

REGISTRO DO USO DE RESINA DE ÁRVORE POR ADULTOS DE DROSOPHILIDAE

JESSICA PINHEIRO LETTNINN¹; BIBIANA LUIZI GROFF²; CARLOS HENRIQUE MACEDO VARGAS³; MURILO DOS SANTOS FERNANDES⁴; MONICA LANER BLAUTH⁵; MARCO SILVA GOTTSCHALK⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas – jelettninn1@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – groff.bibi@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – carlosmacedovg@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – murilo.fernandes3@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – blauth.monica@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – marco.gottschalk@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A família Drosophilidae exibe uma grande riqueza, com 4.779 espécies descritas (BÄCHLI, 2025), as quais usam um amplo número de recursos tróficos, que inclui diferentes partes vegetais como frutos, frutos em decomposição, flores e cladódios de cactos, além de cogumelos. Ainda, há alguns hábitos incomuns para esta família, como, por exemplo, a predação de outros invertebrados ou o comensalismo de caranguejo, se alimentando de excretas ou consumindo a microbiota das brânquias. Um dos hábitos tróficos com poucos registros é o uso de resina de árvores (O'GRADY, 2009). Interessantemente, segundo o pesquisador Toyohi Okada, este provavelmente era o substrato trófico de drosofilídeos ancestrais (MARKOW, 2006).

Algumas espécies do gênero *Drosophila* já foram identificadas em resina de árvores como, por exemplo, *Drosophila suzukii*, que o utiliza na ausência da disponibilidade de frutas, tendo sido registrada se alimentando da seiva de carvalhos feridos (ROSSI, 2022). Além disso, espécies pertencentes ao grupo *Drosophila virilis* tem adaptações para utilizar tal recurso trófico de várias espécies de árvores temperadas, como bétula, álamo, salgueiro e outras (PAL MAHADEVAN *et al.*, 2024).

Ademais, há registros de *D. robusta*, *D. victoria* e *D. melanica* se reproduzindo em exsudação de seiva fermentada por leveduras e bactérias (CARSON, 1950). Segundo CARSON (1951), exsudação de seiva fermentada *Quercus kelloggii* constitui importante local natural de reprodução e alimentação para *D. californica*, *D. pseudoobscura* e *D. persimilis*, onde a oviposição parece ocorrer apenas naqueles que estão em condições microbiológicas críticas. Há também o relato de GORDON (1942), que conseguiu observar a emergência de *D. obscura* a partir de exsudato fermentado de olmo.

Entretanto, há poucos estudos que aprofundem sobre a biodiversidade do gênero *Drosophila* no uso, trófico ou reprodutivo, de resina. Além disso, apesar de haver registros desse hábito no hemisfério Norte, ainda não há registros de espécies nativas do Brasil que tenham este hábito. Dessa forma, é de extrema

importância o estudo de resina visto que pode contribuir com o relato da biodiversidade brasileira. Para isso, além da identificação morfológica, foi também necessário a realização da identificação molecular como parte da taxonomia integrativa.

2. METODOLOGIA

A realização da coleta dos indivíduos que sobrevoavam a resina de árvores ocorreu com a utilização de uma rede entomológica, em uma única visitação ao Parque Estadual do Turvo, Derrubadas, RS ($27^{\circ}15'00"S$ $53^{\circ}56'55"O$), no dia 27/04/2025, e no Parque da Quarta Colônia, Agudo, RS ($29^{\circ}27'37.7"S$ $53^{\circ}16'58.9"O$), no dia 29/04/2025. Além disso, as resinas em que os indivíduos estavam utilizando como recurso foram coletadas e armazenadas em um frasco de vidro para observação de possíveis emergências de adultos, sendo mantido por 28 dias. Foi realizado o registro fotográfico das resinas e das plantas, e montagem de exsicatas das árvores para sua futura identificação botânica.

A identificação dos drosófilídeos foi feita pela morfologia externa usando chaves dicotômicas e artigos especializados. Além disso, para oito desses indivíduos foi realizada a extração de DNA individualmente e a observação da morfologia da genitália masculina.

A identificação molecular, foi realizada através de DNA *barcoding* que é um método de identificação de espécies com base na correspondência entre as sequências de um banco de dados e as sequências obtidas dos indivíduos. A extração foi feita com 20 µL da solução de lise alcalina do kit HotShot (BentoLab ®), a $65^{\circ}C$ por 15 min, seguido de $98^{\circ}C$ por 2 min. Após o tratamento, a solução foi homogeneizada com 20 µL de neutralizador do próprio kit. A solução com DNA foi retirada e as moscas foram preservadas individualmente em álcool 70% à $20^{\circ}C$.

Um µL da extração foi usado na amplificação por PCR do gene COI, com o par de primers TY-N1433 (SIMON *et al.*, 2006) e C1-N2329 (SIMON *et al.*, 1994). Uma segunda reação foi feita com 2 µL da primeira reação e o par de primers LCO1490 e HCO2198 (FOLMER *et al.*, 1994). Ambas reações foram feitas com 1x de tampão da enzima, 2 mM de MgCl₂, 200 µM de dNTPs, 0,5 µM de cada um dos primers e 0,05 U/µL de Taq DNA polimerase recombinante (Invitrogen ®). A reação de PCR foi feita em 40 ciclos de $94^{\circ}C$ por 40 s, $50^{\circ}C$ por 40 s e $72^{\circ}C$ por 50 s, com 5 min de desnaturação inicial a $94^{\circ}C$ e 3 min de extensão a $72^{\circ}C$ final.

Os produtos de PCR foram checados em eletroforese de gel de agarose e quantificados por comparação com DNA de bacteriófago Lambda comercial nas concentrações de 50 ng/µL, 100 ng/µL e 200 ng/µL. As amostras que deram reações positivas foram purificadas usando o protocolo das enzimas Exo-Sap (Cellco ®) e sequenciadas em uma direção por terceiros.

O eletroferograma das sequências foi revisado e editado, quando necessário, usando o programa *Trev 1.9* do Staden Package (STADEN, 1996). As sequências foram alinhadas no programa *MEGA 12* usando o *MUSCLE*. A partir disso, foi realizada uma busca das sequências nos bancos de dados *BOLD Systems* e *Genbank*.

Ainda, foi realizada uma busca das espécies dos grupos taxonômicos encontrados sobrevoando resina no Taxodros (BÄCHLI, 2025) a fim de limitar a busca no *BOLD Systems* de sequências COI.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação das espécies coletadas sobrevoando a resina estão apresentadas na Tabela 1. Das amostras de resina coletadas e levadas ao laboratório, não se observou nenhuma emergência de insetos.

Tabela 1- Identificação morfológica dos Drosophilidae amostrados sobrevoando resina de árvores.

Local	Grupo <i>D. dreyfusi</i>		Grupo <i>D. repleta</i>		Grupo <i>D. saltans</i>		Total
	sp. 1	sp. 2	sp. 1	sp. 1	sp. 2	Total	
Parque Estadual do Turvo, RS	10*	0	1	2	2	15	
Parque Quarta Colônia, RS	0	1	0	0	0	1	
Total	10	1	1	2	2	16	

* Extração de DNA de oito indivíduos.

A identificação pela morfologia externa foi possível até o nível de grupo (delimitação artificial entre gênero e espécie): grupos *Drosophila repleta*, *Drosophila saltans* e *Drosophila dreyfusi*. Dos oito indivíduos que foram para a análise molecular, se obteve as sequências de DNA barcode de quatro, sendo elas idênticas entre si e distintas das presentes no *BOLD Systems* e *Genbank*. A única espécie do grupo *dreyfusi*, o qual é formado por nove espécies, que apresenta sequência de DNA barcode no *Bold Systems* é *D. camargoi*. Desta forma, a análise molecular não auxiliou na identificação da espécie devido à falta de informação das espécies do grupo nos bancos de dados, mas auxilia na discriminação desta última espécie.

Estes grupos possuem diversos hábitos alimentares descritos, entretanto, os recursos tróficos diferem do observado no presente trabalho. Espécies do grupo *repleta* são consumidores de frutos, cactos e outras partes da plantas, espécies do grupo *saltans* consomem flores e frutos e as do grupo *dreyfusi* foram descritas como consumidoras de flores e frutos (MARKOW, 2008).

Dessa forma, a utilização de resina como recurso trófico é uma característica ecológica nova dentro destes grupos e para o Brasil, haja vista que os hábitos alimentares documentados dessas espécies não incluem o uso de resina. Além de *D. suzukii* e *D. virilis*, espécies que se tornaram cosmopolitas, nenhuma das outras espécies descritas associadas ao uso da resina para outras regiões foram registradas dentro da biodiversidade brasileira.

Para a identificação em nível de espécie, ainda é possível analisar a terminália masculina dos espécimes e, assim, delimitar se trata de um novo registro de recurso para espécies do grupo ou espécies ainda não descritas para a biodiversidade brasileira.

4. CONCLUSÕES

A investigação de diferentes recursos pode colaborar com a descrição da biodiversidade Brasileira. Apesar da identidade das espécies ainda não ter sido

confirmada, há evidências de que os indivíduos coletados são novos registros no Brasil.

Outrossim, o uso de sequências na taxonomia integrativa necessita de um incremento do banco de dados. Caso a análise morfológica confirme que a espécie do grupo *dreyfusi* é uma nova espécie, as sequências geradas neste trabalho serão depositadas no *Bold Systems* e serão importantes para estudos futuros. O mesmo procedimento será feito para os demais indivíduos dos grupos *saltans* e *repleta*.

Por fim, o uso de resina de árvores por espécies da família Drosophilidae é um registro único no Brasil, sendo a descrição destas espécies por meio de taxonomia integrativa bastante importantes para completar o presente registro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BÄCHLI, G. **TaxoDros**. Última atualização 28 jul. 2025. Acessado em 18 ago. 2025.
Disponível em: <https://www.taxodros.uzh.ch/>

CARSON, H. L. Breeding Sites of *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis* in the Transition Zone of the Sierra Nevada. **Evolution**, v. 5, n. 2, p. 91–96, 1951.

CARSON, H. L.; STALKER, H. D. Natural breeding sites for *Drosophila robusta*. **Genetics**, v. 35, p. 100, 1950.

FOLMER, O. et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 5, p. 294–299, 1994.

GORDON, C. Natural breeding sites of *Drosophila obscura*. **Nature**, v.149, p. 499. 1942.

MARKOW, T. A.; O'GRADY, P. M. **Drosophila: A Guide to Species Identification and Use**. San Diego: Elsevier, 2006.

MARKOW, T. A.; O'GRADY, P. M. Reproductive ecology of *Drosophila*. **Functional Ecology**, v. 22, n. 5, p. 747–759, 2008.

O'GRADY, P. M. *Drosophila melanogaster*. In: RESH V. H.; CARDÉ R. T. **Encyclopedia of Insects (Second Edition)**. San Diego: Elsevier, 2009. Cap.1, p. 301–303.

PAL MAHADEVAN, V. et al. Phenolics as ecologically relevant cues for slime flux breeding *Drosophila virilis*. **iScience**, p. 111180, nov. 2024.

STACCONI, V. R. *Drosophila suzukii* (spotted wing *Drosophila*). **CABI Compendium**, 2022.

SIMON, C. et al. Evolution, Weighting, and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 87, n. 6, p. 651–701, 1994.

STADEN, R. The Staden Sequence Analysis Package. **Molecular Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 233-241, 1996.