLY	DDREY	DBRIE
ACAR	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0
AMOL	0	0	0	0	0	0	0	2600	0	850	0	0
BLEG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BYR1	0	0	0	0	0	60	0	0	600	0	0	0
CABR	0	0	0	0	2360	0	0	0	0	0	0	0
CAMP	0	0	0	0	0	325	0	0	0	0	0	0
CHRY	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
CINA	0	0	0	150	0	0	0	0	0	0	0	0
COUS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CRYS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CSIN	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DAPH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EBRA	0	0	0	900	0	0	0	400	0	0	0	0
EUNI	0	0	0	133	33	0	0	0	0	233	0	0
FICU	0	0	0	33	0	67	0	100	0	33	0	0
FRU1	0	0	0	0	220	100	0	0	0	0	0	0
FRU2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FRU3	0	0	0	0	0	500	0	0	0	0	0	0
FRU5	50	0	0	0	2800	0	0	0	0	0	0	0
GSPE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GUAR	0	0	0	0	0	400	0	0	0	0	0	0
HEIS	0	0	0	0	0	400	0	0	0	0	0	0
HELI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
INGA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LICH	0	0	0	0	0	0	0	600	0	0	0	0
MALP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300	100	0
MYRC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OCOT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
PCAT	0	0	0	62	0	12	0	0	0	0	0	0
PGUA	0	0	0	0	0	0	0	0	80	40	0	0
PLAT	0	0	0	0	0	300	0	0	0	0	0	0
POSO	0	0	0	0	0	100	0	1000	0	400	0	0
PRU2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PSEU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PSYC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SCHE	0	0	0	0	0	400	0	0	0	0	0	0
SCUM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SINA	0	0	0	0	0	157	0	357	0	14	0	0
SROM	0	5	5	40	165	150	20	0	70	1855	5	0
TALA	0	0	0	0	0	67	0	133	0	0	0	0
TCAT	0	0	0	0	100	0	0	0	0	200	0	0
XYLO	0	0	0	0	0	200	0	0	0	0	0	0

dos por 100)

DGRIS	DGUAR	DMACU	DORNA	DIMMI	DANAN	DKIKK	DMALE	DMELA	DSIMU	DBODE	DPALL	DMERC
0	0	0	0	0	500	100	600	600	17450	0	50	0
150	0	0	0	0	0	150	0	2050	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	400	0	100	0	0	0
120	0	0	0	0	20	0	0	3600	80	0	0	20
140	0	0	0	0	0	0	0	0	80	0	0	0
0	0	0	0	25	0	0	0	25	2450	0	25	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0	7200	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1000	0	13400	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	2800	0	0	0
0	0	0	0	0	50	0	0	0	300	0	100	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0
333	0	0	0	100	0	0	0	5500	4633	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0	3300	6533	4467	0	0	0
2640	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	20	100	0	0	0
75	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	1300	2800	0	0	0
300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	26000	0	0	0	0
0	50	0	0	0	0	0	0	0	150	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	12	125	62	3687	0	0	0
0	0	0	0	0	0	140	300	680	6400	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	4100	200	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	1983	800	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
743	0	0	0	0	0	0	14	0	3686	0	57	0
3465	0	0	5	140	0	0	1420	4845	49785	15	0	100
1133	0	33	0	0	0	0	0	533	133	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	0	0
200	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0

DMPUN	DMSIG	DMSTR	DNAPP	DNEOG	DPRGY	DTRIS	DBCNE	DBCNO	DCAPR	DFUMI	DNEBU	DWILL
0	100	600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3250
150	150	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	200	0	0	0	0	500	0	34900
120	0	0	0	440	1000	0	1540	440	2020	300	0	2220
0	0	0	0	0	520	320	0	0	0	0	0	20
0	0	0	0	50	75	0	0	0	0	0	0	100
100	0	0	0	0	0	0	200	0	8500	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2300
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
300	3500	0	100	0	600	0	0	0	0	0	0	0
1600	0	600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400
2833	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2300
267	167	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	333
280	240	0	20	0	200	0	0	0	40	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
800	800	0	0	0	0	0	2700	200	4200	4200	0	9800
850	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
180	20	0	0	0	0	0	280	80	220	580	0	4820
25	125	0	0	25	25	0	0	0	0	0	0	25
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	500	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13800
150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5362
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	240
50	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	200	0	0	0	100	0	0	900
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	500
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200
428	100	0	0	0	14	0	0	0	2886	0	0	10443
1100	380	220	55	0	5	0	35	25	2060	50	5	24870
0	0	0	0	0	900	0	0	0	100	0	0	33
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
300	0	0	0	0	600	0	700	0	500	0	0	100

DROS1	DROS3	RHINO	SCAPT	ZINDI	ZYGOT
0	0	0	0	550	0
0	0	200	0	0	0
0	0	0	0	0	0
20	860	20	0	60	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	100
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	150	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	467	0
0	0	33	0	400	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	75
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	350
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	125	0
0	0	0	0	2140	0
0	0	150	0	0	0
0	0	0	0	0	100
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	300	0
17	0	0	0	0	167
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	43	0
5	0	80	5	1035	15
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0

Tabela S4 - Dados brutos de Drosophilidae obtidos nos frutos para área de Cidade (valores brutos multiplicados por

	CPECT	DBUSC	DATRA	DCDNI	DCDNO	DNEOC	DPOLY	DPOLA	DGRIS	DIMMI	DANAN	DKIKK
AMOL	0	0	0	0	12767	367	0	0	0	0	0	0
CCOR	0	10800	0	600	0	0	0	0	0	6700	0	0
CGLA	0	0	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CHOR	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0
CLIM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
COCO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400
CRET	0	0	0	0	300	0	0	0	133	0	0	0
CSIN	114	0	0	57	243	957	0	0	28	14	300	14
DKAK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	700
EJAP	0	0	0	0	275	75	0	0	25	25	0	325
FCAR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
MACL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MALU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	133
MAZE	0	0	0	0	0	0	0	0	100	50	0	0
MUSA	75	0	0	0	1375	25	50	0	0	475	10800	900
PEDU	950	40000	0	150	450	0	0	0	0	200	15250	150
PGUA	0	0	0	0	137	0	25	37	0	0	725	625
PRU1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	700	0
PVUL	0	600	0	0	100	0	0	0	0	0	0	100
PYRU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0
SCUM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
SLIC	0	475	0	25	0	0	0	0	0	0	250	25
SROM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TCAT	0	0	0	0	200	150	200	800	0	0	0	300

100).

DMALE	DMELA	DSIMU	DPALL	DHYDE	DMERC	DREPL	DZOTT	DPROS	DMPUN	DPRGY	DPSTR	DPELL
100	0	0	0	0	33	0	0	0	0	1500	0	0
0	0	2150	600	0	850	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1100	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	133	2567	0	0	0	0	0	0	367	433	0	0
628	100	786	0	0	228	0	171	0	0	0	600	14
1467	0	6000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1275	75	950	0	0	150	0	100	75	150	0	0	0
100	0	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	0	0	0
200	133	533	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2350	50	9350	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2825	2775	26225	0	575	3125	550	0	0	0	0	250	0
5150	3900	21200	0	0	0	1600	0	0	0	0	1150	0
13375	1312	10850	0	0	25	0	0	0	0	200	0	0
1700	4600	8400	0	0	3100	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1300	0	0	0	0	300	0
100	0	2000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
400	0	850	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	975	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0
3500	0	27900	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
26500	0	6100	0	0	0	0	0	0	0	700	400	0

DSETU	DVIRI	DCAPR	DWILL	SCAPT	SCMYZ	ZINDI
0	0	0	167	0	0	0
0	0	0	50	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	600	0	0	0
86	86	0	3186	1514	0	786
0	0	0	100	0	0	133
0	0	100	1225	0	0	4200
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1233	0	0	600
0	0	0	50	0	0	2800
0	0	0	625	0	0	650
0	0	0	500	0	150	50
0	0	0	1975	0	0	11275
0	0	0	100	0	0	1300
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	3600
0	0	0	50	0	0	1000
0	0	0	25	0	0	0
0	0	0	100	0	0	100
0	0	0	10150	300	0	30600



Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 25454-1	Data da Emissão: 24/02/2011 15:22
-----------------	-----------------------------------

Dados do titular

Nome: Marco Silva Gottschalk	CPF: 004.259.999-71
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG	CNPJ: 94.877.586/0001-10

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	A licença permanente não é válida para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) manutenção de espécimes de fauna silvestre em cativeiro; c) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e d) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna. A restrição prevista no item d não se aplica às categorias Reserva Particular do Patrimônio Natural, Área de Relevante Interesse Ecológico e Área de Proteção Ambiental constituídas por terras privadas.
3	O pesquisador titular da licença permanente, quando acompanhado, deverá registrar a expedição de campo no Sisbio e informar o nome e CPF dos membros da sua equipe, bem como dados da expedição, que constarão no comprovante de registro de expedição para eventual apresentação à fiscalização;
4	Esta licença permanente NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal.
5	Esta licença permanente não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais ou esportivos ou para realização de atividades integrantes do processo de licenciamento ambiental de empreendimentos.
6	Este documento NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
7	O pesquisador titular da licença permanente será responsável pelos atos dos membros da equipe (quando for o caso)
8	O órgão gestor de unidade de conservação estadual, distrital ou municipal poderá, a despeito da licença permanente e das autorizações concedidas pelo ICMBio, estabelecer outras condições para a realização de pesquisa nessas unidades de conservação.
9	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
10	O titular da licença permanente deverá apresentar, anualmente, relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias após o aniversário de emissão da licença permanente.
11	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
12	A licença permanente será válida enquanto durar o vínculo empregatício do pesquisador com a instituição científica a qual ele estava vinculado por ocasião da solicitação.
13	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico.
14	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação.

Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	CLASSE	Arachnida, Chilopoda, Insecta, Entognatha, Diplopoda
2		

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG	coleção

Este documento (Licença permanente para coleta de material zoológico) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 96946647





Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 25454-1	Data da Emissão: 24/02/2011 15:22
-----------------	-----------------------------------

Dados do titular

Nome: Marco Silva Gottschalk	CPF: 004.259.999-71
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG	CNPJ: 94.877.586/0001-10

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Licença permanente para coleta de material zoológico) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 96946647





**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº AD5BB09

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AD5BB09**
Usuário: **MARCO SILVA GOTTSCHALK**
CPF/CNPJ: **004.259.999-71**
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso:

Pesquisa Científica

Bioprospecção

Desenvolvimento Tecnológico

Espécie

Mycodrosophila projectans

Drosophila paraguayensis

Zygothrica bilineata

Drosophila ornatifrons

Drosophila griseolineata

Drosophila willistoni

Hirtodrosophila levigata

Zygothrica ptialialis

Hirtodrosophila subflavohalterata

Drosophila nappae

Hirtodrosophila morgani

Drosophila melanogaster

Mycodrosophila valentae

Zygothrica levifrons

Hirtodrosophila mendeli

Hirtodrosophila crioula

Drosophila cardini

Hirtodrosophila pleurostrigata

Título da Atividade:

**COLONIZAÇÃO E UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES RECURSOS TRÓFICOS
POR DROSOPHILIDAE (INSECTA, DIPTERA) EM ABORDAGENS DE REDE
DE INTERAÇÃO**

Equipe

MARCO SILVA GOTTSCHALK

Universidade Federal de Pelotas

Lucas Baptista Duarte

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Vera Lúcia da Silva Valente Gaiesky

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Data do Cadastro:

25/04/2024 10:38:18

Situação do Cadastro:

Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **10:39** de **25/04/2024**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - **SISGEN**



From visit to emergence: Interactions between mycophagous Drosophilidae (Insecta, Diptera) and macroscopic fungi (Basidiomycota) and their patterns in ecological networks

Lucas Batista Duarte¹ , Felipe Berti Valer² , Jeferson Vizontin-Bugoni³ ,
 Eduardo Bernardi⁴ , Vera Lúcia da Silva Valente⁵ , Marco Silva Gottschalk^{6*} 

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Porto Alegre, RS, Brasil.

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Departamento de Ciências BioMoleculares, São Paulo, SP, Brasil.

³ Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Capão do Leão, RS, Brasil.

⁴ Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Capão do Leão, RS, Brasil.

⁵ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Departamento de Genética, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁶ Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Laboratório de Evolução e Genética de Insetos, Capão do Leão, RS, Brasil.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 04 November 2023

Accepted 28 February 2024

Available online 12 April 2024

Associate Editor: Gustavo Gracioli

Keywords:

Ecological guild

Mycophily

Mushrooms

Resource utilization

Subtropical ecology

ABSTRACT

Ecological interactions are diverse, variable across space and time and not always well understood. The use of interaction network analysis has become a tool that promotes a deeper understanding on ecological and evolutionary processes. The interaction between insects and fungi is an interesting research model, helping to understand colonization dynamics and species specialization in spatially aggregated and ephemeral resources. Here, we describe the interactions between Drosophilidae species and the fungal basidiocarps in a subtropical forest in Brazil. Flies were collected when were visiting basidiocarps and then the basidiocarps themselves were also collected to obtain the emerging flies whose larvae fed on the fungi. We observed 31 species of drosophilids interacting with basidiocarps of 23 fungi species. An ecological network analysis was performed for the drosophilids breeding on basidiocarps and for those visiting them as adults. We found a specialized breeding network, with stronger interactions involving *Hirtodrosophila* and *Auricularia* and *Zygothrica bilineata* and a *Marasmius* species. Our results indicate the generalist habit of most *Zygothrica* species. The visitation network was highly specialized. Despite being well represented in the sampling, most *Zygothrica* species did not emerge from any fungal species. This study advances the knowledge on patterns of Drosophilid-fungi interactions and provides insights into their drivers.

Introduction

Ecological interactions are diverse and dynamically manifest in nature, engendering the biological diversity observed in the present day (Pereira et al., 2014). These interactions, which can be either intra- or interspecific, invariably exert an influence on fitness components of the involved organisms (Chamberlain et al., 2014). A paradigmatic example is the mutualism between plants and animals, which has garnered considerable attention due to its ecological significance in sustaining biological diversity and bolstering vegetation restoration. This is primarily because a myriad of animals are instrumental in pollination and seed dispersal (Bascompte and Jordano, 2007; Forup et al., 2008; Ibanez, 2012; Losapio et al., 2015). Consequently, the employment of

interaction networks to study such interactions has emerged as an invaluable tool, furnishing insights into ecological and evolutionary processes, life histories of organisms, and ecosystem functioning (Lewinsohn et al., 2006). Networks may be depicted as graphs, where species are represented by nodes or vertices, and interactions are represented by edges or links (Lewinsohn et al., 2006). Nonetheless, organisms take part in a broad array of relationships in the environment, and the intricacies of some of these interactions, such as insect-fungi, remain elusive.

Basidiomycota mushrooms, or basidiocarps, constitute a suitable model for examining ecological interactions owing to their amenability to sampling, spatial and temporal discreteness, and the diverse array of toxic chemicals exhibited by different taxa, which renders them as coveted hosts for insects (Hanski, 1989; Courtney et al., 1990).

*Corresponding author:

E-mail: gotts007@yahoo.com (M.S. Gottschalk).

Typically, host fungi have been perceived as trophic resources, with mycelia being foraged upon by both adult insects and larvae. Additionally, insects may promote the dispersal of fungal propagules such as spores, hyphae, or yeast cells, which is advantageous for the fungus (Tuno, 1999; Birkemoe et al., 2018).

From the insects' perspective, various studies have underscored the importance of ecological partitioning (Takahashi et al., 2005), specialization (Yamashita et al., 2015; Valer et al., 2016; Jacobsen et al., 2018; Lunde et al., 2023), intra- and interspecific competition (Grimaldi and Jaenike, 1984; Grimaldi, 1985), aggregation of adults and larvae, spatiotemporal dynamics (Takahashi et al., 2005), and tolerance to toxic compounds (Spicer and Jaenike, 1996; Stump et al., 2011). Concerning interactions between insects and fungi, networks have been observed to exhibit high specialization. For instance, Yamashita et al. (2015) discovered that the structure of Coleoptera-fungus quantitative interaction networks in a tropical forest in Borneo was specialized and markedly influenced by the dominant fungus *Ganoderma*.

Drosophilidae, a family of insects, exhibits a pronounced ecological affinity with basidiocarps. This association appears to be evolutionarily conserved in certain lineages, including some *Drosophila* and the *Zygothrica* species (Courtney et al., 1990; Gautério et al., 2020; Zhang et al., 2021). Mycophagy likely emerged independently several times throughout the evolution of Drosophilidae, as a derivative of detritivorous habits (Throckmorton 1975). In fact, mycophagy evolved independently in at least two lineages: within the subgenus *Drosophila*, where certain lineages predominantly breed in decaying fungi; and within the *Zygothrica* genus group, which specializes in fresh fungi (Zhang et al., 2021). Consequently, the relationship with fungi transcends merely insects utilizing them as a food source, as Drosophilidae also exploit fungi for oviposition, larval breeding, and as arenas for sexual courtship (Grimaldi, 1987).

In this context, the present study aims to describe the patterns of interactions between drosophilids and basidiocarps of macroscopic fungi in a forest community in southern Brazil. We built two ecologically distinct interaction networks – a *visitation network*, which included all drosophilid species flying over fungi and using it for multiple purposes, and an *emergence network* which included all drosophilids emerging from fungi tissues. To elucidate patterns of resource use and specialization, we specifically used null models to test whether these networks presented specialized, modular and/or nested structure. Courtney et al. (1990) observed in their review on mycophagous Drosophilidae ecology that interactions between fungi and flies showed a low degree of specialization, with insects emerging from mushrooms of various fungal taxa. They attributed this lack of specialization to the uniform nutritional conditions and to the unpredictable nature of the utilized mushrooms. Despite most studies being conducted in temperate Northern Hemisphere areas, where mycophagous Drosophilidae and fungal diversity are lower than in the Neotropical Region, we initially expected to observe a similar pattern. We also described individual species' specialization in order to identify key resources (fungi) and fungivores.

Material and methods

Study area

The study was carried out in a Restinga forest patch, namely, Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, which is a protected area encompassing approximately 23 hectares of forest (31°48'54"S; 52°25'48"W), situated in the municipality of Capão do Leão, Rio Grande do Sul, in southern Brazil. This forest patch is inserted in the Pampa Biome, in close proximity to the Atlantic coast, and is characterized by vegetation that is influenced by the Submontane Seasonal Semideciduous Forest (Waechter, 1985).

Climate is categorized as Mesothermal Mild Superhumid, with rainfall evenly distributed throughout the year. Climatological data from the Pelotas Agroclimatological Station (8.7 kilometers distant from the sampling site) for the interval spanning 1971 to 2000 indicate mean annual temperature of 17.8°C, with mean maximum and minimum temperatures of 28.2°C and 8.6°C, respectively. The annual precipitation sums 1,367 mm, distributed across approximately 120 days of rainfall. The annual mean relative air humidity averaged 80%, with frequent occurrences of fog. The study site is surrounded by croplands, swamps, and naturally dry or seasonally flooded grasslands.

Sampling

Surveys for basidiocarps, which were associated with soil, plant roots, leaf litter, or decaying wood, were conducted along a 200-m transect within the forest patch, extending up to 10 meters on either side. Sampling was undertaken between 9:00 a.m. and 12:00 p.m. on a monthly basis from February to May 2011 and in February, April, and June 2013. This period is the most suitable for fungi reproduction in the area which are, therefore, more locally abundant and conspicuous (personal observation). Each sampling session spanned approximately three hours, summing up 21 hours of sampling effort throughout the study period. For each basidiocarp detected, we collected insects observed flying over or landed on its surface using entomological nets or aspirators, and subsequently preserved in 70% GL ethanol. Each basidiocarp was carefully cut off using a penknife, photographed for identification purposes, and transported to the laboratory into plastic bags. In laboratory, the basidiocarps were weighed using a precision scale before placed into glass containers containing autoclaved sand which was sealed with fabric. All basidiocarps belonging to the same species and originated from the same location were designated as a single sampling unit and placed into the same container. The basidiocarps were stored in a chamber and maintained at a temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$ for 4 to 5 weeks. During this period, the emergence of insects was monitored at intervals of 1 to 2 days. Emerging insects were aspirated and preserved in 70% ethanol. To prevent dehydration of the basidiocarps within the climatized chamber, water was periodically sprayed into the containers. All emerging insects were collected but in the present study we focused on Drosophilidae individuals.

Identification of biological material

All drosophilids collected were identified based on external morphology and analysis of male genitalia, and entailed comparison with taxonomic descriptions available in specialized literature (Burla, 1956; Grimaldi, 1987, 1990, 2018; Vilela and Bächli, 2004, 2007; Junges et al., 2019). Female drosophilids were identified solely through external morphological analysis. For cryptic species (i.e., those which females cannot be identified by external morphology), female individuals present in a sample were assigned to species following the proportion of males of each species within the sample, assuming a 1:1 sex ratio.

The preparation of male genitalia followed methods by Wheeler and Kambyssellis (1966), with modifications by Kaneshiro (1969). The taxonomic identification followed classifications proposed by Frota-Pessoa (1945), Burla (1956), Wheeler and Takada (1971), Grimaldi (1987, 1990, 2018), Vilela and Bächli (2004, 2007), and Junges et al. (2016, 2019).

Identification of fungi species was based on photographs of fresh basidiocarps taken in the field and consulting specialized literature (Lincoff, 1981, 2010; Putzke and Putzke, 1998; Polese, 2005; Laessoe and Lincoff, 2010). We included only fungal samples that were not in an advanced stage of decomposition, making them amenable to identification, and avoided including saprophagous Drosophilidae species.

Data analysis

To describe interaction networks, we constructed two quantitative interaction matrices. In these matrices, each row represents a species of drosophilid denoted by i , and each column represents a species of fungus denoted by j . The intersection of a cell a_{ij} in the matrix denotes the intensity of interactions between the drosophilid species i and the fungus species j . To calculate interaction intensity, we multiplied the number of drosophilids associated with each fungal species (the absolute abundance of each drosophilid species i in fungus j , n_{ij}) by the number of observations of this fly species associated with the fungus species relative to the total number of observations of the fungus species (its relative frequency, f_{ij}). To address potential overestimation of interactions due to differences in fungi availability or reproductive strategies among drosophilid species, and to minimize the influence of outliers, we standardized the interactions. This standardization involved dividing the product of n_{ij} and f_{ij} by the mass (m) of the fungi sampled in grams. To avoid fractional numbers, we multiply this value by 100. The final equation to calculate the interaction intensity is $(n_{ij} * f_{ij} * 100) / m$. This ensured that interaction intensity accounted for the varying reproductive behaviors of drosophilid species and reduced the impact of outliers.

Biological interactions were categorized into:

- [1] **Visitation** - This category comprises individuals observed flying over or landed on basidiocarps at the time of collection, which we refer hereafter as 'visits'. Drosophilid species were classified into those that [a] oviposit on fungi (as evidenced by emergence from collected basidiocarps; see below), and [b] do not oviposit, as they were not observed to emerge from the basidiocarps, implying alternative use of the fungi not related to breeding, such as foraging, courtship, or mating sites.
- [2] **Emergence** - This category encompasses interactions wherein basidiocarps are recognized by female drosophilids as suitable substrates for oviposition, and where the larval stages complete their development within the basidiocarps, consuming either the fungus or associated organisms such as bacteria or yeasts.

Quantitative network analysis was executed utilizing R Program version 4.1.3 (R Core Team, 2023), with packages *bipartite* version 2.16 (Dormann et al., 2008, 2009; Dormann, 2011). We used *ggplot2* package version 3.3.5 (Wickham, 2016) for graphical representation.

For each network we calculated: *connectance*, defined as the ratio of observed links to the total possible links given the set of observed species; *Complementary specialization* using the $H2'$ metric, which quantifies the divergence of observed interactions from expected interactions under the

assumption that resource use follows their availability, where availability is given by the matrix marginal totals. Specialization values span the range of 0 (lowest specialization possible) to 1 (highest specialization possible). *Nestedness*, which was quantified with the WNODF metric which estimate the non-overlap and decreasing fill of quantitative matrices (Almeida-Neto and Ulrich, 2011). Nestedness occurs when the less connected species (specialists) interact with subsets of the resources used by the most connected species (generalists). WNODF varies from 0 to 100 (maximum nestedness possible). *Modularity* was quantified using the metric Q and the optimization algorithm DIRTLPAwb+ (Beckett, 2016). A modular network occurs when subsets of species interact more among themselves than with other species in the network, forming modules. Modularity range from 0 to 1 (maximum modularity possible). We used the *r2dtable* null model to assess the statistical significance of specialization, nestedness and modularity. This null model reshuffles interactions keeping dimensions (number of species in each trophic level) and marginal total as the observed matrix. We generated 1000 random matrices, calculated each of these three metrics for each of them and then calculate the 95% confidence interval. We considered a network structure to be statistically significant when the observed values felt above the 95% confidence interval generated with the null model. We used a second (more conservative) null model, *vaznull* which also constrain network connectance. Results were qualitatively similar to the ones obtained with *r2dtable* indicating that the network structure detected is robust to null model choice.

We also calculated species-level specialization: d' index, derived from the *Kullback-Leibler* distance reflects the deviation of a species from a random distribution of available interaction partners. Similar to $H2'$, d' values also range from 0 (most generalist possible) to 1 (perfect specialist).

To estimate the sufficiency of our sampling in detecting all links (a link is a pair of consumer and resource species), we created individual-based rarefaction curves following Vizentin-Bugoni et al. (2016) using the *iNEXT* version 2.0.20 (Chao et al., 2014; Hsieh et al., 2016).

Results

We obtained a total of 149 fungal samples, out of which 118 were identifiable. Among the identifiable samples, 57 exhibited had emergence of Drosophilidae. We recognized 45 species of fungi, with 23 of them having emergence of Drosophilidae (Table 1). Additionally, our samples included 31 drosophilid species from the genera *Drosophila*, *Hirtodrosophila*, *Leucophenga*, *Mycodrosophila*, and *Zygothrica*. Out of these, 26 species comprising 3,797 individuals, emerged from 57 fungal samples, while 16 species, consisting of 277 individuals, were collected visiting 25 basidiocarp samples in the field (Fig. 1, Table S1 - Supplementary Material).

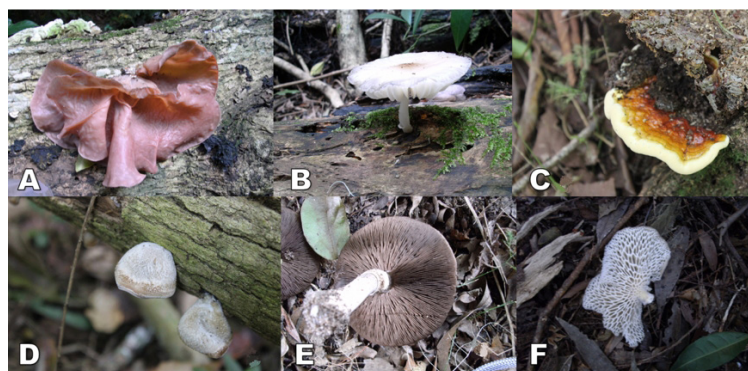


Figure 1 Images of some basidiocarps of fungi sampled. A) *Auricularia auricula-judae*. B) *Marasmius* sp. C) *Ganoderma* sp. D) *Auricularia polytricha*. E) *Agaricus* sp.4. F) *Polyporus* sp.1.

Table 1

Fungal species, number of samples collected and number of samples colonized by drosophilids in seven samplings carried out in restinga forest in southern Brazil in the years 2011 and 2013.

Species of fungi	Samples	
	Total collected	Colonized
<i>Agaricus</i> sp.	6	1
<i>Agaricus</i> sp.1	2	0
<i>Agaricus</i> sp.2	1	1
<i>Agaricus</i> sp.3	1	0
<i>Agaricus</i> sp.4	5	5
<i>Agaricus</i> sp.5	1	0
<i>Agaricus</i> sp.6	3	2
<i>Agaricus</i> sp.7	1	1
<i>Auricula mesenterica</i>	1	0
<i>Auricularia auricula-judae</i>	12	11
<i>Auricularia polytricha</i>	6	4
<i>Cantharellus</i> sp.	2	0
<i>Clitocybe</i> sp.	1	0
<i>Coprinus</i> sp.	1	0
<i>Cortinarius</i> sp.	1	0
<i>Ganoderma lucidum</i>	1	0
<i>Ganoderma</i> sp.2	1	1
<i>Geastrum</i> sp.1	1	0
<i>Geastrum</i> sp.2	1	0
<i>Geastrum</i> sp.3	1	1
<i>Lepiota</i> sp.	4	2
<i>Lepiota</i> sp.1	7	3
<i>Lepiota</i> sp.2	2	0
<i>Lepiota</i> sp.3	1	0
<i>Marasmius</i> sp.	3	2
<i>Marasmius</i> sp.2	4	2
<i>Marasmius</i> sp.3	2	0
<i>Marasmius</i> sp.4	2	1
<i>Marasmius</i> sp.5	2	1
<i>Marasmius</i> sp.6	2	0
<i>Marasmius</i> sp.7	7	4
<i>Marasmius</i> sp.8	2	1
<i>Marasmius</i> sp.9	3	0
<i>Marasmius</i> sp.10	1	0
<i>Marasmius</i> sp.11	1	0
<i>Melanoleuca</i> sp.	1	1
<i>Panus</i> sp.	1	0
<i>Pleurotus</i> sp.	1	0
<i>Pleurotus</i> sp.1	1	0
<i>Pleurotus</i> sp.2	2	2
<i>Polyporus</i> sp.1	8	7
<i>Pycnoporus</i> sp.1	2	1
<i>Trametes</i> sp.	3	0
<i>Trametes</i> sp.2	1	1
<i>Tricholoma</i> sp.	6	2
Number of samples	118	57

In the emergence network reflecting fungi used as breeding sites (Fig. 2), strong interactions were observed between *Hirtodrosophila crioula* Junges, Robe and Gottschalk, 2019 and *Auricularia auricula-judae* (Bull.) J. Schröt., as well as between *Zygothrica bilineata* (Williston, 1896) and *Marasmius* sp.7 and *Lepiota* sp. When considering species-level specialization, *Z. bilineata* ($d' = 0.90$) and *A. auricula-judae* ($d' = 0.90$) were the most specialized species of Drosophilidae and Basidiomycota, respectively (Table 2). Furthermore, the emergence network had low connectance (0.14), and a high complementary specialization ($H2' = 0.72$).

Table 2

Species-level specialization values (d') for drosophilid species and fungi emergence network in southern Brazil

Drosophilidae		Basidiomycota	
<i>Z. bilineata</i>	0.90	<i>A. auricula-judae</i>	0.90
<i>H. crioula</i>	0.81	<i>Marasmius</i> sp.4	0.88
<i>D. griseolineata</i>	0.81	<i>A. polytricha</i>	0.82
<i>D. ornatifrons</i>	0.81	<i>Agaricus</i> sp.7	0.77
<i>Leucophenga</i> sp.2	0.75	<i>Agaricus</i> sp.2	0.69
<i>H. levigata</i>	0.69	<i>Trametes</i> sp.2	0.70
<i>Leucophenga</i> sp.4	0.68	<i>Lepiota</i> sp.	0.65
<i>D. willistoni</i>	0.67	<i>Ganoderma</i> sp.2	0.64
<i>M. projectans</i>	0.66	<i>Pycnoporus</i> sp.1	0.63
<i>D. paraguayensis</i>	0.66	<i>Agaricus</i> sp.	0.61
<i>H. subflavohalterata</i> aff.2	0.64	<i>Agaricus</i> sp.4	0.61
<i>H. mendeli</i>	0.64	<i>Marasmius</i> sp.7	0.60
<i>H. subflavohalterata</i> aff.1	0.61	<i>Marasmius</i> sp.2	0.60
<i>Drosophila</i> sp.Z2	0.54	<i>Melanoleuca</i> sp.	0.59
<i>Leucophenga</i> sp.3	0.53	<i>Geastrum</i> sp.3	0.57
<i>L. maculosa</i> cf.	0.52	<i>Marasmius</i> sp.	0.51
<i>Z. ptialis</i>	0.51	<i>Agaricus</i> sp.6	0.48
<i>Leucophenga</i> sp.5	0.51	<i>Marasmius</i> sp.5	0.48
<i>H. morgani</i>	0.49	<i>Lepiota</i> sp.1	0.36
<i>H. subflavohalterata</i>	0.47	<i>Polyporus</i> sp.1	0.30
<i>D. nappae</i>	0.41	<i>Tricholoma</i> sp.	0.29
<i>Leucophenga</i> sp.1	0.40	<i>Marasmius</i> sp.8	0.22
<i>H. pleurostrigata</i>	0.36	<i>Pleurotus</i> sp.2	0.21
<i>D. melanogaster</i>	0.26		
<i>Hirtodrosophila</i> sp.2	0.06		
<i>Hirtodrosophila</i> sp.1	0.06		

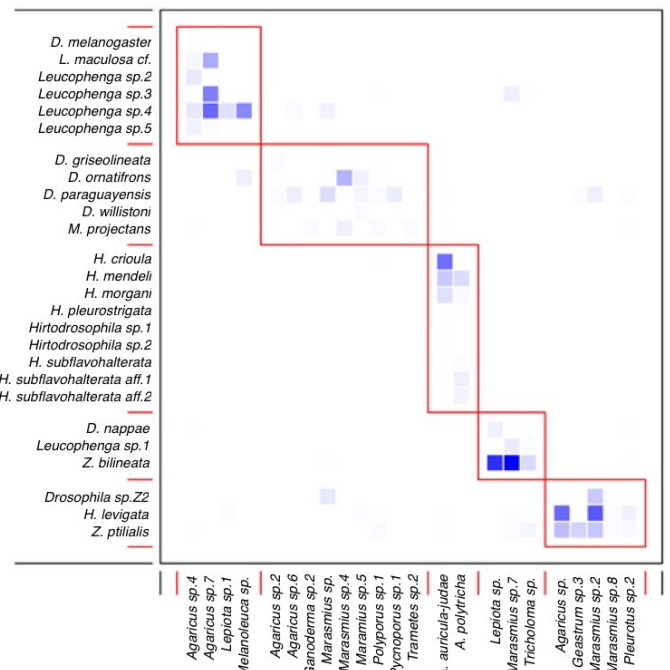


Figure 2 Interaction network between fungal and drosophilid species generated from emergence data in southern Brazil, showing each module (red rectangles). Shades of blue indicate interaction intensity.

Table 3

Metrics calculated to describe the structure of the visitation and emergence drosophilid-fungi interaction networks in a *restinga* forest community in Brazil. In parenthesis are shown 95% confidence intervals of the metrics generated by both null models used. Bold indicates metrics whose observed value falls above the null model expectation and, therefore, are considered statistically significant.

Network type	Connectance	Specialization (H_2')	Nestedness (WNODF)	Modularity (Q)	Number of modules	Null model
Visitation	0.19	0.65 (0.12 - 0.22)	18.99 (23.81 - 42.50) ^{ns}	0.58 (0.18 - 0.27)	5	r2dtable
Emergence	0.14	0.74 (0.02 - 0.03)	10.92 (66.75 - 75.02) ^{ns}	0.72 (0.05 - 0.07)	5	r2dtable
Visitation	0.19	0.65 (0.30 - 0.63)	18.99 (11.80 - 27.52) ^{ns}	0.58 (0.25 - 0.51)	5	vaznull
Emergence	0.14	0.74 (0.20 - 0.33)	10.92 (27.27 - 37.36) ^{ns}	0.72 (0.16 - 0.27)	5	vaznull

Table 4

Species-level specialization values (d') for drosophilid species and fungi visitation network in southern Brazil.

Drosophilidae		Basidiomycete	
<i>D. paraguayensis</i>	1.00	<i>Marasmius</i> sp.	1.00
<i>Drosophila</i> sp. Z2	0.73	<i>Marasmius</i> sp.2	0.88
<i>Z. bilineata</i>	0.63	<i>A. auricula-judae</i>	0.50
<i>Z. ptitialis</i>	0.46	<i>Marasmius</i> sp. 7	0.49
<i>Z. Z002</i>	0.44	<i>Marasmius</i> sp.5	0.48
<i>D. nappae</i>	0.42	<i>Tricholoma</i> sp.	0.40
<i>D. willistoni</i>	0.42	<i>Polyporus</i> sp.1	0.36
<i>H. levigata</i>	0.39	<i>Agaricus</i> sp.	0.23
<i>H. crioula</i>	0.33	<i>Pleurotus</i> sp.2	0.00
<i>H. mendeli</i>	0.32		
<i>Z. dispar</i>	0.28		
<i>Z. prodispar</i>	0.28		
<i>H. morgani</i>	0.26		
<i>Z. orbitalis</i>	0.04		
<i>H. subflavohalterata</i> aff.1	0.04		
<i>Z. vittimaculosa</i>	0.04		

Network structure was not nested (WNODF= 10.92) but was modular (Q=0.72), presenting five modules (Table 3; Fig. 2). The third module (Fig. 1) includes a strong interaction between *A. auricula-judae* and *A. polytricha* (Mont.) Sacc. and *Hirtodrosophila* species, with the interaction between *H. crioula* and *A. auricula-judae* being the strongest within this module.

The first module (Fig. 1) featured a somewhat strong interaction between the fungus *Agaricus* sp.7 and two undescribed species of the *Leucophenga* genus. The other members of module, which included fungi from the *Lepiota* and *Melanoleuca* genera as well as flies from the *Drosophila* genus, engaged in weaker interactions.

In the visitation network, eleven Drosophilidae species interacted exclusively with a single fungus species; however, species specialization values (d') were generally low, with the notable exception of *D. paraguayensis* Duda, 1927 and *Marasmius* sp. (Table 4). Notably, nine species were collected in association with *A. auricula-judae*, five of which exclusively interacted with this fungus.

Additionally, *Zygothrica dispar* Wiedemann, 1830 and *Z. prodispar* Duda, 1925 were observed exclusively visiting *Marasmius* sp.7. On the other hand, the genus *Drosophila* exhibited only exclusive interactions: *D. nappae* Vilela, Valente and Basso-da-Silva, 2004 and *D. willistoni* Sturtevant, 1916 interacted with *Polyporus* sp.1, *Drosophila* sp.Z2 exclusively with *Marasmius* sp.2, and *D. paraguayensis* with *Marasmius* sp. This latter interaction was the most specialized within this network.

Among the species observed visiting the basidiocarps, *Z. dispar*, *Z. prodispar*, *Z. orbitalis* Sturtevant, 1916, *Z. vittimaculosa* Burla, 1956,

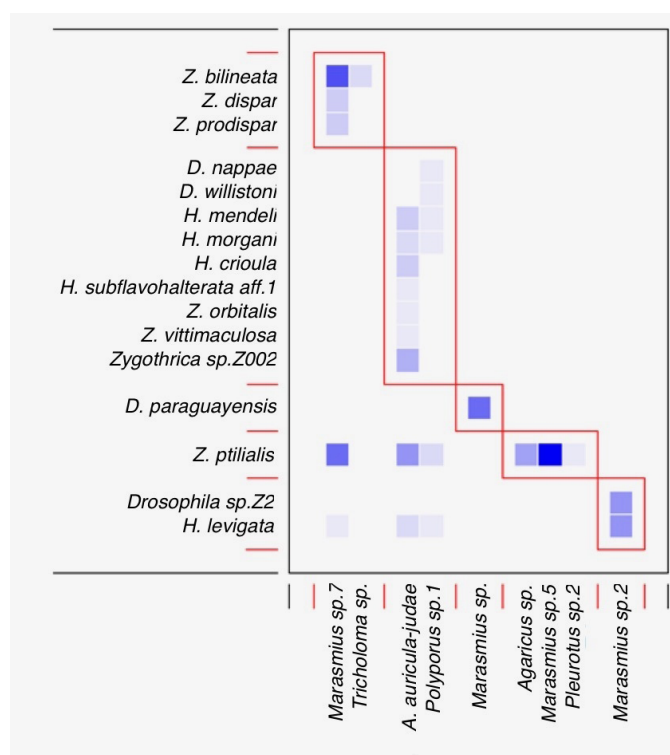


Figure 3 Interactions network between fungal and drosophilid species generated from visitation data in southern Brazil, showing each module (red rectangles). Shades of blue indicate interaction intensity.

Z. ptitialis, and *Zygothrica* Z002 were not recorded emerging from any fungal species. Notably, all interactions of these species were exclusively with a single fungus species.

The visitation network showed low connectance (0.19) and high specialization ($H_2' = 0.65$). It was also not nested ($NODF = 18.99$) but it was modular (Q=0.58), having five modules (Fig. 3; Table 3). The strongest interactions occur in the fourth module between *Z. ptitialis* and *Marasmius* sp.5 and in first module between *Z. bilineata* and the fungus *Marasmius* sp.7, repeating the configuration seen in emergence modularity. Differently of the emergence network, *Z. bilineata* interacts weakly with *Tricholoma* sp., represented in the first module. The composition of modules in the visitation network was totally different from that obtained in the emergence network, with the exception of the interaction between *Z. bilineata* and *Marasmius* sp.7, which stands out in both. Analysis of sampling sufficiency indicates that most links (pairwise interactions) in the community were recorded for both interaction types as indicated by the asymptotic trend of the rarefaction curves (Fig. 4).

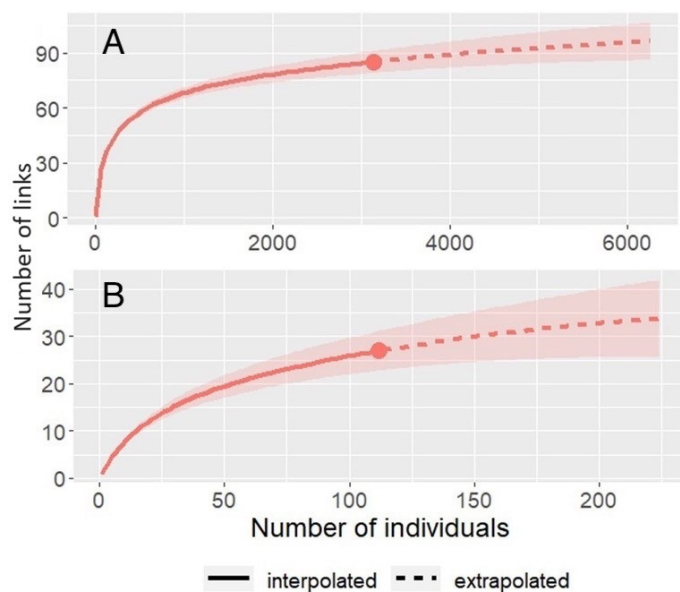


Figure 4 Individual-based rarefaction curves estimating sampling sufficiency of interactions (i.e., links between fungal and drosophilid species). A) Data on the emergence of flies (breeding sites). B) Visitation data of basidiocarps by flies.

Discussion

Drosophilidae family evolved and specialized in utilizing a variety of resources, including fruits (Atkinson and Shorrocks, 1977), flowers (Schmitz and Valente, 2019; Cordeiro et al., 2020), cacti (Manfrin and Sene, 2006), and even bat guano (Tosi et al., 1990). Among these, fungi are noteworthy resources due to their often high concentration of toxic chemicals (Courtney et al., 1990). Moreover, Hanski (1989) and Birkemoe et al. (2018) highlight that, with a few well-known exceptions of insects specializing on hard fungi (such as certain species of beetles specializing in polypore fungi), the level of specialization between fungi and insects is generally lower compared to that between plants and insects. However, our results indicate a high degree of specialization in interactions between drosophilids and fungi, consistent with the findings of Pöldmaa et al. (2016) for fungus and gnat flies. Additionally, the modular and specialized network demonstrated for beetles associated with wood-decomposing fungi (Jacobsen et al., 2018) further supports this notion. It seems that not only the hardness of fungi (associated with greater persistence and predictability) may be linked to insect species specialization, but also other, yet unknown, factors.

Our study identified a large diversity of basidiomycete fungi, totaling 45 species, 23 of which showed some type of interaction with drosophilids at different developmental stages. We observed 26 fly species emerging from basidiocarps, indicating a close relationship between them and fungi, as all phases of the flies' development interact directly with fungi. Despite the wide array of available resources for colonization, we observed an almost exclusive interaction between *H. crioula* and the gelatinous fungus *A. auricula-judae*. However, the specialization value for the species (d') does not indicate maximal specialization ($d' = 0.30$), suggesting that network specialization was not determined by *H. crioula*'s strong interaction for *A. auricula-judae*. Similarly, other observed *Hirtodrosophila* species demonstrated higher occurrences with fungi of the *Auricularia* genus (*A. auricula-judae* and *A. polytricha*), as previously described in other studies (Valer et al., 2016; Grimaldi, 2018; Junges et al., 2019). The exception was *H. levigata* (Burla, 1956), which was the only species in the genus that showed no preference.

The strong interaction of *Hirtodrosophila* for *Auricularia*, coupled with *Z. bilineata*'s interaction with *Marasmius* sp.7, determined the specialization of the network, as the most frequent relationships involved these particular species. This is further emphasized by the network modularity, where the strongest interactions are observed between these species. However, the nature of ecological interactions changes significantly when considering only the visitation of fungi by drosophilids, as there are many singular interactions involving these insects. Since basidiocarps serve to various functions for drosophilids (such as feeding, oviposition, and courtship sites) (Courtney et al., 1990), our study found that not all species visiting fungi subsequently emerged from them; this is particularly evident in the *Zygothrica* genus. Of these, only *Z. ptilialis* and *Z. bilineata* emerged from the basidiocarps of the collected fungi. Being the more generalist species in the genus, they interact with six and two fungal species respectively, suggesting a preference for different substrates. However, they appear more selective regarding oviposition sites, indicating the need for specific characteristics for this process. Conversely, the other *Zygothrica* species that did not emerge demonstrated specialist relationships in our study, being observed with only one fungal species. This observation could be attributed to the challenges in standardizing adult collections. We only collected organisms that were visiting the fungi at the precise moment of sampling. Therefore, we might have missed those that had visited earlier or would visit later. Consequently, there is a temporal gap between the actual interactions and the moment of sampling, which may suggest that at the time of our collection, the species were using the basidiocarps for courtship, as documented by Grimaldi (1987), and would only lay eggs at a later stage, a detail that was not captured in our data.

Among the various resources available, *Hirtodrosophila*'s preference for *Auricularia* is notable. The *Auricularia* genus is characterized by ear-shaped gelatinous basidiocarps, which are rich in polysaccharides (Miao et al., 2020). Generally, the consistency of a fungus is linked to its persistence in the environment. Less consistent basidiocarps tend to be more ephemeral and, consequently, available for colonization for a shorter period (Jonsell and Nordlander, 2004; Graf et al., 2018). Moreover, the colonization of less consistent fungi may be associated with the larval development time. For instance, dipterans, which have a short development period, are predominant in such fungi (Hanski, 1989). The colonization of *Auricularia* by drosophilids has also been documented in several recent studies (Gottschalk et al., 2009; Valer et al., 2016; Junges et al., 2019; Santa-Brígida et al., 2019).

Our study observed that *D. paraguayensis* exhibited high specialization in the visiting network as it was only associated with *Marasmius* sp.. Interestingly, when examining the breeding sites, *D. paraguayensis* is deemed generalist, as it emerged from ten different species of fungi. Although it is associated with fungi (being part of the *immigrans-tripunctata* radiation), it can also be commonly found in trap samples with banana baits in the same locality (Mendes et al., 2017). This contrasts with species of the genus *Hirtodrosophila*, which are exclusively mycophagous and rely on fungi for both nourishment and reproduction (Courtney et al., 1990). *Hirtodrosophila*'s specialization was evident through the substantial sampling of *A. auricula-judae* in our study. In this regard, mycophily implies a high degree of specialization for organisms that have evolved and adapted to utilize this resource, considering that basidiocarps are transient structures reliant on specific environmental conditions, such as light, temperature, and nutrients (Sakamoto, 2018). Due to these specific traits, collecting adults visiting basidiocarps is less effective and challenging in representing the entire community, as suggested by our rarefaction curves.

Nonetheless, our findings contribute to the existing knowledge regarding mycophily in Drosophilidae by describing the interaction network structures, which had not been previously explored for this group.

Our study also observed the specialization of the network of drosophilids emerging from basidiocarps. However, expanding this information to visitation interactions remains challenging due to a methodological bias in adult collection, with gelatinous fungi being preferred by species of the genus *Hirtodrosophila*.

Acknowledgments

We extend our gratitude to the two anonymous reviewers for their constructive comments, which significantly improved the quality of this manuscript.

Funding

This work was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brazil (CAPES) (Finance Code 001) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq - Brazil) (grants numbers 426685/2018-0 and 309186/2022-6).

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Author contribution statement

LBD, FBV and MSG Conceptualization; Data Curation. FBV and MSG Methodology; Insect identification. JVB Formal Analysis. EB Fungus identification. LBD, MSG and VLV Writing – Original Draft Preparation. VLV and MSG Funding acquisition. LBD, FBV, MSG, JVB, EB and VLV Writing – Review & Editing.

References

- Almeida-Neto, M., Ulrich, W., 2011. A straightforward computational approach for measuring nestedness using quantitative matrices. *Environ. Model. Softw.* 26 (2), 173–178. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envsoft.2010.08.003>.
- Atkinson, W., Shorrocks, B., 1977. Breeding site specificity in the domestic species of *Drosophila*. *Oecologia* 29 (3), 223–232. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00345697>.
- Bascompte, J., Jordano, P., 2007. Plant-animal mutualistic network: the architecture of biodiversity. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 38 (1), 567–593. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095818>.
- Beckett, S. J., 2016. Improved community detection in weighted bipartite networks. *R. Soc. Open Sci.* 3 (1), 140536. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.140536>.
- Birkemoe, T., Jacobsen, R. M., Sverdrup-Thygesen, A., Biedermann, P. H. W., 2018. Insect-fungus interactions in dead wood systems. In: Ulyshen, M. (Ed.), *Saproxylous Insects*. Springer, Cham, pp. 377–427. (*Zoological Monographs*, 1). http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-75937-1_12.
- Burla, H., 1956. Die Drosophiliden-Gattung *Zygothrica* und ihre Beziehung zur *Drosophila*-Untergattung *Hirtodrosophila* mit Beschreibung von 45 neuen Arten (Diptera acalyptata). *Mitt. Zool. Mus. Berl.* 32, 189–321.
- Chamberlain, S. A., Bronstein, J. L., Rudgers, J. A., 2014. How context dependent are species interactions? *Ecol. Lett.* 17 (7), 881–890. <http://dx.doi.org/10.1111/ele.12279>.
- Chao, A., Gotelli, N. J., Hsieh, T. C., Sander, E. L., Ma, K. H., Colwell, R. K., Ellison, A. M., 2014. Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecol. Monogr.* 84 (1), 45–67. <http://dx.doi.org/10.1890/13-0133.1>.
- Cordeiro, J., Oliveira, J. H., Schmitz, H. J., Vizentin-Bugoni, J., 2020. High niche partitioning promotes highly specialized, modular and non-nested florivore-plant networks across spatial scales and reveals drivers of specialization. *Oikos* 129 (5), 619–629. <http://dx.doi.org/10.1111/oik.06866>.
- Courtney, S. P., Kibota, T. T., Singleton, T. A., 1990. Ecology of mushroom-feeding Drosophilidae. In: Begon, B., Fitter, A.H., MacFadyen, A. (Eds.), *Advances in Ecological Research*. Academic Press, London, pp. 225–274. [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60056-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60056-2).
- Dormann, C. F., 2011. How to be a specialist? Quantifying specialisation in pollination networks. *New Biol.* 1, 1–20.
- Dormann, C. F., Fründ, J., Blüthgen, N., Gruber, B., 2009. Indices, graphs and null models: analyzing bipartite ecological networks. *Open Ecol. J.* 2 (1), 7–24. <http://dx.doi.org/10.2174/1874213000902010007>.
- Dormann, C. F., Gruber, B., Fründ, J., 2008. Introducing the bipartite Package: analysing Ecological Networks. *R News* 8, 8–11. Available in: <https://journal.r-project.org/articles/RN-2008-010/> (accessed 24 August 2023).
- Forup, M. L., Henson, K. S. E., Craze, P. G., Memmott, J., 2008. The restoration of ecological interactions: plant-pollinator networks on ancient and restored heathlands. *J. Appl. Ecol.* 45 (3), 742–752. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2664.2007.01390.x>.
- Frota-Pessoa, O., 1945. Sobre o subgênero *Hirtodrosophila*, com descrição de uma nova espécie (Diptera, Drosophilidae, Drosophila). *Rev. Bras. Entomol.* 5, 469–483.
- Gautério, T. B., Machado, S., Loreto, E. L. da S., Gottschalk, M. S., Robe, L. J., 2020. Phylogenetic relationships between fungus-associated Neotropical species of the genera *Hirtodrosophila*, *Mycodrosophila* and *Zygothrica* (Diptera, Drosophilidae), with insights into the evolution of breeding sites usage. *Mol. Phylogenet. Evol.* 145, 106733. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106733>.
- Gottschalk, M. S., Bizzo, L. E. M., Döge, J. S., Profes, M. S., Hofmann, P. R. P., Valente, V. L. S., 2009. Drosophilidae (Diptera) associated to fungi: differential use of resources in anthropic and Atlantic Rain Forest areas. *Iheringia Ser. Zool.* 99 (4), 442–448. <http://dx.doi.org/10.1590/S0073-47212009000400016>.
- Graf, L. V., Barbieri, F., Sperb, E., Rivaldo, D. S., Moura, L. A., Silveira, R. M. B., Reck, M. A., Nogueira-de-Sá, F., 2018. Factors affecting the structure of Coleoptera assemblages on bracket fungi (Basidiomycota) in a Brazilian forest. *Biotropica* 50, 357–365. <http://dx.doi.org/10.1111/btp.12520>.
- Grimaldi, D. A., 1985. Niche separation and competitive coexistence in mycophagous *Drosophila* (Diptera: drosophilidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 87, 498–511. Available in: <https://biostor.org/reference/55103> (accessed 24 August 2023).
- Grimaldi, D. A., 1987. Phylogenetics and taxonomy of *Zygothrica* (Diptera: drosophilidae). *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 186, 103–268. Available in: <http://hdl.handle.net/2246/913> (accessed 24 August 2023).
- Grimaldi, D. A., 1990. Revision of *Zygothrica* (Diptera, Drosophilidae). Part 2, The first African species, two new Indo-Pacific groups, and the *bilineata* and *samoensis* species groups. *Am. Mus. Novit.* 2964, 1–31. Available in: <http://hdl.handle.net/2246/5120> (accessed 24 August 2023).
- Grimaldi, D. A., 2018. *Hirtodrosophila* of North America (Diptera: drosophilidae). *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 421 (421), 1–75. <http://dx.doi.org/10.1206/0003-0090-421.1.1>.
- Grimaldi, D. A., Jaenike, J., 1984. Competition in natural populations of mycophagous *Drosophila*. *Ecology* 65 (4), 1113–1120. <http://dx.doi.org/10.2307/1938319>.

- Hanski, I., 1989. *Fungivory: fungi, insects and ecology*. In: Wilding, N., Collins, N.M., Hammond, P.M., Webber, J.F. (Eds.), *Insect-Fungus Interactions*. Vol. 14 Academic Press, London, pp. 24–68. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-751800-8.50008-2>.
- Hsieh, T. C., Ma, K. H., Chao, A., 2016. iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods Ecol. Evol.* 7 (12), 1451–1456. <http://dx.doi.org/10.1111/2041-210X.12613>.
- Ibanez, S., 2012. Optimizing size thresholds in a plant-pollinator interaction web: towards a mechanistic understanding of ecological networks. *Oecologia* 170(1), 233–242. <http://dx.doi.org/10.1007/s00442-012-2290-3>.
- Jacobsen, R. M., Sverdrup-Thygeson, A., Kausrud, H., Birkemoe, T., 2018. Revealing hidden insect-fungus interactions; moderately specialized, modular and anti-nested detritivore networks. *P. Roy. Soc. B. Biol. Sci.* 285 (1876), 20172833. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.2833>.
- Jonsell, M., Nordlander, G., 2004. Host selection patterns in insect breeding in bracket fungi. *Ecol. Entomol.* 29 (6), 697–705. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0307-6946.2004.00654.x>.
- Junges, J., Gottschalk, M. S., Loreto, E. L. S., Robe, L. J., 2016. Two new species of *Mycodrosophila* (Diptera, Drosophilidae) proposed by molecular and morphological approaches, with a key to American species. *Rev. Bras. Entomol.* 60 (1), 30–39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbe.2015.11.008>.
- Junges, J., Robe, L. J., Gottschalk, M. S., 2019. Four new Neotropical species in the *Hirtodrosophila hirticornis* species group (Diptera: drosophilidae). *Zootaxa* 4567 (2), 276–292. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4567.2.4>.
- Kaneshiro, K. Y., 1969. A Study of the relationships of hawaiian *Drosophila* species based on external male genitalia. *Univ. Tex. Publ.* 6918, 55–70.
- Laesoe, T., Lincoff, G., 2010. *Mushrooms: the Clearest Recognition Guide*. Available. Dorling Kindersley, London.
- Lewinsohn, T. M., Loyola, R. D., Prado, P. I., 2006. Matrizes, redes e ordenações: A detecção de estrutura em comunidades interativas. *Oecol. Bras.* 10 (1), 90–104. <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2006.1001.06>.
- Lincoff, G., 1981. *Simon and Schuster's Guide to Mushrooms*. A Fireside Book, New York.
- Lincoff, G., 2010. *The Complete Mushroom Hunter: an Illustrated Guide to Finding, Harvesting and Enjoying Wild Mushrooms*. Quarry Books, Beverly.
- Losapio, G., Jordán, F., Caccianiga, M., Gobbi, M., 2015. Structure-dynamic relationship of plant-insect networks along a primary succession gradient on a glacier foreland. *Ecol. Modell.* 314, 73–79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2015.07.014>.
- Lunde, L. F., Boddy, L., Sverdrup-Thygeson, A., Jacobsen, R. M., Kausrud, H., Birkemoe, T., 2023. Beetles provide directed dispersal of viable spores of a keystone wood decay fungus. *Fungal Ecol.* 63, 101232. <http://dx.doi.org/10.1016/j.funeco.2023.101232>.
- Manfrin, M. H., Sene, F. M., 2006. Cactophilic *Drosophila* in South America: A Model for Evolutionary Studies. *Genetica* 126 (1–2), 57–75. <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-005-1432-5>.
- Mendes, M. F., Valer, F. B., Vieira, J. G. A., Blauth, M. L., Gottschalk, M. S., 2017. Diversity of Drosophilidae (Insecta, Diptera) in the Restinga forest of southern Brazil. *Rev. Bras. Entomol.* 61 (3), 248–256. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbe.2017.05.002>.
- Miao, J., Regenstein, J. M., Qiu, J., Zhang, J., Zhang, X., Li, H., Zhang, H., Wang, Z., 2020. Isolation, structural characterization and bioactivities of polysaccharides and its derivatives from *Auricularia*: a review. *Int. J. Biol. Macromol.* 150, 102–113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.054>.
- Pereira, A. C. F., Fonseca, F. S. A., Mota, G. R., Fernandes, A. K. C., Fagundes, M., Reis-Junior, R., Faria, M. L., 2014. Ecological interactions shape the dynamics of seed predation in *Acrocomia aculeate* (Arecaceae). *PLoS One* 9 (5), e98026. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0098026>.
- Pöldmaa, K., Kaasik, A., Tammaru, T., Kurina, O., Jürgenstein, S., Teder, T., 2016. Polyphagy on unpredictable resources does not exclude host specialization: insects feeding on mushrooms. *Ecology* 97 (10), 2824–2833. <http://dx.doi.org/10.1002/ecy.1526>.
- Polese, J. M., 2005. *The Pocket Guide to Mushrooms*. Könemann, Slovakia.
- Putzke, J., Putzke, M. T. L., 1998. *O reino dos fungos*. EDUNISC, Santa Cruz do Sul.
- R Core Team, 2023. *R: a Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Available in: <https://www.R-project.org/> (accessed 15 October 2023).
- Sakamoto, Y., 2018. Influences of environmental factors on fruiting body induction, development and maturation in mushroom-forming fungi. *Fungal Biol. Rev.* 32 (4), 236–248. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbr.2018.02.003>.
- Santa-Brígida, R., Wartchow, F., Medeiros, P. S., Gottschalk, M. S., Martins, M. B., De Carvalho, C. J. B., 2019. Mycophagous Drosophilidae (Diptera) guild and their hosts in the Brazilian Amazon. *Pap. Avulsos Zool.* 59, e20195920. <http://dx.doi.org/10.11606/1807-0205/2019.59.20>.
- Schmitz, H. J., Valente, V. L. S., 2019. The flower flies and the unknown diversity of Drosophilidae (Diptera): a biodiversity inventory in the Brazilian fauna. *Pap. Avulsos Zool.* 59, e20195945. <http://dx.doi.org/10.11606/1807-0205/2019.59.45>.
- Spicer, G. S., Jaenike, J., 1996. Phylogenetic analysis of breeding site use and α -amanitin tolerance within the *Drosophila quinaria* species group. *Evolution* 50 (6), 2328–2337. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1558-5646.1996.tb03620.x>.
- Stump, A. D., Jablonski, S. E., Bouton, L., Wilder, J. A., 2011. Distribution and mechanism of α -amanitin tolerance in mycophagous *Drosophila* (Diptera: drosophilidae). *Environ. Entomol.* 40 (6), 1604–1612. <http://dx.doi.org/10.1603/EN11136>.
- Takahashi, K. H., Tuno, N., Kagaya, T., 2005. The relative importance of spatial aggregation and resource partitioning on the coexistence of mycophagous insects. *Oikos* 109 (1), 125–134. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13594.x>.
- Throckmorton, L. H., 1975. The phylogeny, ecology and geography of *Drosophila*. In: King, R.C. (Ed.), *Handbook of Genetics*. Plenum Press, New York, pp. 421–469.
- Tosi, D., Martins, M. B., Vilela, C. R., Pereira, M. A. Q. R., 1990. On a new cave-dwelling species of bat-guano-breeding drosophila closely related to *D. repleta* Wollaston (Diptera, Drosophilidae). *Rev. Bras. Genet.* 13, 19–31.
- Tuno, N., 1999. Insect feeding on spores of a bracket fungus, *Elfvigia applanata* (Pers.) Karst. (Ganodermataceae, Aphyllophorales). *Ecol. Res.* 14 (2), 97–103. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1703.1999.00290.x>.
- Valer, F. B., Bernardi, E., Mendes, M. F., Blauth, M. L., Gottschalk, M. S., 2016. Diversity and associations between Drosophilidae (Diptera) species and Basidiomycetes in a Neotropical forest. *An. Acad. Bras. Cienc.* 88 (Suppl.1), 705–718. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201620150366>.
- Vilela, C. R., Bächli, G., 2004. On the identities of nine Neotropical species of *Hirtodrosophila* (Diptera, Drosophilidae). *Mitt. Schweiz. Ent. Ges.* 77, 161–195. Available in: <https://www.e-periodica.ch/digbib/view?pid=seg-001%3A2004%3A77%3A%3A6#174> (accessed 24 August 2023).
- Vilela, C. R., Bächli, G., 2007. Revision of the neotropical genus *Paraliodrosophila* (Diptera, Drosophilidae). *Mitt. Schweiz. Ent. Ges.* 80, 291–317. Available in: <https://www.e-periodica.ch/digbib/view?pid=seg-001:2007:80:382#314> (accessed 24 August 2023).
- Vizentin-Bugoni, J., Maruyama, P. K., Debastiani, V. J., Duarte, L. D. S., Dalsgaard, B., Sazima, M., 2016. Influences of sampling effort on detected patterns and structuring processes of a Neotropical plant-hummingbird network. *J. Anim. Ecol.* 85 (1), 262–272. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2656.12459>.

- Waechter, J. L., 1985. Aspectos ecológicos da vegetação de restinga no Rio Grande do Sul. *Comun. Mus. Cienc. PUCRS* 33, 49-68.
- Wheeler, M. R., Kambyzellis, M. P., 1966. Notes on the Drosophilidae (Diptera) of Samoa. *Univ. Tex. Publs.* 6615, 533-565.
- Wheeler, M. R., Takada, H., 1971. Male genitalia some representative genera of American Drosophilidae. *Univ. Tex. Publs.* 7103, 225-240.
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.
- Yamashita, S., Ando, K., Hoshina, H., Ito, N., Katayama, Y., Kawanabe, M., Maruyama, M., Itioka, T., 2015. Food web structure of the fungivorous insects community on bracket fungi in a Bornean tropical rain forest. *Ecol. Entomol.* 40 (4), 390-400. <http://dx.doi.org/10.1111/een.12200>.
- Zhang, Y., Katoh, T. K., Finet, C., Izumitani, H. F., Toda, M. J., Watabe, H., Katoh, T., 2021. Phylogeny and evolution of mycophagy in the *Zygothrica* genus group (Diptera, Drosophilidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 163, 107257. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107257>.

Supplementary material

The following online material is available for this article:

Table S1 - SM1: Drosophilidae abundance table by fungus species.

Table S2 - SM2: Abbreviations of fungal species present in the abundance table (SM1).