Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Caracterização de três espécies do grupo *fraterculus* (Diptera, Tephritidae, *Anastrepha*) por meio da análise de imagens e morfometria

Paula Perre

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2012

Paula Perre
Bacharelado em Ciências Biológicas

Caracterização de três espécies do grupo *fraterculus* (Diptera, Tephritidae, *Anastrepha*) por meio da análise de imagens e morfometria

Orientador:
Prof. Dr. **ROBERTO ANTÔNIO ZUCCHI**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Perre, Paula
Caracterização de três espécies do grupo *fraterculus* (Diptera, Tephritidae, *Anastrepha*) por meio da análise de imagens e morfometria / Paula Perre. - - Piracicaba, 2012.
79 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Classificação 2. Morfometria 3. Moscas-das-frutas I. Título

CDD 632.774
P455c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedico esta dissertação à minha família:

Aos meus pais Elisabete e Paulo;

Às minhas irmãs Flávia e Renata

E aos meus sobrinhos Vicenzo e Isabella

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, Ser supremo, por me dar forças e sabedoria na realização desse trabalho;

Ao Prof. Roberto A. Zucchi pela orientação, ensinamentos e, principalmente, pela confiança com a qual aceitou orientar este trabalho, cujos resultados eram imprevisíveis;

Ao Prof. Thomas Lewinsohn, mentor deste projeto, pela idéias, ensinamentos, apoio e confiança no meu trabalho. Pelas conversas na mesa do cafezinho e pela amizade, desenvolvida ao longo de anos (desde 2004!), mas que se concretizou nesses dois anos de mestrado;

Ao Prof. Ricardo Torres e ao Me. Fábio Faria, do Instituto de Computação – UNICAMP, por aceitarem fazer parte deste projeto. Pelo empenho em trabalhar com pesquisadores de outras áreas, o que algumas vezes não é fácil. Aos dois, muito obrigada, sem o trabalho de vocês este projeto não seria possível;

Ao Dr. Miguel Souza Filho e à Sônia Montes, do Instituto Biológico de Campinas, por concederem as amostras de moscas-das-frutas utilizadas neste estudo, pela ajuda e conversas no início do trabalho;

Ao Leonardo Ré Jorge, pela grande ajuda nas análises estatísticas e pela disposição em me ajudar sempre que precisei;

À Gleidyane Lopes-Mielerski, por estar sempre disposta a ajudar – e como me ajudou essa menina – e por sua amizade;

Aos professores da ESALQ, Fernando Cônsoli, José Roberto Parra, José Maurício Bento, Wesley Godoy e Celso Omoto, pelos novos conhecimentos passados durantes as disciplinas, que cursei no mestrado;

Agradeço à Dr. Marineia de Lara Haddad pelo auxílio com as análises estatísticas;

Aos colegas do Laboratório de Taxonomia de Insetos, Élison Fabrício, Jaci (responsável pelos cafezinhos no meio da tarde), Amanda, Leandro, Renata e Keiko;

Aos colegas do LIIP (Laboratório de Interação Inseto-Planta - UNICAMP) atuais, Marina (obrigada pelo carinho, ajuda com as lâminas e almoços na feirinha),

Leonardo, Nayara, Ricardinho (pela ajuda, conversas e desabafos), e aos que já passaram por lá, mas ainda muito importantes na minha formação, Mário Almeida-Neto e Rafael Loyola (vocês fazem muita falta!);

Aos amigos que fiz na ESALQ, Alininha, Lucila, Talita, Marina, Guilherme, Luiza, Sheila e Elisangela, não apenas pelos momentos de estudos, coleta de insetos e trabalhos, mas principalmente pela amizade;

Em especial, às amigas Rízia Andrade e Fernanda Müller por me acolherem com tanto carinho em sua casa no último semestre e sempre que precisei (vou sentir falta do apartamento, jantinhas, conversas, risadas e da companhia);

Às minhas amigas de Jundiaí com quem, apesar da minha distância (ando meio desnaturada), sei que sempre poderei contar.

Agradeço à CAPES pelo financiamento e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ pela oportunidade de formação concedida.

Por último, mas não menos importante agradeço à minha família toda por sempre me apoiarem, mesmo sem “entender direito o que eu faço”. Ao Yuri Gregório, namorado e melhor amigo, pelo incentivo (mesmo sabendo que eu iria ficar longe), paciência, compreensão e carinho.

“E um dia os homens descobrirão que esses discos voadores estavam apenas estudando a vida dos insetos.”

Mário Quintana

SUMÁRIO

RESUMO 11
ABSTRACT 13
LISTA DE FIGURAS 15
LISTA DE TABELAS 17
1 INTRODUÇÃO 19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 21
2.1 A taxonomia e suas limitações – situação atual 21
2.2 Análise de Imagens 22
2.3 Morfometria 25
2.3.1 Morfometria tradicional ou multivariada 25
2.3.2 Morfometria geométrica 26
2.4 Moscas-das-frutas – Gênero *Anastrepha* 28
2.5 Variação morfológica associada ao hospedeiro 28
3 MATERIAL E MÉTODOS 31
3.1 Obtenção de moscas-das-frutas 31
3.2 Espécies estudadas 31
3.3 Preparação de lâminas e captura das imagens 33
3.4 Análise de Imagens 33
3.5 Análise morfométrica 35
3.5.1 Asas 35
3.5.2 Acúleos 36
3.5.3 Análise dos dados morfométricos 37
3.5.3.1 Asas 37
3.5.3.2 Acúleos 38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 39
4.1 Análise de Imagens 39
4.1.1 Avaliação de diferentes descritores e classficadores 39
4.1.2 Identificação das espécies por meio da análise das imagens da asa 40
4.1.3 Associação de *Anastrepha fraterculus* com o hospedeiro por meio da análise de imagens da asa 41
4.1.4 Identificação das espécies pela análise das imagens do acúleo 42
4.1.5 Associação de *Anastrepha fraterculus* com o hospedeiro por meio da análise de imagens do acúleo 43
4.2 Análises Morfométricas 44
4.2.1 Identificação das espécies pela asa 44

4.2.2 Associação de *Anastrepha fraterculus* com o hospedeiro por meio da morfometria da asa..... 47
4.2.3 Identificação das espécies pelo acúleo..... 49
4.2.4 Associação de Anastrepha fraterculus com o hospedeiro por meio da análise discriminante linear do acúleo 52
5 CONCLUSÕES 55
REFERÊNCIAS..... 57
APÊNDICES..... 63

RESUMO

Caracterização de três espécies do grupo *fraterculus* (Diptera, Tephritidae, *Anastrepha*) por meio da análise de imagens e morfometria

As moscas-das-frutas são pragas de importância quarentenária, entre as quais se destacam as espécies do gênero *Anastrepha*. Apesar de muito estudada, a taxonomia de alguns grupos do gênero ainda não está adequadamente resolvida. A correta identificação do grupo *fraterculus* exige prática/conhecimento e a utilização de uma série de técnicas. Assim, o presente estudo propõe testar a eficiência de duas técnicas na identificação de três espécies (*A. fraterculus*, *A. obliqua* e *A. sororcula)* e na identificação de espécimes de *A. fraterculus* em relação a três hospedeiros (goiaba, nêspera e pêssego). Foram testadas as técnicas de análises de imagens, pela primeira vez em moscas-das-frutas, e de morfometria (multivariada para os acúleos e geométrica para as asas). Pela análise de imagens, obtiveram-se acurácias bastante altas na identificação das espécies, tanto por meio das imagens de asas quanto dos acúleos, com médias de acerto de 87,8% e 90,6%, respectivamente. Em relação à associação de *A. fraterculus* com os hospedeiros, também foram obtidos resultados positivos com a análise de imagens (médias de 85,3% de acerto nas imagens de asas e de 88,3% nas imagens de acúleos). A morfometria geométrica das asas, utilizando 17 marcos, indicou diferenças na forma das asas dos indivíduos de cada espécie, separando-os com sucesso em grupos distintos. Em relação à associação de *A. fraterculus* com seus hospedeiros, os grupos formados não foram muito distintos, principalmente em relação aos indivíduos provenientes de pêssego. A análise de morfometria multivariada de sete medidas dos ápices dos acúleos, por meio da análise discriminante linear (ADL), também indicou diferenças entre as espécies, separando-as em três grupos. Por meio da análise de *cluster* (UPGMA), verificou-se que *A. fraterculus* e *A. obliqua* formam um grupo e *A. sororcula* fica isolada, indicando que as medidas que mais influenciaram o agrupamento das espécies, foram o comprimento da serra (L3 e L7). Na associação com hospedeiros, foram obtidos resultados positivos com a ADL, entretanto, não foi possível separar as populações de um mesmo hospedeiro por meio da UPGMA. As duas técnicas foram eficientes na separação das espécies e na associação de *A. fraterculus* com seus hospedeiros, mostrando que o fruto hospedeiro pode influenciar na coloração e forma da asa e no formato do acúleo nas três espécies do grupo *fraterculus*.

Palavras-chave: Moscas-das-frutas; Identificação automática; Morfometria multivariada; Morfometria geométrica; Taxonomia; Variação morfológica

ABSTRACT

Characterization of three species of *fraterculu*s group (Diptera, Tephritidae, Anastrepha) by image analysis and morphometry

The fruit flies are pests of quarantine importance, among which stand out the genus *Anastrepha*. Despite of many study, the taxonomy of some groups of the genus is still not adequately resolved. The correct identification of *fraterculus* group requires practice/knowledge and the use of a number of techniques. Thus, this study proposes to test the efficiency of two techniques in the identification of three species (*A. fraterculus*, *A. obliqua* e *A. sororcula)* and in the identification of *A. fraterculus* specimens related to three hosts (guava, loquat and peach). Were tested the techniques of image analysis, for the fists time in fruit flies, and of morphometry (conventional for the aculeus and geometric for the wings). By image analysis, very high accuracies were obtained for species identification, both by the images of the wings and aculeus, with average accuracy of 87,8% and 90,6%, respectively. Regarding the association of *A. fraterculus* with the hosts, also were obtained positive results with image analysis (means of 85,3% of accuracy on images of wings and 88,3% on images of aculeus). The geometric morphometric of wings, using 17 landmarks, indicated differences in the wings shape of the individuals of each species, separating them into distinct groups successfully. Regarding the association of *A. fraterculus* with the hosts, the groups obtained were not very distinct, specially in relation to individuals from peach. The multivariate morphometric of seven measures of the aculeus tip, by linear discriminant analysis (LDA), also indicated differences in the species, separating them in three groups. By cluster analysis (UPGMA), was noted that *A, fraterculus* and *A. obliqua* form a group and *A. soroscula* is isolated, suggesting that the measures that most influenced the grouping of the species were the length of the serrate part (L3 and L7). In the host association, were obtained positives results with LDA, however, was not possible separate the populations of the same host by UPGMA. Both techniques were effectives in separating the species and in the association of *A. fraterculus* with their hosts, showing that the host fruit can influence in the color and shape of the wing and in the shape of the aculeus in the three species of the group *fraterculus*.

Keywords: Fruit flies; Automatic identification; Multivariate morphometry; Geometric morphometry; Taxonomy; Morphological variation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ápices dos acúleos de *A. fraterculus* (A), *A. obliqua* (B) e *A. sororcula* (C)..... 32

Figura 2 - Marcos anatômicos da asa..... 35

Figura 3 - Medidas do ápice do acúleo..... 36

Figura 4 - Imagem da asa após segmentação OTSU..... 39

Figura 5 - Variação na forma da asa ao longo dos dois primeiros eixos de ACP das variáveis das três espécies de *Anastrepha*. A linha tracejada representa a forma em valores mínimos de cada eixo e a linha contínua representa a forma em valores máximos..... 45

Figura 6 - Valores nos dois primeiros eixos da ACP das variáveis de forma da asa das três espécies de *Anastrepha*..... 45

Figura 7 - Valores nos dois primeiros eixos da ADL para a identificação das três espécies de *Anastrepha* a partir de variáveis de forma e tamanho da asa..... 46

Figura 8 - Variação na forma da asa ao longo dos dois primeiros eixos de ACP das variáveis de *Anastrepha fraterculus* dos três hospedeiros. A linha tracejada representa a forma em valores mínimos de cada eixo e a linha contínua representa a forma em valores máximos..... 47

Figura 9 - Valores nos dois primeiros eixos de ACP das variáveis da forma da asa de *A. fraterculus* provenientes de três hospedeiros..... 48

Figura 10 - Valores nos dois primeiros eixos de ADL na identificação das três espécies de *Anastrepha* a partir de variáveis de forma e tamanho do acúleo..... 49

Figura 11 - Variação nas medidas do ápice do acúleo de *A. fraterculus*, *A. obliqua* e *A. sororcula.* (descrição das medidas, v. Figura 4)..... 50

Figura 12 - Fenograma de três espécies de *Anastrepha* do grupo *fraterculus* gerado a partir de análise de *cluster* (UPGMA) com base em sete medidas do ápice do acúleo.... 51

Figura 13 - Valores nos dois primeiros eixos de ADL na associação de *A. fraterculus* provenientes de três hospedeiros a partir de variáveis de forma e tamanho do acúleo..... 52

Figura 14 - Fenograma de *A. fraterculus* proveniente de três hospedeiros, gerado a partir de sete medidas do ápice do acúleo..... 53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela de confusão dos resultados da identificação das espécies de *Anastrepha* com o método de análise de imagens de asa (SVM + LCH com segmentação OTSU). As linhas mostram as identidades reais das espécies e as colunas as identidades fornecidas pelo classificador..... 40

Tabela 2 - Tabela de confusão dos resultados da identificação de *A. fraterculus* proveniente de três hospedeiros (goiaba,nêspera e pêssego), utilizando o método de análise de imagens de asa (SVM + LCH com segmentação OTSU). As linhas mostram as identidades reais dos hospedeiros e as colunas as identidades fornecidas pelo classificador..... 41

Tabela 3 - Tabela de confusão dos resultados da identificação das espécies de *Anastrepha* com o método de análise de imagens de acúleo (SVM + EOAC – 288f). As linhas mostram as identidades reais das espécies e as colunas as identidades fornecidas pelo classificador..... 42

Tabela 4 - Tabela de confusão dos resultados da identificação de *A. fraterculus* provenientes de três hospedeiros (goiaba, nêspera e pêssego), utilizando o método de análise de imagens de acúleos (SVM + EOAC – 288f). As linhas mostram as identidades reais dos hospedeiros e as colunas as identidades fornecidas pelo classificador..... 43

Tabela 5 - Manova das variáveis de forma da asa das três espécies *Anastrepha*, testando para variação interespecífica. *** p<0,0001..... 45

Tabela 6 - Identificação das três espécies de *Anastrepha* baseada na Análise Discriminante Linear de variáveis de forma e tamanho da asa, seguida de validação. As linhas mostram as identidades reais das espécies e as colunas as identidades fornecidas pela análise..... 46

Tabela 7 - Manova das variáveis de forma da asa de *A. fraterculus* provenientes de três hospedeiros (goiaba, nêspera e pêssego), para variação intraespecífica. *** p<0,0001..... 47

1 INTRODUÇÃO

As moscas-das-frutas são pragas de importância em todo o mundo, entre as quais se destacam as espécies de *Anastrepha*, que atacam um grande número de frutíferas e estão amplamente distribuídas pelo Brasil. Várias espécies de *Anastrepha* são consideradas de importância quarentenária.

A identificação das espécies de *Anastrepha* é baseada nos caracteres morfológicos do mesonoto, asa e principalmente no acúleo. Em alguns casos, como no grupo *fraterculus,* a separação das espécies é baseada em diferenças sutis no formato do ápice do acúleo, o que tem dificultado a identificação de algumas espécies.

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidas ferramentas complementares à taxonomia tradicional, que podem ser vantajosas na identificação de espécies de *Anastrepha*. Além de diminuir o tempo gasto para a identificação por especialistas, essas novas metodologias podem permitir que um número maior de pesquisadores estude ou identifique esses grupos de insetos. A técnica de análise de imagens foi utilizada, neste trabalho, na caracterização de três espécies do grupo *fraterculus*, visando obter dados para que se possa, futuramente, desenvolver um sistema de identificação automático de espécies de moscas-das-frutas que possa ser utilizado por um pesquisador não-especialista na taxonomia desses insetos.

Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo testar a eficiência de duas técnicas na identificação de três espécies de *Anastrepha*, a morfometria e a análise de imagens, sendo esta uma técnica inédita na identificação de moscas-das-frutas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A taxonomia e suas limitações – situação atual

A taxonomia é uma linha de pesquisa fundamental para a maioria dos trabalhos em diferentes ramos da biologia (BORTOLUS, 2008), sendo a identificação de organismos até o nível de espécie de suma importância para diversas áreas de estudos e aplicações, tais como o controle biológico de pragas (LATTIN; KNUTSON, 1982), a formulação de legislação na área de conservação (MAY, 1990), monitoramentos de espécies indicadoras de poluição e vetoras de doenças (CHALMERS, 1996), além de ser a base de levantamentos sobre a biodiversidade (LEWINSOHN, 2006).

A taxonomia clássica, baseada na morfologia – feita predominantemente por taxonomistas especializados – não está conseguindo suprir toda a demanda de identificações, caracterizações, classificações e descrições de espécies (WEEKS; GASTON, 1997). E, apesar da grande demanda de trabalho, essa é uma classe de pesquisadores que vem diminuindo ano a ano. Atualmente, há apenas cerca de 4.000 a 6.000 taxonomistas profissionais no mundo; esse baixo número é resultado da redução ou interrupção de programas de pesquisa e treinamento em taxonomia, que ocorreram nos últimos 50 anos, em diversos centros acadêmicos mundiais (McLEOD; BENFIELD; CULVERHOUSE, 2010).

Enquanto isso, a demanda para identificação de espécimes tem aumentado. Profissionais que trabalham com pragas agrícolas ou com segurança fitossanitária entre fronteiras, por exemplo, necessitam cada vez mais identificar espécies de pragas potenciais, além de conhecer suas características biológicas e ecológicas (FEDOR et al., 2008).

Gaston e O'Neill (2004) destacaram alguns dos problemas mais importantes da taxonomia clássica, sendo os principais:

– falta de uma lista unificada de espécies descritas;

– grande número de sinonímias e o esforço necessário para esse serviço de revisão;

– distribuição desigual de recursos financeiros destinados para a pesquisa taxonômica;

– dificuldade na identificação de muitos táxons;

– dificuldade em usar os produtos da taxonomia tradicional, como coleções de referência adequadas e chaves dicotômicas;

– dificuldade em interpretar a terminologia científica complexa e

– enorme número de espécimes (mesmo de espécies comuns) para os quais a rotina de identificação tradicional ainda é necessária.

Dessa maneira, a taxonomia tem se tornado uma barreira para o desenvolvimento de diversos ramos da Biologia, impossibilitando-os de crescer e desenvolverem-se autonomamente (WHEELER; RAVEN; WILLSON, 2004). Uma forma de atenuar esse "impedimento taxonômico" é desenvolver alternativas para que os pesquisadores não-taxonomistas possam realizar suas pesquisas sem depender totalmente do trabalho de um especialista (GODFRAY, 2002).

Algumas alternativas estão sendo testadas, como a identificação genética de espécimes por meio de um "código de barras" molecular (HEBERT et al., 2003; HEBERT; GREGORY, 2005); o acesso *on-line* a chaves de identificação simplificadas, com imagens detalhadas de estruturas importantes para a identificação da espécie (GASTON; O'NEILL, 2004); técnicas de morfometria (multivariada e/ou geométrica) (BAYLAC; VILLEMANT; SIMBOLOTTI, 2003); e técnicas de análise de imagens com uso de programas de identificação computadorizados (WEEKs et al., 1999).

Umas das vantagens de se automatizar a identificação de espécies, utilizando tecnologias como reconhecimento de padrões, inteligência artificial e *learning machine*, é que a "taxonomia de espécies" passaria de uma função dependente de poucos especialistas a uma ciência acessível a quem necessite reconhecer espécimes, independentemente de ser especialista ou não (LaSALLE et al., 2009; MacLEOD; GENFIELD; CULVERHOUSE, 2010).

Com os sistemas de identificação automática, os taxonomistas teriam o tempo gasto com o trabalho de identificação de rotina reduzido, o que permitiria que se concentrassem em questões mais conceitualmente importantes e difíceis, como a descoberta, a descrição e a revisão de espécies, além do reconhecimento da ecologia, biologia e filogenia (MacLEOD; GENFIELD; CULVERHOUSE, 2010).

2.2 Análise de Imagens

A técnica de análise de imagens digitalizadas, em particular, tem avançado muito nos últimos anos, aumentando a possibilidade da automatização, ou semiautomatização, de grande parte da rotina da identificação taxonômica (GASTON; O'NEILL, 2004). Essa nova metodologia gera a oportunidade de automatizar diversos processos que envolvem

inspeção visual repetitiva, como classificação, identificação ou caracterização dos espécimes (HOULE et al., 2003).

Há uma expectativa de que as técnicas de análise de imagens representem um caminho rumo a um sistema de grande escala de identificação taxonômica baseada em imagens computadorizadas (WEEKS et al., 1997), mas ainda não há um sistema eficiente e de uso amplo; tais técnicas ainda estão em processo de testes (MacLEOD; GENFIELD; CULVERHOUSE, 2010).

Os estudos utilizando imagens digitalizadas vêm sendo realizados há quase três décadas, mas essa abordagem ainda está sendo utilizada de forma limitada. Daly et al. (1982) utilizaram análises de imagens para medir 25 caracteres morfométricos de abelhas; por meio de análises discriminantes, foi possível determinar a origem das abelhas (Europa ou África). Yu et al. (1992) mediram as asas de icneumonídeos por meio de análise de imagens semiautomática; também utilizando análises discriminantes, foram capazes de identificar cinco espécies com base nas diferenças das asas, alcançando um resultado de até 100% de acurácia.

Recentemente, os avanços são muitos e alguns pesquisadores já conseguiram quase que automatizar totalmente o processo de identificação de algumas espécies utilizando imagens. Os três sistemas de aprendizado e classificação de imagens mais utilizados em trabalhos de identificação de espécies de plantas e de animais, são:

– DAISY (*Digital Automated Identification System*), um *software* mais genérico e pode ser utilizado para qualquer tipo de classificação, já foi utilizado para classificar peixes, polens e plantas, embora o foco principal seja mariposas (WATSON; O'NEILL; KITCHING, 2004).

– SPIDA (*Species Indentified Automatically*), uma ferramenta direcionada, utilizada na identificação de aranhas da Austrália, que permite distinguir 121 espécies. Uma vantagem desse *software* é este que está disponível na internet e cada usuário pode submeter suas próprias imagens de aranhas para classificação; essas imagens passam a fazer parte do banco de dados de treinamento do *software* (RUSSEL et al., 2007).

– ABIS (*Automatic Bee Identification System*), foi desenvolvido para identificação de abelhas; utiliza características extraídas do padrão de venação das asas de abelhas para identificação das espécies, com taxas de classificações corretas superiores a 95% para espécies dos gêneros *Gombus, Colletes* e *Andrena* (ARBUCKLE et al., 2001).

Além desses três sistemas de identificação de espécies, há outros que vêm sendo cada vez mais utilizados, como BugID (SARPOLA et al., 2008), com altas acurácias na

identificação automática de espécies de invertebrados bentônicos (LYTLE et al., 2010). Há também ferramentas de identificação automática de espécies que foram desenvolvidas para serem utilizadas no campo para identificação e monitoramento de pragas, como tripes (FEDOR et al., 2009) e mariposas (MAYO; WATSON, 2007). Uma ferramenta prática de *learning machine* que vem sendo utilizada com sucesso na classificação de insetos é o *software* WEKA (HALL et al., 2009).

As identificações por meio desses sistemas, semi ou totalmente automatizados, são mais rápidas, consistentes e precisas do as realizadas pelo taxonomista. Os cientistas, que trabalham com aprimoramento de máquinas e reconhecimento de padrões, estão desenvolvendo algorítimos que incorporam várias características de um objeto – muitas das quais os humanos não são capazes de detectar – em programas de identificação por imagens (MacLEOD; GENFIELD; CULVE, 2010).

Em estudos controlados de cognição-visual, os humanos frequentemente perdem ou não se lembram de itens apresentados em uma cena, contam objetos mais de uma vez e classificam erroneamente alguns. Lytle et al. (2010) compararam os resultados, gerados a partir de identificação automática de imagens, com a identificação feita por estudantes de graduação e professores treinados em cursos de entomologia, ecologia e ciência da computação. Os humanos tiveram 78,6% (desvio = 8,4) de sucesso na identificação, enquanto o sistema automático obteve um sucesso superior a 90%.

Em qualquer teste de análise de imagens computadorizadas é necessário primeiramente realizar a calibragem ou treinamento do programa, levando em consideração que o uso de poucas imagens não gera uma calibragem eficiente e o uso de muitas imagens torna o programa "fraco" (WEEKS et al., 1997). Um grupo de imagens deve ser separado para calibrar o programa e outro para testar o sistema; esse último grupo de imagens é usado para análises de desempenho (WEEKS et al., 1999).

Normalmente, o processo de treinamento funciona por (1) extração das propriedades visuais (variação significativa) entre as imagens de um conjunto de treinamento, (2) utilização dessas propriedades na representação da morfologia e (3) "exploração" do fato que imagens de uma mesma espécie irão compartilhar propriedades visuais características. Tal abordagem permite a construção de classificadores de espécies, que associam imagens fortemente relacionadas (MARTINEZ-MUNOZ et al., 2009)

A eficácia de cada método é aferida por análises de desempenho, baseadas na proporção de identificações corretas e errôneas em cada espécie e no total. Essas proporções podem ser analisadas estatisticamente como tabelas de contingência ou por meio de modelos

log-lineares apropriados (AGRESTI, 1990). Parâmetros derivados das análises de imagens podem ser explorados em análises multivariadas, incluindo ou não a identidade correta das espécies *a priori*.

Na entomologia, metodologias de análise de imagem utilizam normalmente imagens de asas e aparelhos reprodutores. Isto ocorre porque a morfologia dessas estruturas, especialmente em dípteros, difere bastante entre os grupos taxonômicos. Algumas características da venação das asas, tais como o diagrama das asas e padrão de venação, a disposição de faixas e "desenhos" das asas são espécie-específicas e, frequentemente, utilizadas em estudos de identificação de espécies (PARCHEM; PERRY; PATEL, 2007).

2.3 Morfometria

A morfometria consiste de métodos que utilizam estatística para analisar mudanças e variações nas formas. As variações na morfologia (tamanho e forma) de uma estrutura biológica podem ser analisadas por meio das técnicas de morfometria tradicional e geométrica. Esses métodos vêm sendo utilizados em estudos de diversas áreas das ciências biológicas (ROHLF; MARCUS, 1993).

Os insetos são excelentes organismos para estudos de variação morfométrica, pois possuem exoesqueleto e várias estruturas quitinizadas. Assim, podem ser facilmente medidos, pois praticamente não apresentam problemas de distorção física, ao contrário do que acontece com muitos outros organismos (DALY et al., 1982).

Em muitos grupos de insetos, as asas são as principais estruturas para a análise de forma (BAYLAC; VILLEMANT; SIMBOLOTTI, 2003). No caso das moscas-das-frutas, além das asas, o acúleo é utilizado com frequência na identificação das espécies (e.g. ZUCCHI, 1978). As moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* apresentam variações morfológicas consideráveis, tanto nas asas quanto nos acúleos; tais variações ocorrem inclusive entre indivíduos coespecíficos (LOPES, 2011).

2.3.1 Morfometria tradicional ou multivariada

Esse método foi desenvolvido durante a primeira metade do século XX e foi amplamente utilizado até o final do século. Tal método baseia-se na aplicação de estatística multivariada de diversas medidas de um organismo ou de parte de um organismo. Essas

medidas geralmente são comprimentos e larguras de estruturas ou distâncias entre marcos anatômicos e, em alguns casos, ângulos ou razões entre distâncias. Essa técnica permite o tratamento estatístico e a visualização conjunta de um grande número de variáveis morfológicas por meio de métodos de ordenação e quantificação de distâncias totais no espaço de variáveis entre os indivíduos (ROHLF; MARCUS, 1993).

A morfometria multivariada tem sido muito utilizada em estudos de biologia evolutiva, pois detecta variações em caracteres quantitativos, avalia padrões de relação fenética e, em alguns casos, testa hipóteses de filogenia (BAYLAC; VILLEMANT; SIMBOLOTTI, 2003).

Diversos trabalhos utilizam o morfometria multivariada para a identificação de espécies de *Anastrepha*. Por meio da morfometria multivariada, foi verificado que *A. fratreculus* e *A.zenildae* (espécies generalistas) são morfologicamente semelhantes e que *A. pickeli* (espécie especialista) apresenta diferenças consideráveis nas estruturas analisadas (ALENCAR-SOUZA, 1998). Espécies do grupo *fraterculus* apresentam variações morfométricas, que dificultam as identificações, mas quando se combinam uma séria de medidas, é possível dintinguí-las (ARAUJO; NASCIMENTO; ZUCCHI, 1998).

Com base em estudos de morfometria multivariada das medidas do acúleo e da asa, foi comprovado que populações de *A. fraterculus* do Brasil, México, Colômbia e Argentina diferem estatisticamente. Por meio de análise discriminante, as populações do México e da Colômbia podem ser consideradas morfotipos distintos, mas as populações da Argentina e do Brasil apresentam o mesmo morfotipo. Esses três grupos de morfotipos podem, então, ser considerados como entidades taxonomicamente distintas (HERNANDEZ-ORTIZ et al., 2004).

Apesar de serem amplamente utilizadas, as técnicas de morfometria multivariada apresentam problemas quanto à impossibilidade de recuperar a forma original ou as diferenças da forma entre os organismos a partir das matrizes de distâncias. Há também grande perda de informações quando se tratam as variáveis separadamente, sem considerar as relações entre elas no organismo. Além disso, a morfometria tradicional não permite tratar separadamente forma e tamanho, o que dificulta a detecção de alometria (ROHLF; MARCUS, 1993).

2.3.2 Morfometria geométrica

Por muito tempo a técnica de morfometria tradicional foi utilizada em estudos de análises de variações morfológicas, mas devido a alguns entraves, foi necessário um embasamento teórico e filosófico, que culminou na criação de uma área de pesquisa que envolvesse biologia, estatística e geometria (BOOKSTEIN, 1991). O aprimoramento e a popularização de ferramentas computacionais e equipamentos de captura de imagens digitais permitiram que marcos anatômicos fossem registrados de maneira sistemática e que grades de deformação desses marcos fossem produzidas computacionalmente. Além disso, ocorreram avanços teóricos, como a produção de uma teoria estatística da forma e sua aplicação em métodos de superposição de conformações de marcos anatômicos. Esses avanços teóricos e técnicos resultaram numa nova abordagem do estudo da forma nos organismos, denominada morfometria geométrica. Esse conjunto de técnicas permite que a geometria das configurações de marcos anatômicos seja preservada até a apresentação de resultados estatísticos (MITTEROECKER; GUNZ, 2009).

O método mais difundido de análise no contexto da morfometria geométrica é a superposição por Procrustes (MONTEIRO; REIS, 1999). Inicia-se a aplicação desse método definindo marcos anatômicos, que são mapeados em todos os indivíduos. Esses marcos devem ser estruturas homólogas, isto é, presentes entre todos os espécimes estudados, de uma maneira que possam ser localizados como pontos fixos. O conjunto de coordenadas, representando as posições de todos os marcos anatômicos mapeados em cada um dos indivíduos, será então utilizado como o conjunto de variáveis em todas as análises. Para a extração das informações de forma e tamanho, o conjunto de pontos em cada indivíduo deve ter essas informações isoladas entre si e de variações triviais como a posição e localização dos espécimes no momento da captura das imagens. Tais análises geram variáveis que são independentes do tamanho das estruturas, o que elimina parte da influência ambiental, que afeta o desenvolvimento dos organismos, principalmente de insetos (GOTTHARD; NYLIN, 1995).

Essa técnica vem sendo utilizada com frequência em estudos de biologia evolutiva, pois permite identificar discrepâncias de tamanho e forma entre os organismos, que podem ser relacionadas a diferenças geográficas, sazonais, demográficas. Apesar de ser uma técnica muito utilizada em estudos com insetos, ainda há poucos trabalhos envolvendo espécies de *Anastrepha*, porém, esses apresentam resultados positivos e promissores (NASCIMENTO, 2000, 2005).

2.4 Moscas-das-frutas – Gênero *Anastrepha*

As moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) são as principais pragas da fruticultura mundial. As moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil são representadas por quatro gêneros: *Anastrepha, Bactrocera, Ceratitis e Rhagoletis*. O gênero *Anastrepha* é o mais abundante, com 112 espécies registradas no País (ZUCCHI, 2008), mas apenas sete são economicamente importantes: *Anastrepha fraterculus* (Wied.), *A. grandis* (Macquart), *A. obliqua* (Macquart), *A. pseudoparallela* (Loew), *A. sororcula* Zucchi, *A. striata* Schiner e *A. zenildae* Zucchi (ZUCCHI, 2000).

Embora o gênero *Anastrepha* seja composto por aproximadamente 215 espécies, distribuídas por toda região Neotropical e parte da Neártica, a taxonomia de alguns grupos de espécies, como o grupo *fraterculus*, ainda não está adequadamente resolvida (NORRBOM; ZUCCHI; HERNADEZ-ORTIZ, 1999).

A taxonomia das espécies do gênero *Anastrepha* é baseada principalmente no padrão alar e na morfologia do ápice do acúleo. No grupo *fraterculus*, por exemplo, diferenças morfológicas sutis separam as espécies e muitas vezes os limites entre as espécies são difíceis de serem reconhecidos. As variações na forma do acúleo, ocasionadas por fatores genéticos e ambientais (e.g., uso de diferentes recursos), tornam o reconhecimento desses limites ainda mais problemático (ARAUJO; NASCIMENTO; ZUCCHI, 1998; SELIVON, 2000). Em realidade, sabe-se que o nome *A. fraterculus* corresponde a várias espécies crípticas (HERNANDEZ-ORTIZ et al., 2004; SELIVON et al., 2005), denominadas de *A. fraterculus* complexo.

Nos últimos anos, foram realizados vários estudos sobre a identificação de espécies de *Anastrepha*, que não se restringiram apenas aos aspectos morfológicos, mas incluíram também análises genéticas (SILVA, 2000; SMITH-CALDAS et al., 2001) e de morfometria (ARAUJO; NASCIMENTO; ZUCCHI, 1998). Entretanto, nenhuma técnica de análise de imagens computadorizada foi testada até hoje para a identificação de espécies de *Anastrepha*.

2.5 Variação morfológica associada ao hospedeiro

As variações fenotípicas no tamanho e na forma de caracteres morfológicos em resposta ao ambiente é uma característica de vários organismos. Essas variações

intraespecíficas recebem o nome de plasticidade fenotípica, que pode ser definida como a capacidade de um genótipo de expressar fenótipos distintos, quando exposto a diferentes condições ambientais (GOTTHARD; NYLIN, 1995).

É importante ressaltar que a plasticidade fenotípica não é necessariamente adaptativa. Ela pode ser o resultado direto de diferentes estímulos ambientais sobre os processos bioquímicos e fisiológicos do desenvolvimento (GOTTHARD; NYLIN, 1995). Esse tipo de variação é bastante comum e é esperado, já que o ambiente inclui todas as condições às quais o organismo está exposto durante o desenvolvimento. Tais variações se dão em vários níveis de organização do organismo, assim podem ser bioquímicas, fisiológicas, morfológicas e comportamentais. Geralmente, a fisiologia e o comportamento respondem ao ambiente de forma rápida, havendo alterações nessas características várias vezes ao longo do período de vida de um indivíduo. A maior parte dos casos de plasticidade na morfologia, no entanto, é resultado de estímulos ambientais atuando durante as primeiras fases do desenvolvimento, sendo assim irreversíveis, ou de resposta lenta (PIGLIUCCI; MURREN; SCHLICHTING, 2006). Para os insetos holometábolos, toda a morfologia do adulto é definida durante o desenvolvimento das fases imaturas e irreversível após a metamorfose.

Os insetos herbívoros e suas plantas hospedeiras são um modelo ideal no estudo da influência do ambiente sobre o fenótipo, uma vez que as plantas hospedeiras são a única fonte de alimento e modulam a interação do herbívoro com outras espécies. Assim, espera-se que a planta hospedeira exerça influência em diversas características dos insetos herbívoros, desde diferenças relacionadas ao desempenho até diferenças sutis na morfologia (GOTTHARD; NYLIN, 1995).

A maioria dos estudos sobre variação morfológica em Diptera foi realizada em Drosophilidae (principalmente em espécies de *Drosophila*). São poucos os trabalhos desenvolvidos com Tephritidae e a maior parte desses estudos relaciona a variação morfológica com diferenças geográficas, o que envolve, indiretamente, diferenças de temperatura, umidade, latitute, longitude (ARAUJO; NASCIMENTO, ZUCCHI 1998; HERNANDEZ-ORTIZ et al., 2004). Em duas espécies de *Tomoplagia* (Tephritidae) associadas aos capítulos de diferentes espécies de Asteraceae, foram observadas variações significativas nos aspectos morfológicos das asas e acúleos (analisados em conjunto) (PRADO, 1994).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção de moscas-das-frutas

Foram estudadas três espécies de *Anastrepha* do grupo *fraterculus*: *A. fraterculus* (Wied.) (sensu lato), *A. obliqua* (Macquart) e *A. sororcula* Zucchi. Essas espécies compartilham várias características em comum, o que as tornam um bom material para testar os métodos de análise de imagens.

Foram analisados espécimes identificados da coleção do Instituto Biológico – Campinas – SP, provenientes de pomares localizados nos municípios de Monte Alegre do Sul (22º40'S, 46º40"O), Presidente Prudente (22º08'S, 51º23'O) e Monte Alto (21º15'S, 48º30'O), estado de São Paulo (Apêndice A). Nenhum tipo de tratamento fitossanitário (como aplicações de inseticidas) foi realizado nos pomares durante o período de coleta.

Os espécimes de *A. fraterculus* foram obtidos diretamente de goiaba, nêspera e pêssego e os de *A. obliqua* e de *A. sororcula*, apenas em goiaba. Foram também estudados, espécimens de *A. obliqua* coletados em armadilhas McPhail, instaladas no pomar de manga.

3.2 Espécies estudadas

As três espécies de *Anastrepha* estudadas – *A. fraterculus, A.obliqua* e *A. sororcula* – pertencem ao grupo *fraterculus* e diferem entre si principalmente pela morfologia do acúleo (Figura 1) (NORRBOM; ZUCCHI; HERNANDEZ-ORTIZ, 1999). São consideradas espécies-praga de importância quarentenária, encontradas com frequência no estado de São Paulo e são as que estão associadas com o maior número de plantas hospedeiras (ZUCCHI, 2008.).

- *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830)

Características do acúleo: ápice longo (comprimento/largura ao nível da abertura do oviduto ≈ 1,9), com distinta constrição antes da serra e dentes arredondados sobre a metade apical (ZUCCHI, 1977, 2000) (Figura 1A).

Distribuição geográfica: na América, dos EUA (Texas) à Argentina (STONE, 1942; HERNANDEZ-ORTIZ; PEREZ-ALONSO, 1993). No Brasil, encontra-se amplamente distribuída, com registros em 19 Estados (ZUCCHI, 2008).

Plantas hospedeiras: é a espécie com maior número de plantas hospedeiras (81 espécies) (ZUCCHI, 2008), com preferência para as espécies de Myrtaceae.

***Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835)**

Características do acúleo: ápice com dentes subagudos sobre mais da metade apical, com constrição pouco acentuada antes da serra (ZUCCHI, 2000) (Figura 1B).

Distribuição geográfica: amplamente distribuída pela América, desde EUA (Texas e Flórida) até o Peru. No Brasil, não foi registrada apenas em Sergipe (ZUCCHI, 2008).

Plantas hospedeiras: possui 37 espécies de plantas hospedeiras no Brasil (ZUCCHI, 2008), principalmente em Anacardiaceae e Myrtaceae.

***Anastrepha sororcula* Zucchi, 1979**

Características do acúleo: ápice curto (comprimento/largura ao nível da abertura do oviduto ≈ 1,4), com distinta constrição antes da serra e dentes subagudos (ZUCCHI, 2000) (Figura 1C).

Distribuição geográfica: encontrada no Brasil em 20 Estados (ZUCCHI, 2008).

Plantas hospedeiras: as larvas desenvolvem-se em 21 espécies de hospedeiros no Brasil (ZUCCHI, 2008), principalmente espécies de Myrtaceae.

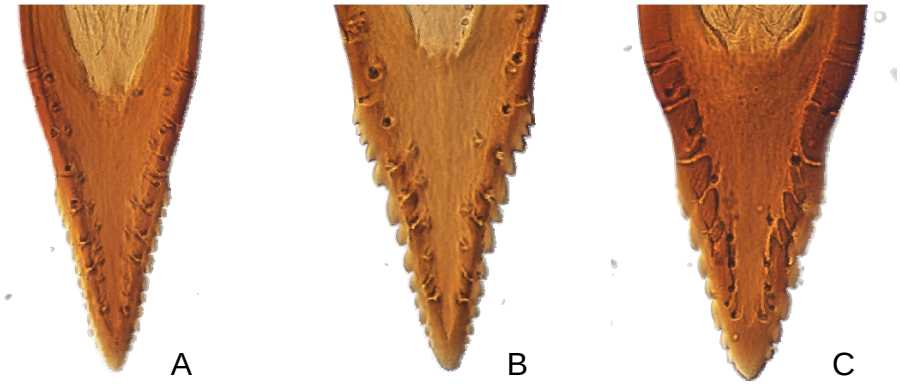


Figura 1 - Ápices dos acúleos de *A. fraterculus* (A), *A. obliqua* (B) e *A. sororcula* (C)

3.3 Preparação de lâminas e captura das imagens

A asa direita de cada espécie foi retirada com auxílio de pinças, colocada em Euparal e coberta com uma lamínula. Após a secagem, as asas foram fotografadas com câmera digital Nikon® DS-Fi1(CCD, 5M, resol. 2560 x 1920) acoplada ao estereoscópio Nikon® SMZ 1500, com aumento 1,5X.

Como os acúleos são estruturas côncavas, optou-se pela montagem de lâminas temporárias para captura das imagens. Com auxílio de pinças e estiletes, os abdomes foram retirados e colocados em solução de KOH a 10% por aproximadamente 12 h. O acúleo foi retirado com auxílio de estiletes e colocado, em posição ventral, sobre uma lâmina, contendo duas gotas de glicerina, e coberto com lamínula. Os acúleos foram fotografados com câmera digital Nikon® DS-Fi1(CCD, 5M, resol. 2560 x 1920) acoplada ao microscópio de luz Nikon® (10x e 40x). Depois de fotografado, o acúleo foi armazenado em tubinhos de polietileno com glicerina e transfixado junto com a respectiva etiqueta de identificação e de dados de coleta. Todos os dados referentes a cada indivíduo (código, planta hospedeira, coletor, local, data e método de coleta) foram digitados em uma planilha em Excel®, anotados nas caixas das lâminas de asas e nas etiquetas fixadas nos tubinhos com os acúleos.

Foram selecionadas 100 imagens de asas e 100 de acúleos de cada espécie, totalizando 600 imagens. As imagens foram salvas sem nenhum tipo de tratamento em CDs e entregues aos pesquisadores do Instituto de Computação da UNICAMP.

Para análise em relação à associação de *A. fraterculus* com os hospedeiros, foram montadas lâminas das asas (permanentes) e dos acúleos (temporárias) (método descrito anteriormente) e tomadas 40 imagens de asas e de acúleos de *A. fraterculus* de cada hospedeiro, totalizando 120 imagens de asas e acúleos. Somente *A. fraterculus* foi analisada nos testes de variação morfológica relacionada ao hospedeiro, pois foi a única espécie obtida diretamente dos frutos dos três hospedeiros (goiaba, nêspera e pêssego).

3.4 Análise de Imagens

Na tarefa de classificação supervisionada de imagens assume-se que cada imagem pertence a uma classe definida e o problema consiste em treinar um classificador de maneira que esse indique a classe correta para uma dada imagem desconhecida. Para isso,

descritores de imagens são usados para caracterizar propriedades visuais. Um descritor é caracterizado por duas funções: (1) um algoritmo de extração de característica que codifica as propriedades visuais (e.g., cor, textura ou forma) em um vetor de características/atributos e (2) uma medida de similaridade (função de distância) que calcula a similaridade entre duas imagens utilizando os vetores de características correspondentes.

Os experimentos foram divididos em duas etapas. Na primeira etapa, diferentes técnicas de classificação e descritores de imagens foram comparadas, a fim de encontrar a melhor dupla (descritor/classificador) que alcançasse maior eficácia (porcentagem de acerto) na identificação de *Anastrepha* utilizando imagens de asas e de acúleos. Utilizando um programa de *learning machine*, o *sotware* WEKA (HALL et al., 2009), foi criada uma base de imagens de asas composta por 150 imagens (50 de *A. fraterculus*, 50 de *A. sororcula* e 50 de *A. obliqua*) e uma base de imagens de acúleos composta por 150 imagens (50 de cada espécie). Ambas as bases de imagens (asas e acúleos) foram submetidas a uma técnica chamada "*5-folds cross validation*", onde se divide a base de imagens em cinco partes de mesmo tamanho; no conjunto de treino são usadas quatro partes (80% da base de imagens) e uma parte é usada no conjunto para teste. Esse procedimento é repetido cinco vezes até que todas as imagens da base sejam testadas.

Na segunda etapa, foram realizados dois conjuntos de análises: um para determinar se é possível distinguir as espécies por meio de imagens de asas e de acúleos e outro buscando detectar variações entre os indivíduos de *A. fraterculus* provenientes dos três hospedeiros.

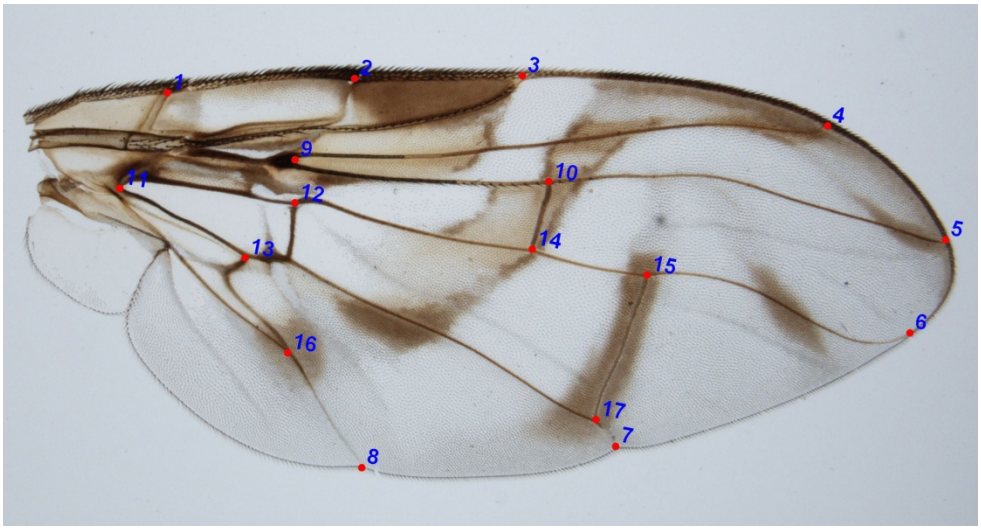
As duplas de classificadores/descritores, que obtiveram os melhores índices na primeira etapa, foram utilizadas para identificar uma base maior de imagens (303 imagens de asas e 297 de acúleos). Para as análises de *A. fraterculus* associada aos diferentes hospedeiros, foi utilizada uma base de 120 imagens tanto de asas quanto de acúleos, sendo 40 imagens de indivívuos de *A. fraterculus* provenientes de cada hospedeiro (goiaba, pêssego e nêspera).

3.5 Análise morfométrica

3.5.1 Asas

As 50 imagens da primeira fase dos testes de análise de imagens foram também usadas para as análises de morfometria geométrica. Com o auxílio do software TpsUtil versão 1.38 (ROHLF, 2006), foi gerado um arquivo para a análise das imagens.

Posteriormente, um conjunto de 17 marcos anatômicos homólogos, determinados pelo sistema de venação das asas, foi mapeado em cada imagem utilizando o software TpsDig versão 1.40 (ROHLF, 2004) (Figura 2), esses marcos foram transformados em coordenadas cartesianas (x e y) para análise geométrica.

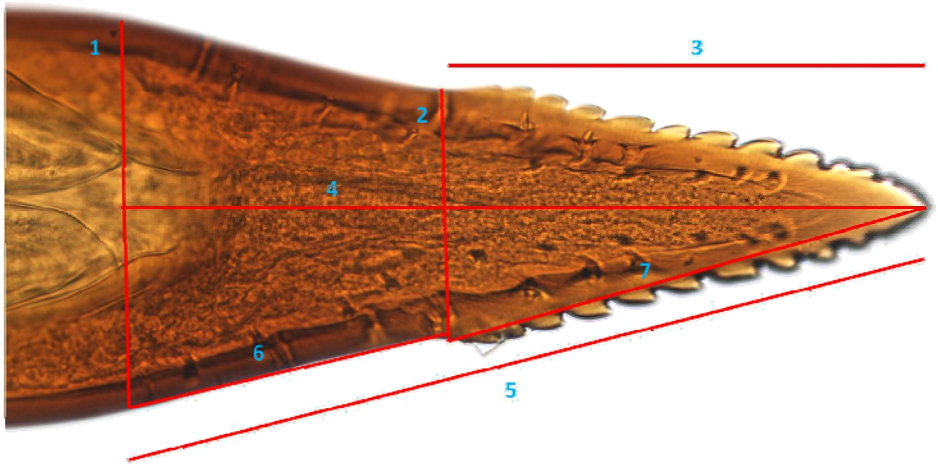


MARCOS	DESCRIÇÃO
1	Intersecção das veias costal e umeral (C e h)
2	Intersecção da veia subcostal (Sc) e a borda da asa
3	Intersecção do setor radial 1 (R_1) e a borda da asa
4	Intersecção do setor radial 2 + 3 (R_{2+3}) com a borda da asa
5	Intersecção do setor radial 4 +5 (R_{4+5}) com a borda da asa
6	Intersecção da veia mediana (M) com a borda da asa
7	Intersecção da veia cubital A_1 (CuA_1) com a borda da asa
8	Intersecção da veia anal (A) com a borda da asa
9	Intersecção das veias R_1 e R_{2+3}
10	Intersecção da veia r-m e o setor radial 4 +5 (r-m e R_{4+5})
11	Intersecção da veia M e a base da célula bm
12	Intersecção das veias M e m-cu
13	Intersecção das veias m-cu e CuA1
14	Intersecção das veias mediana e r-m (M e r-m)
15	Intersecção das veias dm-cu e a mediana(dm-cu e M)
16	Intersecção da veia A e ápice da célula cup
17	Intersecção das veias CuA_1 e dm-cu

Figura 2 - Marcos anatômicos da asa

3.5.2 Acúleos

As 50 imagens da primeira fase dos testes de análise de imagens foram também usadas para as análises de morfometria tradicional dos acúleos. As medidas do acúleo (Figura 3) foram feitas utilizando-se o *software* Motic Images Advanced 3.2®.



MARCOS	DESCRIÇÃO
1	Largura do acúleo ao nível da abertura da cloaca
2	Largura do acúleo no início da serra
3	Comprimento da serra
4	Comprimento do ápice do acúleo a partir da abertura da cloaca
5	Comprimento da margem do ápice do acúleo
6	Comprimento da margem do ápice do acúleo, da abertura da cloaca até o início da serra
7	Comprimento da margem do ápice do acúleo, do início da serra até o ápice

Figura 3 - Medidas do ápice do acúleo

3.5.3 Análise dos dados morfométricos

As análises morfométricas foram baseadas nas mesmas imagens usadas para as análise de imagens.

3.5.3.1 Asas

As conformações dos marcos anatômicos foram superpostas pelo método de Procrustes para eliminar variações causadas pela posição e rotação das asas e para excluir os efeitos do tamanho, uma vez que todos os indivíduos são padronizados para o mesmo tamanho. A partir dessas conformações transformadas, foi realizada uma Análise de Componentes Principais (ACP), com o objetivo de descrever e visualizar a variação entre indivíduos (testar as diferenças interespecíficas) e uma Análise de Variância Multivariada

(MANOVA) para detectar a variação entre as três espécies estudadas. Também foi realizada uma Análise Discriminante Linear (LDA), para verificar a possibilidade de identificar as espécies apenas com base na forma da asa.

Para testar as diferenças intraespecíficcas em *A. fraterculus*, foi realizada uma Análise de Variância Multivariada (MANOVA) seguida de uma Análise de Componentes Principais (ACP), com o objetivo de descrever e visualizar a variação entre indivíduos provenientes dos três hospedeiros.

Todas as análises morfométricas e estatísticas foram realizadas com o *software* 'R' versão 2,13 para Windows (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008).

3.5.3.2 Acúleos

As sete medidas nas imagens dos acúleos foram exportadas para o programa Excel® e utilizadas para calcular as médias e amplitudes da estrutura do acúleo e plotagem dos gráficos por meio do o *software* 'R' versão 2,13 para Windows (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008). Foi realizada uma Análise Discriminante Linear (LDA), para verificar a possibilidade de identificar as espécies com base nas medidas do ápice do acúleo. Para a análise de *cluster* (UPGMA), 10 indivíduos de cada espécie foram selecionados ao acaso para os testes de identificação de espécies e 10 de *A. fraterculus* de cada hospedeiro para os testes de associação da espécie com os hospedeiros.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de Imagens

4.1.1 Avaliação de diferentes descritores e classficadores

As avaliações prévias, feitas para a definição de um método de identificação ideal, foram realizadas com imagens completas da asa de cada espécie. Portanto, não houve a retirada do fundo da imagem, o que talvez tenha prejudicado os resultados, pois algumas imagens apresentavam diferenças na iluminação ou resíduos no meio de fixação da asa (bolhas de ar, poeira). Ainda assim, os resultados foram bastante positivos, com eficácia chegando a 87,06% utilizando um descritor de cor.

Para sanar esses possíveis erros, foi utilizada uma segmentação nas imagens de asas, a segmentação OTSU, ou seja, houve a retirada do fundo da imagem (Figura 4). O descritor com melhores resultados foi um descritor de cor, o LCH (*Local Color Histogram*). O classificador com melhores resultados foi o SVM (*Support Vetor Machine*), um classificador binário, isto é, classifica as imagens duas a duas, a fim de maximizar as diferenças com o mínimo de erro possível.

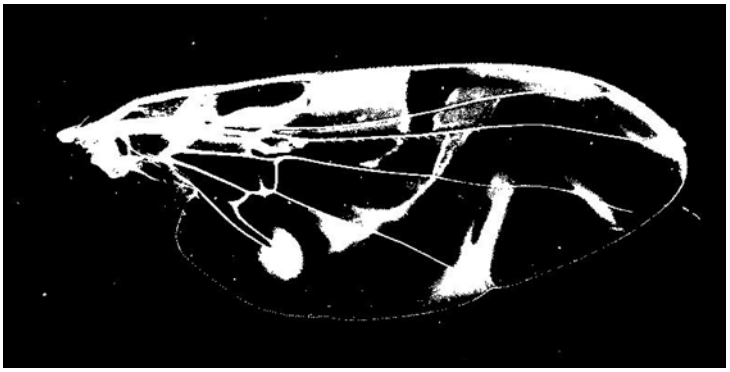


Figura 4 - Imagem da asa após segmentação OTSU

Para as imagens dos acúleos, o descritor com melhores resultados foi um descritor de forma, o EOAC – 288f. O classificador com melhores resultados também foi o SVM.

4.1.2 Identificação das espécies por meio da análise das imagens da asa

Utilizando o método selecionado, tendo como base um descritor de cor (SVM + LCH com segmentação OTSU), foram realizados 305 testes (divididos em cinco *folds*) com imagens selecionadas aleatoriamente (Apêndice B). Os resultados foram considerados bastante positivos, com média de acertos de 87,87%, com desvio de 5,51%. Nesses 305 testes, houve 36 erros (15 em *A. obliqua*, 12 em *A. sororcula* e 10 em *A. fraterculus*) (Tabela 1).

Nas três espécies ocorreram erros para as outras duas espécies, entretanto, houve mais acertos na identificaçao de *A. fraterculus*, com 90% de acertos, seguida de *A. sororcula* com 88% e de *A. obliqua* com 85,72%.

Tabela 1 – Tabela de confusão dos resultados da identificação das espécies de *Anastrepha* com o método de análise de imagens de asa (SVM + LCH com segmentação OTSU). As linhas mostram as identidades reais das espécies e as colunas as identidades fornecidas pelo classificador

	A. fraterculus	***A. obliqua***	***A. sororcula***	**Total**
A. fraterculus	**90**	7	3	100
A. obliqua	10	**90**	5	105
A. sororcula	7	5	**88**	100

Nos tefritídeos, a pigmentação e diferenciação de formato de asas são caracteres importantes na identificação de gêneros e espécies (PRADO; NORRBOM; LEWINSOHN, 2004). Em *Anastepha,* o padrão alar é usado na identificação de algumas espécies, mas para o grupo *fraterculus*, as asas não apresentam elementos suficientes para a separação das espécies. Entretanto, ainda não foi realizada nenhuma revisão taxonômica para as 28 espécies do grupo.

A análise de imagens do padrão alar está sendo usada pela primeira vez para identificar as espécies de *Anastrepha*, com resultados bastante satisfatórios (Tabela 1).

4.1.3 Associação de *Anastrepha fraterculus* com o hospedeiro por meio da análise de imagens da asa

Para verificar se o método de análise de imagens também é capaz de classificar as imagens da asa de acordo com o hospedeiro de *A. fraterculus*, foram realizados 120 testes (cinco *folds* com 40 imagens cada). A acurácia foi de 85,5%, com desvio de 6,85% (Apêndice C). Nos indivíduos provenientes de nêspera, foi obtido apenas um erro e, consequentemente, a grande parte dos erros de goiaba foi classificada como pêssego e vice-versa (Tabela 2).

Tabela 2 – Tabela de confusão dos resultados da identificação de *A. fraterculus* proveniente de três hospedeiros (goiaba, nêspera e pêssego), utilizando o método de análise de imagens de asa (SVM + LCH com segmentação OTSU). As linhas mostram as identidades reais dos hospedeiros e as colunas as identidades fornecidas pelo classificador

	Goiaba	**Nêspera**	**Pêssego**	**Total**
Goiaba	**30**	2	8	40
Nêspera	1	**39**	0	40
Pêssego	8	1	**31**	40

Os dípteros apresentam uma grande variedade de padrões de pigmentação da asa. Esses padrões alares refletem aspectos de sua história de vida e estão ligados aos nichos ecológicos em que vivem (PARCHEM; PERRY; PATEL, 2007). A dieta larval influencia na morfologia, no tamanho e até na pigmentação de estruturas do corpo das moscas (NAVARRO-CAMPOS, 2011). A pesquisa sobre a formação e a evolução da coloração das asas em Diptera tem avançado bastante. Sabe-se que pontos e faixas nas asas das moscas estão ligados à produção de melanina. Em *Drosophila*, a modificação em poucos genes é responsável pela alteração no padrão de coloração da asa de espécie e até de gênero (PARCHEM; PERRY; PATEL, 2007).

Poderia então, a planta hospedeira estar relacionada com a pigmentação da asa de moscas-das-frutas? O presente estudo mostra que sim; a coloração das asas é fortemente influenciada pela fonte alimentar no estágio larval em *A. fraterculus*. A análise das imagens da asa oferece elementos para comprovar essa observação.

4.1.4 Identificação das espécies pela análise das imagens do acúleo

O método selecionado para classificar imagens de acúleo, utilizando um descritor de forma (SVM + EOAC – 288f), obteve uma acurácia média de 90,6%, com desvio de 3,39%. Foram realizados 300 testes, onde houve 27 erros. *Anastrepha fraterculus* foi a espécie com maior número de identificações corretas (apenas um erro em 100 testes) e *A. sororcula*, foi a espécie com mais erros de identificação (15 erros) (Apêndice D).

Nas três espécies, os erros foram para uma única outra espécie, ou seja, o único exemplar identificado erroneamente em *A. fraterculus* foi identificado como *A. obliqua*, assim como os quinze erros de *A. sororcula.* E os onze erros de *A. obliqua* foram classificados como *A. sororcula* (Tabela 3). O formato do ápice do acúleo de *A. obliqua* é o que mais difere entre as espécies estudadas, portanto, o esperado era que os erros de *A. sororcula* fossem para *A. fraterculus*, que possuem ápices do acúleo mais semelhantes, e não para *A. obliqua,* uma vez que foi utilizado um classificador de forma. Provavelmente, o caráter "comprimento do ápice do acúleo" é que prevalece no classificador de forma, entretanto, essa medida não é o mais indicado para separar morfologicamente *A. obliqua* de *A. fraterculus*, mas sim para distinguir essa última espécie de *A. sororcula*.

Tabela 3 – Tabela de confusão dos resultados da identificação das espécies de *Anastrepha* com o método de análise de imagens de acúleo (SVM + EOAC – 288f). As linhas mostram as identidades reais das espécies e as colunas as identidades fornecidas pelo classificador

	A. fraterculus	***A. obliqua***	***A. sororcula***	**Total**
A. fraterculus	**99**	1	0	100
A. obliqua	0	**89**	11	100
A. sororcula	0	15	**85**	100

Como o formato do acúleo é o principal caráter utilizado para distinguir essas espécies, esperava-se que a acurácia do método fosse maior nas análises de imagens dos acúleos do que nas análises de imagens das asas. Porém, ao contrário do esperado, a diferença entre elas foi bastante pequena (asas = 87,87%, acúleos = 90,6%), indicando que os métodos podem ser considerados semelhantes em relação à eficiência.

4.1.5 Associação de *Anastrepha fraterculus* com o hospedeiro por meio da análise de imagens do acúleo

Foram realizados 120 testes com o método SVM + EOAC – 288f, que foi o mais eficaz na classificação das imagens de acúleos. A acurácia média no reconhecimento dos hospedeiros de *A. fraterculus* foi de 88,33%. Foram encontrados 14 erros, sendo 8 em imagens de indivíduos provenientes de goiaba e 3 de indivíduos provenientes de nêspera e pêssego (Tabela 4, Apêndice E).

Tabela 4 – Tabela de confusão dos resultados da identificação de *A. fraterculus* provenientes de três hospedeiros (goiaba, nêspera e pêssego), utilizando o método de análise de imagens de acúleos (SVM + EOAC – 288f). As linhas mostram as identidades reais dos hospedeiros e as colunas as identidades fornecidas pelo classificador

	Goiaba	**Nêspera**	**Pêssego**	**Total**
Goiaba	**32**	2	6	40
Nêspera	1	**37**	2	40
Pêssego	3	0	**37**	40

Devido à relação direta do acúleo com o fruto hospedeiro no momento de oviposição, a variação de forma do acúleo relacionada com o fruto hospedeiro é, de certa forma, esperada; ao contrário da influência do hospedeiro na coloração das asas. Com base nos resultados deste estudo, há indicações que o fruto hospedeiro influencia tanto na coloração das asas quanto na forma do acúleo, mas, ao contrário do esperado, a influência sobre a forma dos acúleos não é muito maior em relação à coloração das asas.

A maioria dos estudos com identificação por imagens tem apresentado melhores resultados para identificação de famílias ou gêneros (WEEKS; GASTON, 1997; GASTON; O'NEIL, 2004). Levando em consideração que o presente estudo envolve a identificação em nível de espécie, os resultados obtidos podem ser considerados bastante promissores.

O *software*, que contém diferentes técnicas de classificação, utilizado foi o WEKA (HALL et al., 2009). Mayo e Watson (2007) também utilizaram esse conjunto de técnicas para identificar espécies de mariposas vivas, visando à obtenção de uma ferramenta

para ser utilizada por pesquisadores no campo. Esses autores obtiveram uma acurácia de 85%, mostrando que WEKA é uma ferramenta ideal na identificação de diferentes estruturas, pois possui bons resultados com testes realizados com imagens de asas, antenas e até com o corpo inteiro do inseto. A acurácia do WEKA para o padrão alar e o acúleo em *Anastrepha* também foi alta.

Assim, as técnicas contidas no WEKA, poderiam ser utilizadas futuramente em uma ferramenta de identificação voltada para profissionais não-especialistas. Os resultados encontrados no presente trabalho são bastante positivos, uma vez que apenas a utilização das imagens da asa seria o suficiente para uma identificação com um grau de segurança bastante alto.

Como apenas sete espécies do gênero *Anastrepha* são consideradas pragas no Brasil, o desenvolvimento de uma ferramenta que auxilie na rápida identificação dessas espécies e que possa ser utilizada por um profissional não-especialista na taxonomia de moscas-das-frutas (daí a importância de se conseguir utilizar a asa como estrutura de identificação e não o acúleo) seria de grande importância, uma vez que minimizariam as operações dos agentes fitossanitários, principalmente em portos e aeroportos.

4.2 Análises Morfométricas

4.2.1 Identificação das espécies pela asa

Com base nas análises de morfometria da asa, foram detectadas diferenças altamente significativas entre os indivíduos das três espécies (MANOVA, $p<0,0001$) (Tabela 5). Os dois eixos que descrevem a maior proporção da variação entre as espécies está na região posterior da asa (eixo 1) e na região distal (eixo 2) (Figura 5). Além disso, pela Análise dos Componentes Principais (ACP), o eixo 1 separou com algum sucesso *A. sororcula* das outras duas espécies e no eixo 2, separou *A. fraterculus* de *A. obliqua* (Figura 6). As três espécies apresentam variações intraespecíficas, mas *A. obliqua* é mais homogênea e *A. fraterculus* mais heterogênea.

Tabela 5 – Manova das variáveis de forma da asa das três espécies *Anastrepha*, testando para variação interespecífica. *** p<0,0001

Df	Pillai	approx F	num Df	den Df	Pr(>F)
2	1.3432	58.901	10	288	***
147					

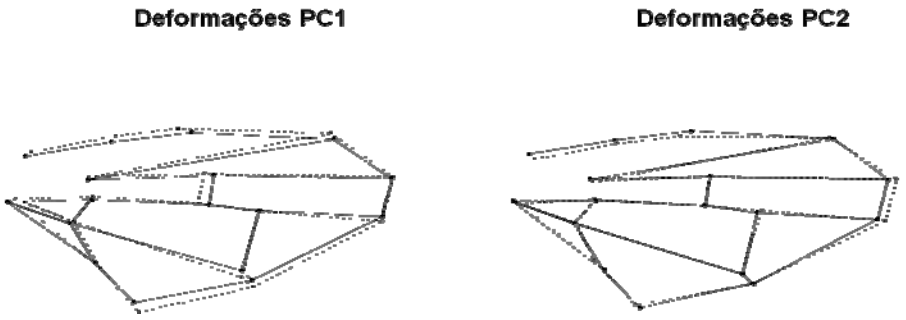


Figura 5 - Variação na forma da asa ao longo dos dois primeiros eixos de ACP das variáveis das três espécies de *Anastrepha*. A linha tracejada representa a forma em valores mínimos de cada eixo e a linha contínua representa a forma em valores máximos

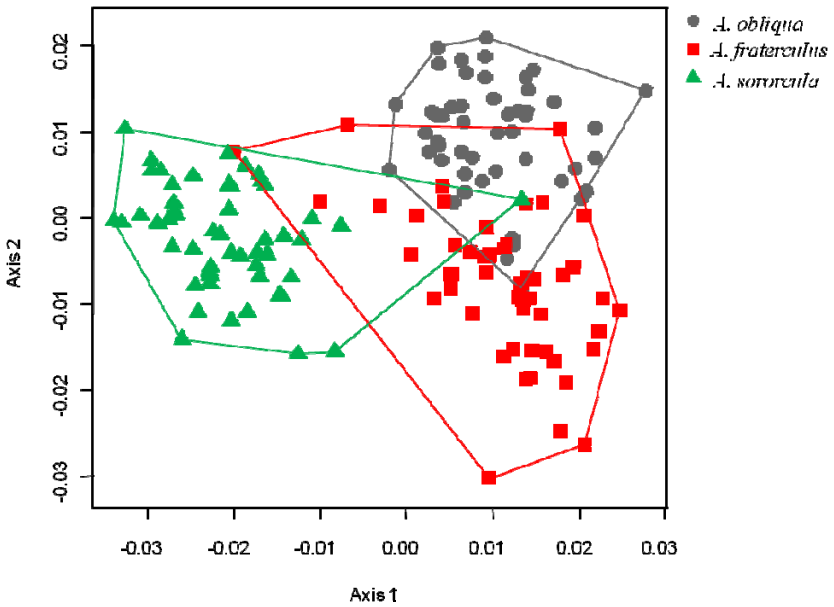


Figura 6 - Valores nos dois primeiros eixos da ACP das variáveis de forma da asa das três espécies de *Anastrepha*

Pela Análise Discriminante Linear (ADL), as três espécies foram corretamente identificadas, confirmando que a morfologia das asas difere entre as espécies estudadas. A partir de uma validação, em que um indivíduo é deixado de fora da construção da função discriminante e então é identificado, apenas 3,33% dos indivíduos foram identificados erroneamente (Tabela 6). A quase ausência de sobreposição entre as espécies nos dois primeiros eixos da ADL (Figura 7) reforça essa observação. Entretanto, ainda se observa variabilidade intraespecífica, porém os indivíduos se distribuem de forma mais homogênea.

Tabela 6 – Identificação das três espécies de *Anastrepha* baseada na Análise Discriminante Linear de variáveis de forma e tamanho da asa, seguida de validação. As linhas mostram as identidades reais das espécies e as colunas as identidades fornecidas pela análise

	A. fraterculus	***A. obliqua***	***A. sororcula***	**Total**
A. fraterculus	**47**	1	2	50
A. obliqua	1	**49**	0	50
A. sororcula	1	0	**49**	50

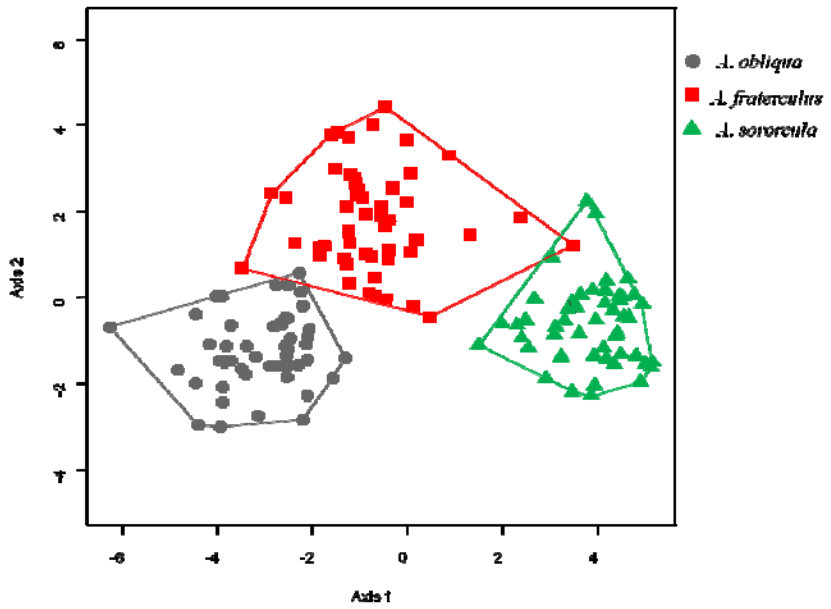


Figura 7 - Valores nos dois primeiros eixos da ADL para a identificação das três espécies de *Anastrepha* a partir de variáveis de forma e tamanho da asa

4.2.2 Associação de *Anastrepha fraterculus* com o hospedeiro por meio da morfometria da asa

Com as análises de morfometria da asa também foram detectadas diferenças altamente significativas entre os indivíduos de *A. fraterculus* provenientes dos três hospedeiros (MANOVA, p<0,0001) (Tabela 7). A maior proporção da variação entre indivíduos ocorreu na região posterior da asa (eixo 1) e na região distal (eixo 2) (Figura 8). Além disso, pela ACP, houve separação de alguns indivíduos provenientes da goiaba e da nêspera (eixo 1). Quase todos os indivíduos provenientes de pêssego se sobrepõem sobre os demais, não sendo possível separá-los (Figura 9).

Tabela 7 - Manova das variáveis de forma da asa de indivíduoas de *A. fraterculus* para variação intraespecífica. *** p<0,0001

Df	Pillai	approx F	num Df	den Df	Pr(>F)
2	0.54981	8.6441	10	288	***
117					

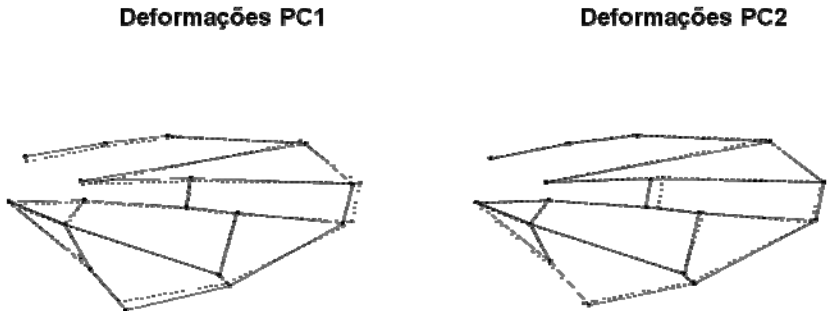


Figura 8 - Variação na forma da asa ao longo dos dois primeiros eixos de ACP das variáveis de *Anastrepha fraterculus* dos três hospedeiros. A linha tracejada representa a forma em valores mínimos de cada eixo e a linha contínua representa a forma em valores máximos

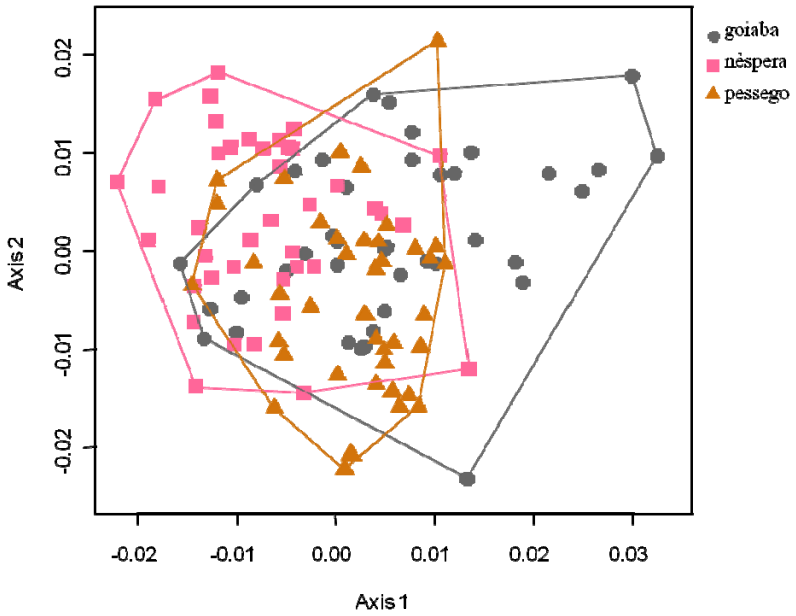


Figura 9 - Valores nos dois primeiros eixos de ACP das variáveis da forma da asa de *A. fraterculus* provenientes de três hospedeiros

As variações fenotípicas no tamanho e forma de caracteres morfológicos, em resposta ao ambiente, é uma característica de vários organismos (PIGLIUCCI; MURREN; SCHLICHTING, 2006). Como a planta hospedeira é um fator ambiental que afeta o desenvolvimento dos insetos, observações de plasticidade fenotípica em estruturas, como asa e acúleo, são esperadas.

A forma da asa variou substancialmente em *A. fraterculus* proveniente dos três hospedeiros. Diversos estudos também relataram uma variação na forma da asa de indivíduos de uma mesma espécie que se desenvolveram em diferentes hospedeiros. Em duas espécies de *Drosophila* criadas em duas espécies de cactos, observou-se plasticidade na forma das asas em relação aos cactos hospedeiros (SANTOS, 2011). *Heliconius erato philis* (Lepidoptera, Nymphalidae) criada em seis espécies de *Passiflora* também apresentaram variação na forma das asas (JORGE et al., 2011).

Os fatores abióticos também são responsáveis pela variação morfológica entre populações de uma espécie, principalmente, a temperatura (BAGATINI, 2007). Neste estudo, as condições climáticas dos períodos de coletas foram semelhantes (Apêndice A), o que evidencia que a variação pode ter sido causada pelos hospedeiros e não pelas variáveis ambientais e geográficas.

4.2.3 Identificação das espécies pelo acúleo

Através de uma análise discriminante linear (ADL), utilizando como base as medidas do ápice do acúleo, foi gerado o gráfico da função discriminante (ADL), onde se verifica que as espécies diferem claramente entre si, formando três grupos distintos (Figura 10). A ausência de sobreposição das espécies fortalece ainda mais essa observação.

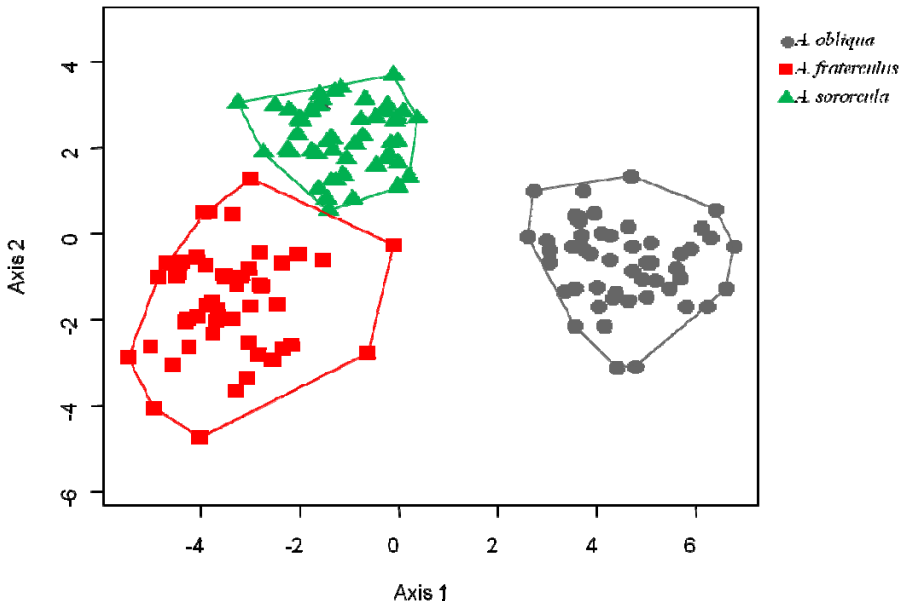


Figura 10 - Valores nos dois primeiros eixos de ADL na identificação das três espécies de *Anastrepha* a partir de variáveis de forma e tamanho do acúleo

Em relação às sete medidas do ápice do acúleo, houve amplas variações intraespecífica e interespecífica (Figura 11). A medida L6 (comprimento da margem do ápice do acúleo, da abertura da cloaca até o início da serra) foi a que mais diferiu entre as três espécies (pouca sobreposição).

Em *A. fraterculus,* as medidas que mais variaram foram L4 (comprimento do ápice do acúleo a partir da abertura da cloaca) e L5 (comprimento da margem do ápice do acúleo). Essas medidas são as que separam mais claramente as três espécies estudadas. Esse resultado já era esperado, pois essas medidas são caracteres importantes na identificação de *A. fraterculus*.

Com exceção de *A.sororcula*, pode-se notar a presença de *outliers* em quase todas as medidas, confirmando mais uma vez a variação intraespecífica nas espécies.

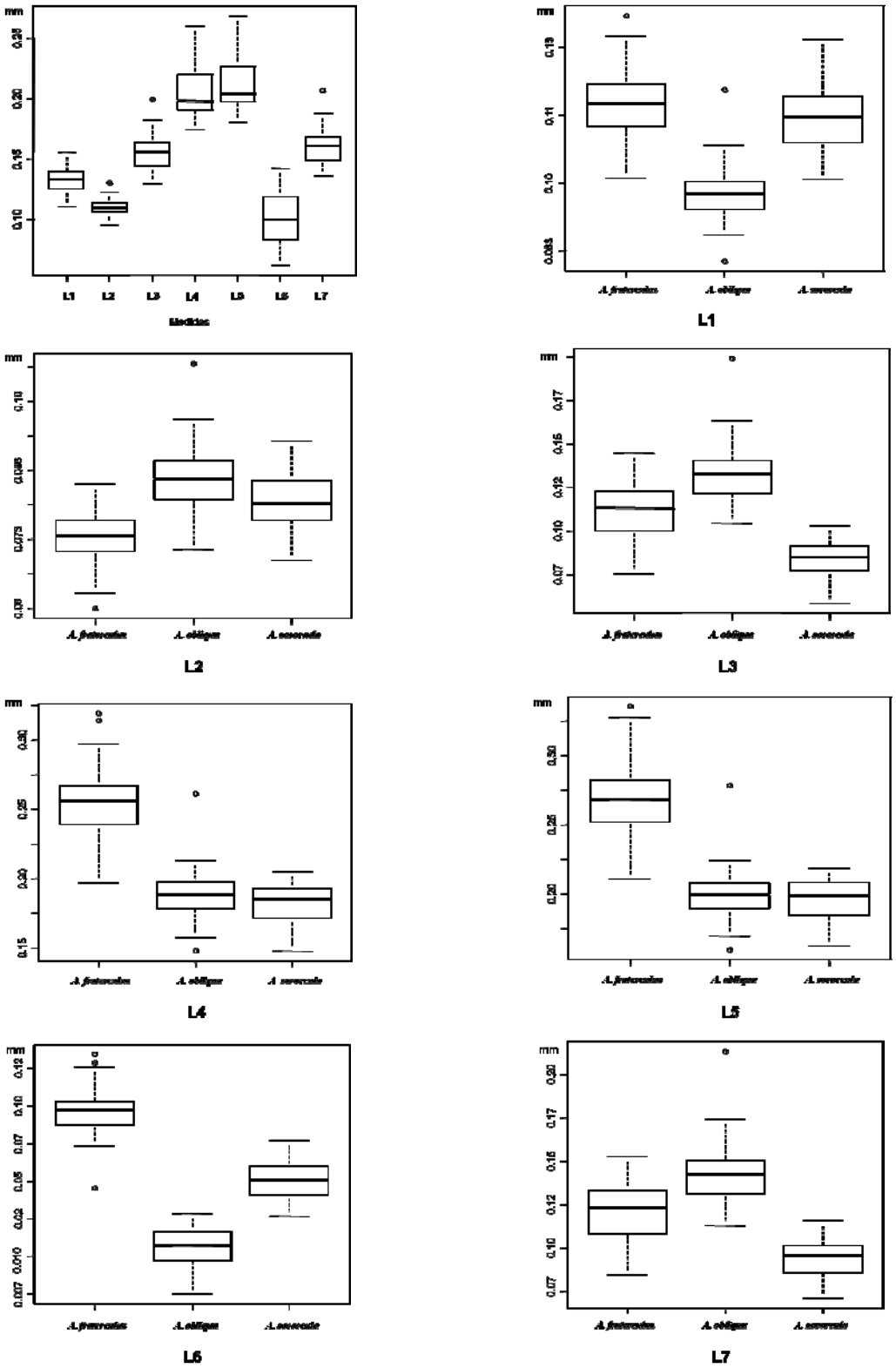


Figura 11 – Variação nas medidas do ápice do acúleo de *A. fraterculus*, *A. obliqua* e *A. sororcula.* (descrição das medidas, v. Figura 4)

Por meio da análise de *cluster* (UPGMA), verificou-se o grau de agrupamento dos indivíduos de cada espécie, utilizando-se todas as medidas do ápice do acúleo. Assim, pela distância euclidiana, *A. fraterculus* e *A. obliqua* formam um grupo e *A. sororcula* fica isolada (Figura 12), o contrário do observado para as medidas separadamente (Figura 10: L4 e L5). Esse resultado difere do encontrado por Araujo, Nascimento e Zucchi (1998), que por meio de análise de *cluster* com medidas dos acúleos dessas mesmas espécies, encontraram *A. obliqua* e *A. sororcula* formando um só grupo e *A. fraterculus* isolada. Porém, aqueles autores utilizaram uma medida a mais (comprimento do acúleo) e demonstraram que essa medida teve forte influência no agrupamento das populações das espécies. No presente trabalho, as medidas que mais influenciaram o agrupamento das espécies, foram as relacionadas ao comprimento da serra (L3 e L7), pois suas médias foram mais próximas em *A. fraterculus* e *A. obliqua*.

Outro fato que comprova essa variação intraespecífica é o grande número de subdivisões encontradas dentro de cada grupo. Uma das possíveis razões para tal variação intraespecífica é a possibilidade de alguns indivíduos serem híbridos, uma vez que grande parte dos indivíduos foi coletada nos mesmos locais e nas mesmas datas. Sabe-se que essas espécies podem acasalar entre si e gerar descendentes híbridos, que apresentam variação na morfologia do acúleo (SANTOS; URAMOTO; MATIOLI, 2001).

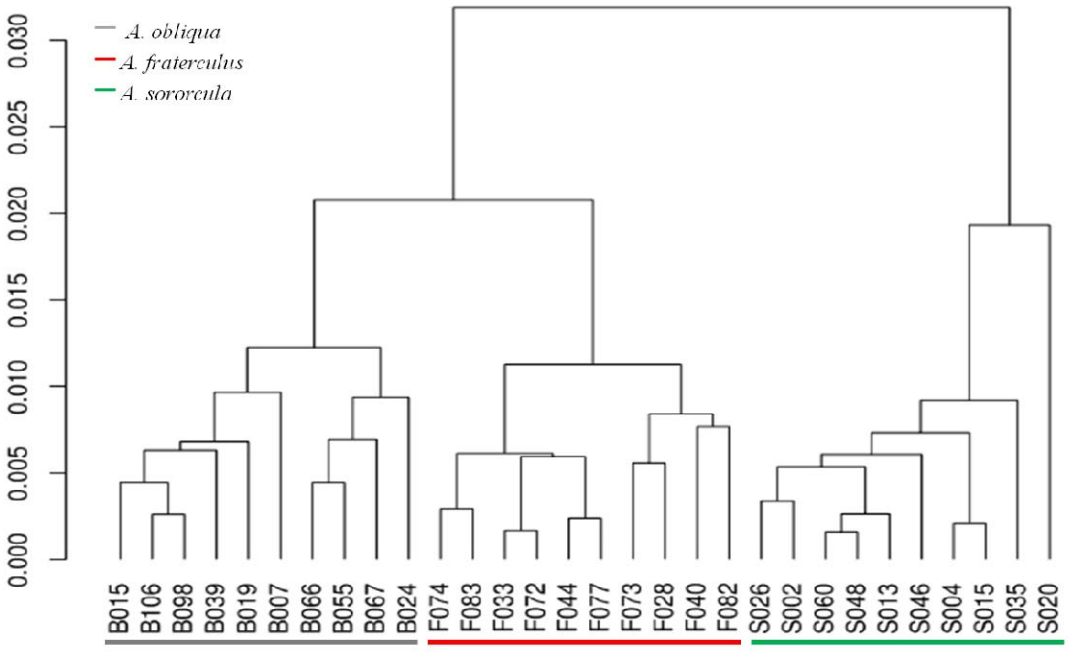


Figura 12 – Fenograma de três espécies de *Anastrepha* do grupo *fraterculus* gerado a partir de análise de *cluster* (UPGMA) com base em sete medidas do ápice do acúleo

4.2.4 Associação de *Anastrepha fraterculus* com o hospedeiro por meio da morfometria do acúleo

Pela análise discriminante linear (ADL), foi possível identificar os indivíduos de *A. fraterculus* provenientes dos três hospedeiros. Os indivíduos provenientes de goiaba e de nêspera separaram-se no eixo 1 (Figura 13). Houve grande sobreposição entre os indivíduos *A. fraterculus* de pêssego com os de goiaba e nêspera, não sendo possível separá-los.

Pela análise de *cluster* (UPGMA), com todas as medidas do ápice do acúleo, não foi possível separar *A. fraterculus* de cada hospedeiro em grupos distintos (Figura 14).

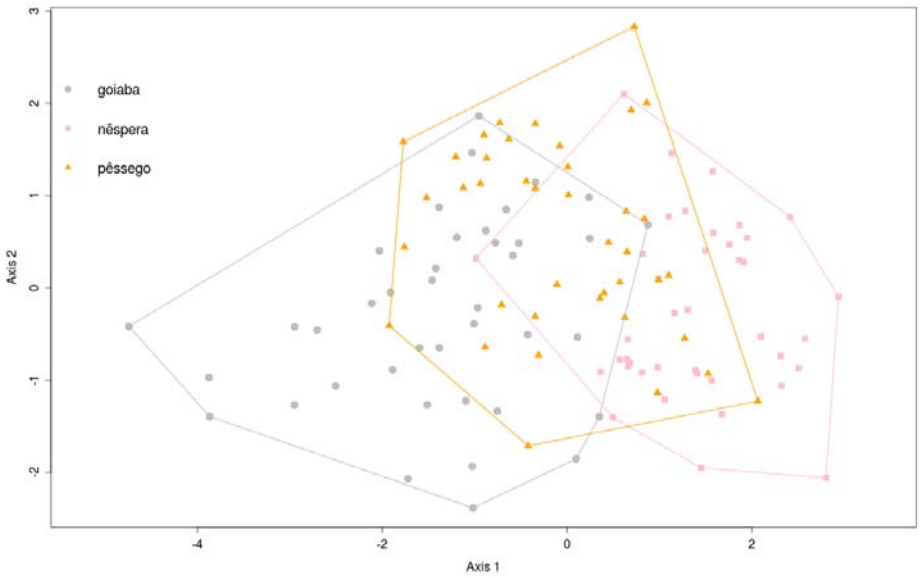


Figura 13 - Valores nos dois primeiros eixos de ADL na associação de *A. fraterculus* provenientes de três hospedeiros a partir de variáveis de forma e tamanho do acúleo

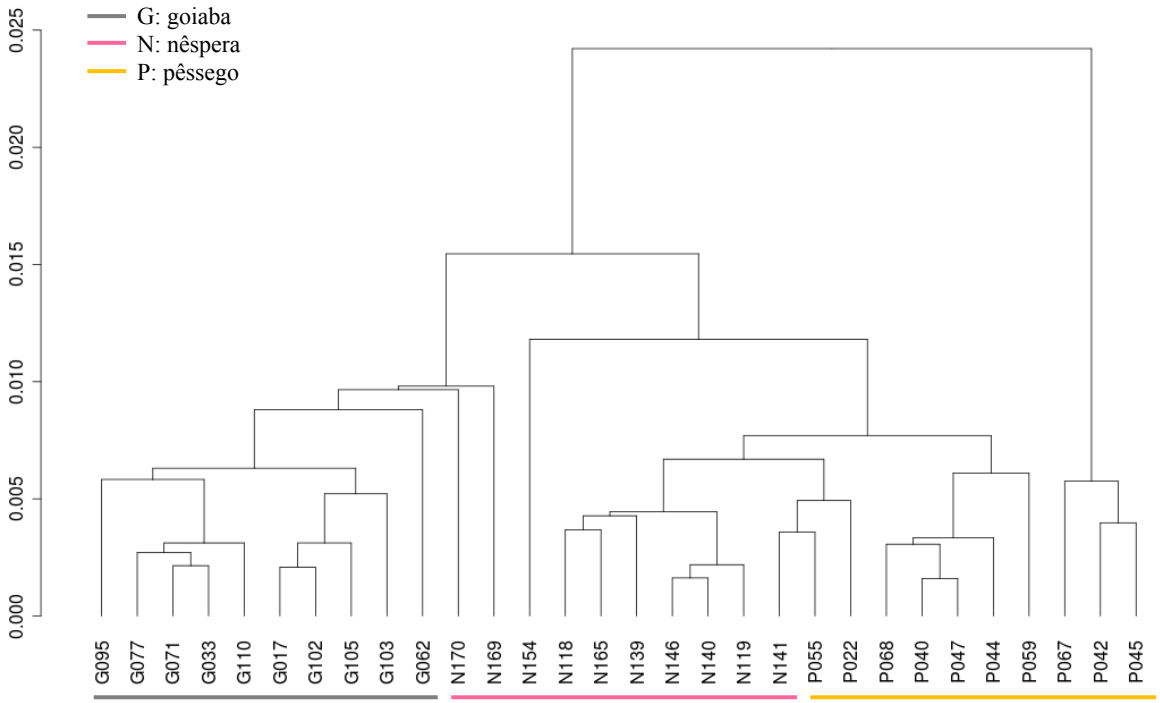


Figura 14 - Fenograma de *A. fraterculus* proveniente de três hospedeiros, gerado a partir de sete medidas do ápice do acúleo

Ao estudar espécies do grupo *fraterculus*, Araujo; Nascimento e Zucchi (1998), por meio da análise discriminante e análise de *cluster* com base nas medidas do acúleo, mostraram não ser possível separar populações de uma mesma espécie do grupo *fraterculus.* Porém, compararam populações de diferentes regiões e hospedeiros, coletados tanto em armadilhas quanto diretamente do fruto. Neste estudo, foram comparados apenas indivíduos de diferentes hospedeiros, em uma mesma região, o que justificaria o resultado positivo da análise discriminante.

O acúleo dos tefritídeos possui uma clara função adaptativa e suas dimensões estão ajustadas ao substrato de oviposição (WHITE; MARQUADT, 1989). Assim, era esperado que as medidas dos acúleos variassem em relação ao hospedeiro de forma mais acentuada que as medidas das asas. Porém, ao contrário do esperado, a variação intraespecífica com base na forma dos acúleos foi menor que a encontrada com base nas características da forma das asas. Provavelmente, os três hospedeiros (goiaba, nêspera e pêssegos) apresentam condições morfológicas do epicarpo (fino e raso) e grossura de polpa semelhantes quanto a penetração acúleo de *A. fraterculus*.

5 CONCLUSÕES

- A análise de imagens e a morfometria são eficientes na separação de *Anastrepha fraterculus, A. obliqua* e *A. sororcula.*
- A análise de imagens e a morfometria (com excessão da análise de *cluster*) são eficientes na separação de *Anastrepha fraterculus* provenientes de goiaba, nêspera e pêssego.
- O *software* WEKA é efetivo na classificação das imagens da asa e do acúleo para a separação de *A. fraterculus*, *A. obliqua* e *A. sororcula* e para a separação de *A. fraterculus* provenientes de goiaba, nêspera e pêssego.

REFERÊNCIAS

AGRESTI, A. **Categorical data analysis**. New York: Wiley-Interscience, 1990. 703p.

ALENCAR-SOUZA, J.M.G. **Caracterização de populações de espécies de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) no Rio Grande do Norte, através de morfometria multivariada.** 1998. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

ARAUJO, E.L. **Estudo morfométrico no acúleo de cinco espécies de *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae) do grupo *fraterculus.*** 1997. 91 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

ARAUJO, E.L.; NASCIMENTO, F.M.; ZUCCHI, R.A. Utilização de análise discriminante em estudos taxonômicos de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera, Tephritidae). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, p. 105-110, 1998.

ARBUCKLE, B.; SCHROEDER, S.; STEINHAGE, V.; WITTMANN, D. Biodiverssity Informatics in Action: identification and Monitoring of Bee Species using ABIS. In: 15th INTERNATIONAL SYMPOSIUM FOR ENVIRONMENTAL PROTECTION, 15., 2001, Zurich. p. 425–430.

BAGATINI, D.F. **Assimetria morfológica em *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) em uma amostra de população natural e em amostras de laboratório submetidas a diferentes temperaturas.** 2007. 60 p. Dissertação (Mestrado em Genética) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

BAYLAC, M.; VILLEMANT, C.; SIMBOLOTTI, G. Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. **Biological Jounal of the Linnean Society**, Oxford, v. 80, p. 89-98, 2003.

BOOKSTEIN, F.L. **Morfometric tools for landmark data.** Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 435p.

BORTOLUS, A. Error cascades in the biological sciences: the unwanted consequences of using bad taxonomy in ecology. **AmBio**, Stockholm, v. 37, p. 114-118, 2008.

CHALMERS, N. R. Monitoring and inventorying biodiversity: collections, data and training. In: DI CASTRI, F.; YOUNES, T. (Ed.). **Biodiversity science and development:** toward a new partnership. Wallingford: CAB International, 1996. p. 171-179.

DALY, H.V.; HOELMER, K.; NORMAN, P.; ALLEN, T. Computer-assisted measurement and identification of honey bees (Hymenoptera: Apidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 75, n. 6, p. 591-594, 1982.

FEDOR, P.; MALENOVSKY´, I.; VAN˘ HARA, J.; SIERKA, W.; HAVEL, J. Thrips (Thysanoptera) identification using artificial neural networks. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 98, p. 437–447, 2008.

FEDOR, P.; VAN HARA, J.; HAVEL, J., MALENOVSKY, I.; SPELLERBERG, I. Artificial intelligence in pest insect monitoring. **Systematic Entomology**, Oxford, v. 34, p. 398-400, 2009.

GASTON, K.J.; O'NEIL, M.A.L. Automated species identification: why not? **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences,** London, v. 359, p. 655-667, 2004.

GODFRAY, H.C.J. Challenge for taxonomy: the discipline will have to reinvent itself if it is to survive and flourish. **Nature**, London, v. 417, p. 17-19, 2002.

GOTTHARD, K.; NYLIN, S. Adaptive plasticity and plasticity as an adaptation – a selective review of plasticity in animal morphology and life-history. **Oikos**, Malden, v. 74, p. 3-17, 1995.

HALL, M.; FRANK, E.; HOLMES, G.; PFAHRINGER, B.; REUTEMANN, P.; WITTEN, I.H. The WEKA data mining software: an update. **SIGKDD Explorations,** Ney York, v. 11, n. 1, p. 10-18, 2009.

HEBERT, P.D.N.; GREGORY, T.R. The promise of DNA barcoding for taxonomy. **Systematic Biology**, Oxford, v. 54, p. 852-859, 2005.

HEBERT, P.D.N.; CYWINSKA, A.S.; GALL, L.; DE WAARD, J.R. Biological identification through DNA Barcodes. **Proceedings of Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 270, p. 313-332, 2003.

HERNANDEZ-ORTIZ, V.; GOMEZ-ANAYA, J.A.; SANCHEZ, A. G.; McPHERON, A.; ALUJA, M. Morphometric analysis of Mexican and South American populations of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae) and recognition of a distinct Mexican morphotype. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 94, p. 487-499, 2004.

HOULE, D., MEZEY, J.; GALPERN, P.; CARTER, A. Automated measurement of *Drosophila* wings. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 3, p. 25-38, 2003.

JORGE, L.R.; CORDEIRO-ESTRELA, P.; KLACZKO, L.G.; MOREIRA, G.R.P.; FREITAS, A.V.L. Host-plant dependent wing phenotypic variation in the neotropical butterfly *Heliconius erato.* **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 102, p. 765–774, 2011.

LaSALLE. J.; WHEELER, Q.; JACKWAY, P. WINTERTON, S.; HOBERN, D. LOVELL, D. accelerating taxonomic discovery through automated extraction. **Zootaxa**, Auckland, v. 2217, p. 43-55, 2009.

LATIN, J.D.; KNUTSON, L. Taxonomic information and services on arthropods of importance to human welfare in Central and South America. **FAO Plant Protection Bulletin**. Taiwan, v. 30, p. 92-95, 1982.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. **Numerical ecology**. New York: Elsevier, 1998. 853p.

LEWINSOHN, T.M. **Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2006. 2 v.

LOPES, G.N. **Análise morfométrica e molecular de morfotipos do complexo *fraterculus* (Diptera, Tephritidae, *Anastrepha*) de duas populações do Paraguai.** 2011. 101 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

LYTLE, D.A.; MARTINEZ-MUNOZ, G.; ZHANG, W.; SHAPIRO, L.; MOLDENKE, A.; MORTENSEN, E.N.; TODOROVIC, S.; DIETTERICH, T.G. Automated processing and identification of benthic invertebrate samples. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 29, n. 3, p. 867-874, 2010.

MacLEOD, N.; GENFIELD, M.; CULVERHOUSE, P. Time to automate identification. **Nature**, London, v. 467, p. 154-155, 2010.

MARTINEZ-MUNOZ, G.; ZHANG, W.; PAYET, N.; TODOROVIC, S.; MORTENSEN, E.; PAASCH, R.; SHAPIRO, L.; DIETTERICH, T. Dictionary-free categorization of very similar objects via stacked evidence trees. **Computer Vision and Pattern Recognition**, Cornel, p. 549-556, 2009.

MAY, R.M. Taxonomy as destiny. **Nature**, London, v. 347, p. 129-130, 1990.

MAYO, M.; WATSON, A.T. Automatic species identification of live moths. **Knowledge-based Systems**, Amsterdam, v. 20, p. 195-202, 2007.

MITTEROECKER, P.; GUNZ, P. Advances in geometric morphometrics. **Evolutionary Biology**, New York, v. 36, p. 235-247, 2009.

MONTEIRO, L.R.; REIS, S.F. **Princípios de morfometria geométrica.** Ribeirão Preto: Holos Editora, 1999. 188 p.

NASCIMENTO, F.M. do. **Análises morfométricas em duas espécies do complexo *Anastrepha fraterculus* Wiedemann (Diptera, Tephritidae) e inferências genéticas a partir do cruzamento interespecífico.** 2000. 98 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Evolutiva) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

_____. **Morfometria geométrica aplicada ao estudo de variações alares em espécies de *Anastrepha* (Diptera, Tephritidae).** 2005. 84 p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Evolutiva) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

NAVARRO-CAMPOS, C.; MARTINEZ-FERRER, M.T.; CAMPOS, J.M.; FIGLA, J.M.; ALCAIDE, J.; GARGUES, L.; MARZAL, C.; GARCIA-MARI, F. The influence of host fruit and temperature on the body size of adult *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) under laboratory and field conditions. **Enviromental Entomology**, Lanham, v. 40, n. 4, p. 931-932, 2011.

NORRBON, A.L.; ZUCCHI, R.A.; HERNANDEZ-ORTIZ, V. Phylogeny of the genera *Anastrepha* and *Toxotrypana* (Trypetinae: Toxotrypanini) based on morphology. In: ALUJA,

M.; NORRBON, A.L. (Ed.). **Fruit flies (Tephritidae):** phylogeny and evolution of behavior. Boca Raton: CRC Press, 1999. p. 299-342.

PARCHEM, R.J.; PERRY, M.W.; PATEL, N.H. Patterns on the insect wing. **Current Opinion in Genetics Development**, London, v. 17, p. 300-308, 2007.

PIGLIUCCI, M.; MURREN, M.; SCHLICHTING, C.D. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 209, p. 2362-2367, 2006.

PRADO, P.I.K.L. **Diferenciação morfológica em função da planta hospedeira em *Tomoplagia tripunctata* e *Tomoplagia incompleta* (Dipetera, Tephritidae).** 1994. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

PRADO, P.I.K.L.; NORRBOM, A.L.; LEWINSOHN, T.M. New species of *Tomoplagia* Coquillet (Diptera: Tephritidae) from capitula of Asteraceae in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 189-211, 2004.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R:** a language and environment for statistical computing. Viena, 2008.

ROHLF, F.J. **Program TpsDig, version 1,40:** stony book. New York: New York State University, Departament of Ecology and Evolution, 2004.

_____. **Program TpsUtil, version 1.38:** stony book. New York: New York State University, Departament of Ecology and Evolution, 2006.

ROHLF, F.J.; MARCUS, L.F. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v. 8, p. 129–132, 1993.

RUSSELL, K.; DO, M.; HUV, J.; PLATNICK, N. Introducing SPIDA-web: wavelets, neural networks and Internet accessibility in an image-based automated identification system, **Systematics Association:** Special Volume Series, San Diego, v. 74, p. 131-152, 2007.

SANTOS, C.G. **Influência dos cactos hospedeiros na variação de caracteres sistemático-taxonômicos nas espécies *Drosophila serido* e *Drosophila antonietae*.** 2011. 66 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Comparada) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

SANTOS, P., URAMOTO, K.; MATIOLI, S.R. Experimental hybridization among *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae): prodution and morphological characterization of F_1 hybrids. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 94, n.5, p. 717-725, 2001.

SARPOLA, M.; PAASCH, R.; MORTENSEN, E.; DIETTERICH, T.; LYTLE, D.Q.; MOLDENE, A.; SHAPIRO, L. An aquatic insect imaging system to automate insect classification. **Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers**, St Joseph, v. 51, p. 2217-2225, 2008.

SELIVON, D. Relações com plantas hospedeiras. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil:** conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2000. p. 87-92.

SELIVON, D.; PERONDINI, A.L.P.; MORGANTE, J.S. A genetic-morphological characterization of two crypticspecies of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 98, p. 367–381, 2005.

SILVA, O.L.R. Controle do trânsito de hospedeiros de moscas-das-frutas. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-ds-frutas de importância econômica no Brasil:** conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2000. p. 29-40.

SMITHCALDAS, M.R.B.; McPHERON, B.A.; SILVA, J.G.; ZUCCHI, R.A. Phylogenetic relationship among species of the *fraterculus* group (*Anastrepha*: Diptera: Tephritidae) inferred from DNA sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 565-573, 2001.

SOUZA FILHO; M.F.; RAGA. A.; ZUCCHI, R.A. São Paulo. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-ds-frutas de importância econômica no Brasil:** conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2000. p. 277-283.

STONE, A. **The fruit flies of the genus *Anastrepha***. Washington: USDA, 1942. 439p.

WEEKS, P.J.D.; GASTON, K.J. Image analysis, neural networks, and the taxonomic impediment to biodiversity studies. **Biodiversity and Conservation**, Dordrecht , v. 6, p. 263-274, 1997.

WEEKS, P.J.D.; O´NEILL, M.A.; GASTON, K.J.; GAULD, I.D. Automating the identification of insects: a new solution to an old problem. **Bulletin of Entomology Research**, Cambridge, v. 87, p. 203-211, 1997.

_____. Automating insect identification: exploring the limitation of a prototype system. **Jounal of Applied Entomology**, Berlin, v. 123, p. 1-8, 1999.

WHEELER, Q.D.; RAVEN, P.H.; WILLSON, E.O. Taxonomy: impediment or expedient? **Science**, Washington, v. 303, p. 285, Sept. 2004.

WHITE, I.M.; MARQUADT, K. A revision of the genus *Chaetorellia* Hendel (Diptera, Tephritidae) including a new species associated with spotted knapweed, *Centaurea maculosa* Lam. (Asteraceae). **Bulletin of Entomology Research**, Cambridge , v. 79, p. 453-487, 1989.

YU, D.S.; KOKKO, E.G.; GARRON, J.R.; SCHAALJE, G.G.; GOWEN, G.E. Identification of icheneumonid wasps using image analysis of wing. **Systematic Entomology**, Oxford, v. 17, p. 389-395, 1992.

ZUCCHI, R.A. **Taxonomia das espécies de *Anastrepha* Schiner, 1968 do complexo *fraterculus* (Diptera, Tephritidae).** 1977. 63 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1978.

_____. Taxonomia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-ds-frutas de importância econômica no Brasil:** conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2000. p. 13-24.

_____. **Fruit flies in Brazil:** *Anastrepha* species and their host plants and parasitoids. 2008. Disponível em: <www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/>. Acesso em:12 set. 2011.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Dados dos indivíduos de *Anastrepha* estudados: táxon, dados de coleta e imagens (1: imagem utilizada na primeira fase, 2: imagens acrescentadas ao primeiro conjunto, utilizadas na segunda fase; E: imagens extras, não foram utilizadas nas análises)

(continua)

Táxon	Código	Cultura	Localidade	Data	asa	acúleo
A. fraterculus	F001	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	---	1
A. fraterculus	F002	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	---	---
A. fraterculus	F003	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F004	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F005	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F006	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F007	tangerina/ponkan	Monte Alegre do Sul - SP	23/05/2003	1	1
A. fraterculus	F008	tangerina/ponkan	Monte Alegre do Sul - SP	24/05/2003	---	1
A. fraterculus	F009	tangerina/ponkan	Monte Alegre do Sul - SP	25/05/2003	1	1
A. fraterculus	F010	tangerina/ponkan	Monte Alegre do Sul - SP	26/05/2003	1	1
A. fraterculus	F011	tangerina/ponkan	Monte Alegre do Sul - SP	27/05/2003	1	1
A. fraterculus	F012	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	---
A. fraterculus	F013	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	01/10/2003	1	1
A. fraterculus	F014	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/10/2003	1	1
A. fraterculus	F015	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	03/10/2003	1	1
A. fraterculus	F016	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. fraterculus	F017	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	07/02/2003	1	1
A. fraterculus	F018	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	07/02/2003	---	1
A. fraterculus	F019	tangerina/ponkan	Monte Alegre do Sul - SP	23/05/2003	---	1
A. fraterculus	F020	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	23/09/2002	1	1
A. fraterculus	F021	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	23/09/2002	1	1
A. fraterculus	F022	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	23/09/2002	1	1
A. fraterculus	F023	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	23/09/2002	1	1
A. fraterculus	F024	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	23/09/2002	---	1
A. fraterculus	F025	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	23/09/2002	1	1
A. fraterculus	F026	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	23/09/2002	1	1
A. fraterculus	F027	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/02/2003	1	1
A. fraterculus	F028	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/02/2003	1	---
A. fraterculus	F029	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	15/02/2003	1	1
A. fraterculus	F030	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	16/02/2003	1	1
A. fraterculus	F031	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	17/02/2003	1	1
A. fraterculus	F032	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	18/02/2003	---	1
A. fraterculus	F033	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	19/02/2003	1	1
A. fraterculus	F034	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1
A. fraterculus	F035	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	
A. fraterculus	F036	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1
A. fraterculus	F037	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1
A. fraterculus	F038	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	---	1
A. fraterculus	F039	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F040	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F041	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F042	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F043	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F044	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F045	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F046	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	1
A. fraterculus	F047	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1
A. fraterculus	F048	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1
A. fraterculus	F049	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1
A. fraterculus	F051	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1
A. fraterculus	F052	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1
A. fraterculus	F053	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1
A. fraterculus	F054	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2002	1	1

APÊNDICE A - Dados dos indivíduos de *Anastrepha* estudados: táxon, dados de coleta e imagens (1: imagem utilizada na primeira fase, 2: imagens acrescentadas ao primeiro conjunto, utilizadas na segunda fase; E: imagens extras, não foram utilizadas nas análises)

(continuação)

Táxon	Código	Cultura	Localidade	Data	asa	acúleo
A. fraterculus	F055	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	2
A. fraterculus	F056	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	2
A. fraterculus	F057	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	2
A. fraterculus	F058	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	1	2
A. fraterculus	F059	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	2	2
A. fraterculus	F060	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	2	2
A. fraterculus	F061	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	30/09/2003	2	2
A. fraterculus	F062	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/02/2003	2	2
A. fraterculus	F063	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2002	2	2
A. fraterculus	F064	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2002	2	2
A. fraterculus	F065	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2002	---	2
A. fraterculus	F066	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2002	2	2
A. fraterculus	F067	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2002	---	2
A. fraterculus	F068	pêssego	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2002	2	2
A. fraterculus	F069	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	16/03/2002	---	2
A. fraterculus	F070	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	16/03/2002	---	---
A. fraterculus	F071	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	16/03/2002	2	2
A. fraterculus	F072	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	16/03/2002	2	2
A. fraterculus	F073	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/02/2003	---	2
A. fraterculus	F074	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	08/03/2002	---	2
A. fraterculus	F075	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	08/03/2002	2	2
A. fraterculus	F076	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	08/03/2002	2	2
A. fraterculus	F077	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	08/03/2002	2	2
A. fraterculus	F078	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	08/03/2002	2	2
A. fraterculus	F079	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F080	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F081	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	---	2
A. fraterculus	F082	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F083	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F084	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F085	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. fraterculus	F086	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. fraterculus	F087	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	25/03/2002	2	2
A. fraterculus	F088	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	25/03/2002	2	2
A. fraterculus	F089	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	25/03/2002	2	2
A. fraterculus	F090	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	25/03/2002	2	2
A. fraterculus	F091	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	25/03/2002	2	2
A. fraterculus	F092	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	25/03/2002	2	2
A. fraterculus	F093	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	25/03/2002	2	2
A. fraterculus	F094	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F095	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F096	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	---	2
A. fraterculus	F097	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F098	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F099	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F100	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F101	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F102	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. fraterculus	F103	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	2
A. fraterculus	F104	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	2
A. fraterculus	F105	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	2

APÊNDICE A - Dados dos indivíduos de *Anastrepha* estudados: táxon, dados de coleta e imagens (1: imagem utilizada na primeira fase, 2: imagens acrescentadas ao primeiro conjunto, utilizadas na segunda fase; E: imagens extras, não foram utilizadas nas análises)

(continuação)

Táxon	Código	Cultura	Localidade	Data	asa	acúleo
A. fraterculus	F105	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	2
A. fraterculus	F106	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	2
A. fraterculus	F107	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	2
A. fraterculus	F108	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	E
A. fraterculus	F109	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	E
A. fraterculus	F110	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	E
A. fraterculus	F111	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	E
A. fraterculus	F112	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	E
A. fraterculus	F113	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	E
A. fraterculus	F114	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	04/04/2003	2	E
A. fraterculus	F115	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	2	E
A. fraterculus	F116	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F117	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F118	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F119	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	16/09/2003	---	E
A. fraterculus	F120	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	16/09/2003	---	E
A. fraterculus	F121	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	---
A. fraterculus	F122	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F123	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F124	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F125	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F126	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. fraterculus	F127	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F128	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. fraterculus	F129	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F130	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F131	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. fraterculus	F132	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	2	E
A. fraterculus	F133	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F134	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F135	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F136	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	16/09/2003	---	E
A. fraterculus	F137	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F138	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F139	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F140	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2003	---	E
A. fraterculus	F141	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F142	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2003	---	E
A. fraterculus	F143	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2003	E	E
A. fraterculus	F144	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. fraterculus	F145	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F146	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F147	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	05/05/2003	E	E
A. fraterculus	F148	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	16/09/2003	E	E
A. fraterculus	F149	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	16/09/2003	E	E
A. fraterculus	F150	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2003	---	E
A. fraterculus	F151	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F152	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F153	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2003	---	E

APÊNDICE A - Dados dos indivíduos de *Anastrepha* estudados: táxon, dados de coleta e imagens (1: imagem utilizada na primeira fase, 2: imagens acrescentadas ao primeiro conjunto, utilizadas na segunda fase; E: imagens extras, não foram utilizadas nas análises)

(continuação)

Táxon	Código	Cultura	Localidade	Data	asa	acúleo
A. fraterculus	F154	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. fraterculus	F155	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F156	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F157	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F158	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F159	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F160	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F161	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F162	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	09/09/2003	---	E
A. fraterculus	F163	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. fraterculus	F164	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. fraterculus	F165	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F166	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. fraterculus	F167	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	16/09/2003	E	E
A. fraterculus	F168	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	16/09/2003	E	E
A. fraterculus	F169	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	16/09/2003	---	E
A. fraterculus	F170	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. fraterculus	F171	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F172	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	---	E
A. fraterculus	F173	nêspera	Monte Alegre do Sul - SP	02/09/2003	E	E
A. obliqua	G001	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G002	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G003	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G004	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G005	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	21/03/2003	1	1
A. obliqua	G006	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2003	1	1
A. obliqua	G007	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	23/03/2003	1	1
A. obliqua	G008	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G009	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G010	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G011	manga	Presidente Prudente - SP	11/01/2007	---	1
A. obliqua	G012	manga	Presidente Prudente - SP	11/01/2007	1	1
A. obliqua	G013	manga	Presidente Prudente - SP	11/01/2007	1	1
A. obliqua	G014	manga	Presidente Prudente - SP	17/01/2007	1	1
A. obliqua	G015	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G016	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G017	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G018	manga	Presidente Prudente - SP	30/11/2006	1	1
A. obliqua	G019	manga	Presidente Prudente - SP	30/11/2006	1	1
A. obliqua	G020	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	1	1
A. obliqua	G021	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	---	1
A. obliqua	G022	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	---	1
A. obliqua	G023	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	14/03/2003	---	1
A. obliqua	G024	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G025	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G026	------	Monte Alegre do Sul - SP	----------	1	1
A. obliqua	G027	manga	Presidente Prudente - SP	----------	1	1
A. obliqua	G028	manga	Presidente Prudente - SP	----------	1	1
A. obliqua	G029	manga	Presidente Prudente - SP	----------	1	1

APÊNDICE A - Dados dos indivíduos de *Anastrepha* estudados: táxon, dados de coleta e imagens (1: imagem utilizada na primeira fase, 2: imagens acrescentadas ao primeiro conjunto, utilizadas na segunda fase; E: imagens extras, não foram utilizadas nas análises)

(continuação)

Táxon	Código	Cultura	Localidade	Data	asa	acúleo
A. obliqua	G030	manga	Presidente Prudente - SP	----------	1	1
A. obliqua	G031	manga	Presidente Prudente -SP	29/12/2005	1	1
A. obliqua	G032	manga	Presidente Prudente - SP	29/12/2005	1	1
A. obliqua	G033	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	1	1
A. obliqua	G034	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	1	1
A. obliqua	G035	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	---	1
A. obliqua	G036	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	---	1
A. obliqua	G037	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	1	1
A. obliqua	G038	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G039	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G040	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G041	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G042	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G043	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G044	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G045	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G046	manga	Presidente Prudente - SP	25/01/2007	1	1
A. obliqua	G047	manga	Presidente Prudente - SP	15/02/2007	1	1
A. obliqua	G048	manga	Presidente Prudente - SP	15/02/2007	1	1
A. obliqua	G049	manga	Presidente Prudente - SP	15/02/2007	1	1
A. obliqua	G050	manga	Presidente Prudente - SP	15/02/2007	1	1
A. obliqua	G051	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	1	2
A. obliqua	G052	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	1	2
A. obliqua	G053	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	1	2
A. obliqua	G054	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	1	2
A. obliqua	G055	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	1	2
A. obliqua	G056	manga	Presidente Prudente - SP	04/01/2007	1	2
A. obliqua	G057	manga	Presidente Prudente - SP	04/01/2007	1	2
A. obliqua	G058	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	2	2
A. obliqua	G059	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	2	2
A. obliqua	G060	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	2	2
A. obliqua	G061	manga	Presidente Prudente - SP	01/03/2007	2	2
A. obliqua	G062	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. obliqua	G063	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. obliqua	G064	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	---	2
A. obliqua	G065	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. obliqua	G066	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. obliqua	G067	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. obliqua	G068	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	01/04/2002	2	2
A. obliqua	G069	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G070	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G071	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G072	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G073	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G074	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G075	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G076	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	30/03/2002	2	2
A. obliqua	G077	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G078	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2

APÊNDICE A - Dados dos indivíduos de *Anastrepha* estudados: táxon, dados de coleta e imagens (1: imagem utilizada na primeira fase, 2: imagens acrescentadas ao primeiro conjunto, utilizadas na segunda fase; E: imagens extras, não foram utilizadas nas análises)

(continuação)

Táxon	Código	Cultura	Localidade	Data	asa	acúleo
A. obliqua	G079	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G080	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G081	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G082	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. obliqua	G083	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. obliqua	G084	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. obliqua	G085	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. obliqua	G086	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. obliqua	G087	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. obliqua	G088	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. obliqua	G089	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. obliqua	G090	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. obliqua	G091	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. obliqua	G092	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. obliqua	G093	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G094	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G095	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. obliqua	G096	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. obliqua	G097	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. obliqua	G098	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	18/03/2002	2	2
A. obliqua	G099	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	18/03/2002	2	2
A. obliqua	G100	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	18/03/2002	2	E
A. obliqua	G101	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	18/03/2002	2	E
A. obliqua	G102	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	18/03/2002	2	E
A. obliqua	G103	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	18/03/2002	2	E
A. obliqua	G104	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	18/03/2002	2	E
A. obliqua	G105	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	E
A. obliqua	G106	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	18/03/2002	2	E
A. obliqua	G107	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	16/03/2002	2	E
A. obliqua	G108	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	16/03/2002	2	E
A. sororcula	S001	goiaba	Monte Alto - SP	11/03/2003	1	1
A. sororcula	S002	goiaba	Monte Alto - SP	11/03/2003	---	1
A. sororcula	S003	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2003	1	1
A. sororcula	S004	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	16/03/2002	1	1
A. sororcula	S005	-----	----------	----------	1	1
A. sororcula	S006	-----	----------	----------	1	1
A. sororcula	S007	-----	----------	----------	1	1
A. sororcula	S008	-----	----------	----------	1	1
A. sororcula	S009	-----	----------	----------	1	1
A. sororcula	S010	-----	----------	----------	1	1
A. sororcula	S011	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	05/03/2002	1	1
A. sororcula	S012	-----	Monte Alegre do Sul - SP	----------	1	1
A. sororcula	S013	-----	Monte Alegre do Sul - SP	----------	---	1
A. sororcula	S014	-----	Monte Alegre do Sul - SP	----------	---	1
A. sororcula	S015	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	1	1
A. sororcula	S016	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	1	1
A. sororcula	S017	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	---	1
A. sororcula	S018	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	1	1
A. sororcula	S019	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	1	1

APÊNDICE A - Dados dos indivíduos de *Anastrepha* estudados: táxon, dados de coleta e imagens (1: imagem utilizada na primeira fase, 2: imagens acrescentadas ao primeiro conjunto, utilizadas na segunda fase; E: imagens extras, não foram utilizadas nas análises)

(continuação)

Táxon	Código	Cultura	Localidade	Data	asa	acúleo
A. sororcula	S021	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	1	1
A. sororcula	S022	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	1	1
A. sororcula	S023	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	1	1
A. sororcula	S024	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	1	1
A. sororcula	S025	goiaba	Monte Alto - SP	11/02/2004	1	1
A. sororcula	S026	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S027	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S028	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S029	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S030	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S031	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S032	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S033	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S034	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S035	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S036	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S037	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S038	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S039	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S040	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S041	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S042	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S043	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S044	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S045	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S046	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S047	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	---	1
A. sororcula	S048	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S049	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S050	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	1
A. sororcula	S051	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	E
A. sororcula	S052	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	2
A. sororcula	S053	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	2
A. sororcula	S054	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	2
A. sororcula	S055	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	1	2
A. sororcula	S056	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	2	---
A. sororcula	S057	goiaba	Monte Alto - SP	28/01/2004	2	E
A. sororcula	S058	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. sororcula	S059	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. sororcula	S061	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	05/04/2002	2	2
A. sororcula	S062	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	05/04/2002	2	2
A. sororcula	S063	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. sororcula	S064	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	E
A. sororcula	S065	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. sororcula	S066	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. sororcula	S067	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. sororcula	S068	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. sororcula	S069	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. sororcula	S070	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	3	2

APÊNDICE A - Dados dos indivíduos de *Anastrepha* estudados: táxon, dados de coleta e imagens (1: imagem utilizada na primeira fase, 2: imagens acrescentadas ao primeiro conjunto, utilizadas na segunda fase; E: imagens extras, não foram utilizadas nas análises)

(continuação)

Táxon	**Código**	**Cultura**	**Localidade**	**Data**	**asa**	**acúleo**
A. sororcula	S071	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	---
A. sororcula	S072	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. sororcula	S073	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	E
A. sororcula	S074	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	E
A. sororcula	S075	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. sororcula	S076	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. sororcula	S077	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	---	2
A. sororcula	S078	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	E
A. sororcula	S079	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	E
A. sororcula	S080	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. sororcula	S081	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. sororcula	S082	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. sororcula	S083	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. sororcula	S084	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	E	E
A. sororcula	S085	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	---	2
A. sororcula	S086	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	E	E
A. sororcula	S087	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. sororcula	S088	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	E
A. sororcula	S089	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	E	2
A. sororcula	S090	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. sororcula	S091	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. sororcula	S092	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. sororcula	S093	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. sororcula	S094	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. sororcula	S095	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. sororcula	S096	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	E
A. sororcula	S097	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	---	2
A. sororcula	S098	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. sororcula	S099	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	E
A. sororcula	S100	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. sororcula	S101	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	E
A. sororcula	S102	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. sororcula	S103	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	E
A. sororcula	S104	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. sororcula	S105	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. sororcula	S106	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	2
A. sororcula	S107	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	E	2
A. sororcula	S108	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	2
A. sororcula	S109	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	29/03/2002	2	E
A. sororcula	S110	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	E	E
A. sororcula	S111	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	12/03/2002	2	2
A. sororcula	S112	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	2	---
A. sororcula	S113	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	E	E
A. sororcula	S114	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	E	2
A. sororcula	S115	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	E	2
A. sororcula	S116	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	2
A. sororcula	S117	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	E	2
A. sororcula	S118	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	2	E
A. sororcula	S119	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	22/03/2002	E	2

APÊNDICE A - Dados dos indivíduos de *Anastrepha* estudados: táxon, dados de coleta e imagens (1: imagem utilizada na primeira fase, 2: imagens acrescentadas ao primeiro conjunto, utilizadas na segunda fase; E: imagens extras, não foram utilizadas nas análises)

(conclusão)

Táxon	**Código**	**Cultura**	**Localidade**	**Data**	**asa**	**acúleo**
A. sororcula	S120	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	E	E
A. sororcula	S121	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	E	2
A. sororcula	S122	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	E	2
A. sororcula	S123	goiaba	Monte Alegre do Sul - SP	26/03/2002	E	2

APÊNDICE B - Resultados das análises de imagens da asa de três espécies de *Anastrepha* (frat: *A. fraterculus*, obli: *A. obliqua*, soro: *A. sororcula*), utilizando SVM + LCH com segmentação OTSU

(continua)

ASA: SVM + LCH com Segmentação OTSU															
Ima-	**Fold 1**			**Fold 2**			**Fold 3**			**Fold4**			**Fold 5**		
gem	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**
Ac.		**82%**			**87%**			**97%**			**88%**			**85%**	
Erros		**11**			**8**			**2**			**7**			**9**	
1	F043	frat	frat	F005	frat	frat	F103	frat	frat	F027	frat	frat	F090	frat	frat
2	F053	frat	frat	F064	frat	frat	F051	frat	frat	F110	frat	frat	F079	frat	frat
3	F028	frat	frat	***F026***	***frat***	***obli***	F132	frat	frat	F057	frat	frat	F111	frat	frat
4	F108	frat	frat	F040	frat	frat	F109	frat	frat	F054	frat	frat	***F084***	***frat***	***obli***
5	F078	frat	frat	F115	frat	frat	F086	frat	frat	F028	frat	frat	F023	frat	frat
6	F045	frat	frat	F109	frat	frat	F046	frat	frat	***F007***	***frat***	***obli***	F049	frat	frat
7	F113	frat	frat	F107	frat	frat	F045	frat	frat	F033	frat	frat	F005	frat	frat
8	F062	frat	frat	F017	frat	frat	F006	frat	frat	F034	frat	frat	F021	frat	frat
9	F095	frat	frat	F047	frat	frat	F021	frat	frat	F105	frat	frat	F072	frat	frat
10	F016	frat	frat	F009	frat	frat	F106	frat	frat	F023	frat	frat	F056	frat	frat
11	***F035***	***frat***	***soro***	F082	frat	frat	F005	frat	frat	F022	frat	frat	F060	frat	frat
12	F003	frat	frat	F083	frat	frat	F080	frat	frat	F112	frat	frat	***F099***	***frat***	***obli***
13	F006	frat	frat	F061	frat	frat	F015	frat	frat	F090	frat	frat	F088	frat	frat
14	F093	frat	frat	F048	frat	frat	***F084***	***frat***	***obli***	***F099***	***frat***	***obli***	***F035***	***frat***	***soro***
15	F051	frat	frat	F054	frat	frat	F014	frat	frat	F063	frat	frat	F027	frat	frat
16	F039	frat	frat	F044	frat	frat	F098	frat	frat	F014	frat	frat	***F094***	***frat***	***soro***
17	F105	frat	frat	***F003***	***frat***	***obli***	F037	frat	frat	F004	frat	frat	F082	frat	frat
18	F090	frat	frat	F066	frat	frat	F064	frat	frat	F095	frat	frat	F015	frat	frat
19	F036	frat	frat	F078	frat	frat	F092	frat	frat	F072	frat	frat	F006	frat	frat
20	F030	frat	frat	F103	frat	frat	F114	frat	frat	F114	frat	frat	F048	frat	frat
21	S064	soro	soro	S025	soro	soro	S027	soro	soro	S082	soro	soro	S064	soro	soro
22	S068	soro	soro	S090	soro	soro	S075	soro	soro	S050	soro	soro	S063	soro	soro
23	S042	soro	soro	S038	soro	soro	S063	soro	soro	S087	soro	soro	S042	soro	soro
24	S079	soro	soro	S036	soro	soro	S024	soro	soro	S105	soro	soro	S101	soro	soro
25	S004	soro	soro	***S009***	***soro***	***frat***	S104	soro	soro	S088	soro	soro	S039	soro	soro
26	S036	soro	soro	S041	soro	soro	S029	soro	soro	S074	soro	soro	S074	soro	soro
27	S109	soro	soro	S067	soro	soro	S118	soro	soro	S064	soro	soro	S068	soro	soro
28	S022	soro	soro	S020	soro	soro	S046	soro	soro	***S010***	***soro***	***obli***	S072	soro	soro
29	S073	soro	soro	***S010***	***soro***	***obli***	S052	soro	soro	S111	soro		S078	soro	soro
30	S099	soro	soro	S054	soro	soro	S088	soro	soro	***S080***	***soro***	***frat***	S052	soro	soro
31	S051	soro	soro	S064	soro	soro	S019	soro	soro	***S094***	***soro***	***frat***	S044	soro	soro
32	S057	soro	soro	S030	soro	soro	S069	soro	soro	S102	soro	soro	S109	soro	soro
33	S056	soro	soro	S098	soro	soro	S082	soro	soro	S062	soro	soro	S069	soro	soro
34	***S008***	***soro***	***frat***	S105	soro	soro	S102	soro	soro	S123	soro	soro	S065	soro	soro
35	S024	soro	soro	S083	soro	soro	S003	soro	soro	S027	soro	soro	***S008***	***soro***	***frat***
36	S106	soro	soro	***S058***	***soro***	***obli***	S083	soro	soro	S078	soro	soro	S103	soro	soro
37	S033	soro	soro	***S061***	***soro***	***obli***	S040	soro	soro	S051	soro	soro	***S060***	***soro***	***obli***
38	S095	soro	soro	S068	soro	soro	S076	soro	soro	S098	soro	soro	S059	soro	soro
39	***S001***	***soro***	***frat***	S011	soro	soro	S111	soro	soro	S020	soro	soro	S080	soro	soro
40	S025	soro	soro	S016	soro	soro	S016	soro	soro	***S008***	***soro***	***frat***	S079	soro	soro
41	B070	obli	obli	B097	obli	obli	B007	obli	obli	B049	obli	obli	***B016***	***obli***	***frat***
42	B105	obli	obli	B002	obli	obli	B107	obli	obli	B058	obli	obli	B007	obli	obli
43	B084	obli	obli	B043	obli	obli	***B046***	***obli***	***frat***	B043	obli	obli	B099	obli	obli
44	B094	obli	obli	***B065***	***obli***	***frat***	B065	obli	obli	B100	obli	obli	B034	obli	obli
45	B020	obli	obli	B045	obli	obli	B054	obli	obli	B033	obli	obli	***B020***	***obli***	***frat***
46	***B001***	***obli***	***frat***	B034	obli	obli	B066	obli	obli	B032	obli	obli	B102	obli	obli

APÊNDICE B - Resultados das análises de imagens da asa de três espécies de *Anastrepha* (frat: *A. fraterculus*, obli: *A. obliqua*, soro: *A. sororcula*), utilizando SVM + LCH com segmentação OTSU

(conclusão)

ASA: SVM + LCH com Segmentação OTSU															
Ima-gem	**Fold 1**			**Fold 2**			**Fold 3**			**Fold4**			**Fold 5**		
	Cód.	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**
47	***B031***	***obli***	***frat***	B065	obli	obli	B015	obli	obli	B052	obli	obli	B004	obli	obli
48	B061	obli	obli	B030	obli	obli	B058	obli	obli	B073	obli	obli	B094	obli	obli
49	***B012***	***obli***	***soro***	B051	obli	obli	B061	obli	obli	B062	obli	obli	***B079***	***obli***	***soro***
50	***B039***	***obli***	***soro***	***B082***	***obli***	***soro***	B004	obli	obli	B094	obli	obli	B069	obli	obli
51	B027	obli	obli	B025	obli	obli	B008	obli	obli	B082	obli	obli	B038	obli	obli
52	B058	obli	obli	B042	obli	obli	B048	obli	obli	B045	obli	obli	B068	obli	obli
53	B007	obli	frat	B072	obli	obli	B078	obli	obli	B028	obli	obli	B095	obli	obli
54	B060	obli	obli	B107	obli	obli	B084	obli	obli	B072	obli	obli	B015	obli	obli
55	B054	obli	obli	B078	obli	obli	B019	obli	obli	B059	obli	obli	B009	obli	obli
56	B038	obli	frat	B026	obli	obli	B002	obli	obli	B091	obli	obli	B044	obli	obli
57	B003	obli	frat	B038	obli	obli	B072	obli	obli	B029	obli	obli	B104	obli	obli
58	B048	obli	obli	B103	obli	obli	B089	obli	obli	B097	obli	obli	B080	obli	obli
59	B073	obli	obli	B068	obli	obli	B060	obli	obli	B025	obli	obli	B062	obli	obli
60	B077	obli	obli	B004	obli	obli	B012	obli	obli	B076	obli	frat	B103	obli	obli
61	B082	obli	soro	B046	obli	obli	B101	obli	obli	B093	obli	obli	B088	obli	obli

APÊNDICE C - Resultados das análises de imagens da asa de *A. fraterculus* provenientes de três hospedeiras (G: goiaba, N: nêspera, P: pêssego), utilizando SVM + LCH com segmentação OTSU

ASA: SVM + LCH com Segmentação OTSU															
Ima-	**Fold 1**			**Fold 2**			**Fold 3**			**Fold4**			**Fold 5**		
gem	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**
Ac.		**91%**			**79%**			**79%**			**75%**			**87%**	
Erros		**2**			**5**			**5**			**6**			**3**	
1	N134	N	N	N140	N	N	N129	N	N	N134	N	N	N146	N	N
2	N160	N	N	N160	N	N	N138	N	N	N156	N	N	N138	N	N
3	N146	N	N	N117	N	N	N136	N	N	N158	N	N	N145	N	N
4	N151	N	N	N137	N	N	N135	N	N	N136	N	N	N134	N	N
5	N133	N	N	***N122***	***N***	***G***	N160	N	N	N142	N	N	N141	N	N
6	N124	N	N	N136	N	N	N158	N	N	N146	N	N	N137	N	N
7	N130	N	N	N135	N	N	N127	N	N	N165	N	N	N157	N	N
8	N142	N	N	N169	N	N	N133	N	N	N133	N	N	N155	N	N
9	G093	G	G	G027	G	G	***G084***	***G***	***P***	G107	G	G	G115	G	G
10	G097	G	G	***G099***	***G***	***P***	G097	G	G	***G084***	***G***	***P***	G113	G	G
11	G108	G	G	G106	G	G	G079	G	G	***G094***	***G***	***N***	G083	G	G
12	G076	G	G	G108	G	G	G027	G	G	***G097***	***G***	***P***	G077	G	G
13	G111	G	G	G101	G	G	***G016***	***G***	***N***	***G031***	***G***	***P***	G108	G	G
14	G106	G	G	***G084***	***G***	***P***	G100	G	G	G102	G	G	G105	G	G
15	G092	G	G	G033	G	G	G086	G	G	G079	G	G	G101	G	G
16	***G031***	***G***	***P***	***G031***	***G***	***P***	G105	G	G	***G099***	***G***	***P***	G072	G	G
17	P063	P	P	P039	P	P	***P052***	***P***	***G***	P022	P	P	P058	P	P
18	P025	P	P	P055	P	P	P039	P	P	***P015***	***P***	***G***	***P045***	***P***	***G***
19	P041	P	P	P035	P	P	P050	P	P	P044	P	P	***P068***	***P***	***G***
20	P046	P	P	P063	P	P	P055	P	P	P054	P	P	P057	P	P
21	P059	P	P	P020	P	P	***P014***	***P***	***N***	P046	P	P	P063	P	P
22	P039	P	P	P048	P	P	***P064***	***P***	***G***	P060	P	P	P049	P	P
23	P049	P	P	***P012***	***P***	***G***	P035	P	P	P059	P	P	P042	P	P
24	***P014***	***P***	***G***	P060	P	P	P025	P	P	P004	P	P	***P014***	***P***	***G***

APÊNDICE D - Resultados das análises de imagens do acúleo de três espécies de *Anastrepha* (frat: *A. fraterculus*, obli: *A. obliquai*, soro: *A. sororcula*), utilizando SVM + EOAC – 288f

(continua)

ACÚLEO: SVM + EOAC – 288f

Ima-gem	Fold 1			Fold 2			Fold 3			Fold4			Fold 5		
	Cód.	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**
Ac.		**93%**			**90%**			**85%**			**90%**			**93%**	
Erros		**4**			**5**			**9**			**5**			**4**	
1	B052	obli	obli	B018	obli	obli	B078	obli	obli	B017	obli	obli	B039	obli	obli
2	B039	obli	obli	B044	obli	obli	B013	obli	obli	B029	obli	obli	B060	obli	obli
3	B024	obli	obli	B025	obli	obli	***B002***	***obli***	***soro***	B030	obli	obli	B022	obli	obli
4	B042	obli	obli	B020	obli	obli	B084	obli	obli	B028	obli	obli	B038	obli	obli
5	***B032***	***obli***	***soro***	B043	obli	obli	B062	obli	obli	B024	obli	obli	B059	obli	obli
6	B100	obli	obli	B051	obli	obli	***B072***	***obli***	***soro***	B042	obli	obli	B057	obli	obli
7	B012	obli	obli	B095	obli	obli	B040	obli	obli	B088	obli	obli	B018	obli	obli
8	B030	obli	obli	B100	obli	obli	B065	obli	obli	***B069***	***obli***	***soro***	B040	obli	obli
9	B054	obli	obli	B014	obli	obli	***B031***	***obli***	***soro***	B102	obli	obli	B088	obli	obli
10	B047	obli	obli	b046	obli	obli	B081	obli	obli	B067	obli	obli	B005	obli	obli
11	B041	obli	obli	***B072***	***obli***	***soro***	B018	obli	obli	B023	obli	obli	B090	obli	obli
12	B097	obli	obli	B049	obli	obli	B061	obli	obli	B058	obli	obli	B079	obli	obli
13	B065	obli	obli	B064	obli	obli	B024	obli	obli	B039	obli	obli	B013	obli	obli
14	B037	obli	obli	B101	obli	obli	B038	obli	obli	B079	obli	obli	B041	obli	obli
15	B013	obli	obli	B058	obli	obli	B033	obli	obli	B100	obli	obli	B017	obli	obli
16	B067	obli	obli	***B036***	***obli***	***soro***	***B004***	***obli***	***soro***	B033	obli	obli	B015	obli	obli
17	B102	obli	obli	B097	obli	obli	B066	obli	obli	B019	obli	obli	***B068***	***obli***	***soro***
18	B008	obli	obli	B055	obli	obli	B048	obli	obli	B054	obli	obli	B024	obli	obli
19	B043	obli	obli	***B032***	***obli***	***soro***	B094	obli	obli	B003	obli	obli	***B065***	***obli***	***soro***
20	B014	obli	obli	B078	obli	obli	B011	obli	obli	B011	obli	obli	B051	obli	obli
21	S026	soro	soro	S014	obli	obli	***S095***	***soro***	***obli***	S077	soro	soro	S026	soro	soro
22	S076	soro	soro	S029	soro	soro	***S092***	***soro***	***obli***	S075	soro	soro	S115	soro	soro
23	S048	soro	soro	***S117***	***soro***	***obli***	S108	soro	soro	S028	soro	soro	S007	soro	soro
24	S055	soro	soro	S042	soro	soro	S094	soro	soro	S008	soro	soro	S022	soro	soro
25	S107	soro	soro	S061	soro	soro	S081	soro	soro	S063	soro	soro	S035	soro	soro
26	S090	soro	soro	***S116***	***soro***	***obli***	***S114***	***soro***	***obli***	S066	soro	soro	S005	soro	soro
27	S011	soro	soro	S047	soro	soro	***S102***	***soro***	***obli***	S026	soro	soro	S62	soro	soro
28	S050	soro	soro	S036	soro	soro	S085	soro	soro	S047	soro	soro	S105	soro	soro
29	S058	soro	soro	S060	soro	soro	S052	soro	soro	S102	soro	soro	S049	soro	soro
30	S018	soro	soro	S30	soro	soro	S017	soro	soro	S059	soro	soro	S052	soro	soro
31	***S116***	***soro***	***obli***	S026	soro	soro	S072	soro	soro	***S112***	***soro***	***obli***	S106	soro	soro
32	S100	soro	soro	S046	soro	soro	***S097***	***soro***	***obli***	S080	soro	soro	S011	soro	soro
33	S023	soro	soro	S081	soro	soro	S077	soro	soro	S029	soro	soro	***S097***	***soro***	***obli***
34	S003	soro	soro	S008	soro	soro	S080	soro	soro	S004	soro	soro	S067	soro	soro
35	***S097***	***soro***	***obli***	S002	soro	soro	S050	soro	soro	S095	soro	soro	S003	soro	soro
36	S020	soro	soro	S070	soro	soro	S002	soro	soro	***S049***	***soro***	***obli***	***S013***	***soro***	***obli***
37	S019	soro	soro	S035	soro	soro	S012	soro	soro	***S119***	***soro***	***obli***	S33	soro	soro
38	S068	soro	soro	S62	soro	soro	S043	soro	soro	S081	soro	soro	S017	soro	soro
39	S087	soro	soro	S111	soro	soro	S025	soro	soro	S036	soro	soro	S059	soro	soro
40	***S014***	***soro***	***obli***	S006	soro	soro	S006	soro	soro	S090	soro	soro	S055	soro	soro
41	F036	frat	frat	F006	frat	frat	F095	frat	frat	F079	frat	frat	F081	frat	frat
42	F097	frat	frat	F073	frat	frat	F068	frat	frat	F074	frat	frat	F090	frat	frat
43	F067	frat	frat	F042	frat	frat	F047	frat	frat	F104	frat	frat	F065	frat	frat
44	F026	frat	frat	F060	frat	frat	F061	frat	frat	F043	frat	frat	F026	frat	frat
45	F076	frat	frat	F065	frat	frat	F089	frat	frat	F030	frat	frat	F040	frat	frat
46	F018	frat	frat	F040	frat	frat	F023	frat	frat	F049	frat	frat	F039	frat	frat

APÊNDICE D - Resultados das análises de imagens do acúleo de três espécies de *Anastrepha* (frat: *A. fraterculus*, obli: *A. obliquai*, soro: *A. sororcula*), utilizando SVM + EOAC – 288f

(conclusão)

ACÚLEO: SVM + EOAC – 288f															
Ima-	**Fold 1**			**Fold 2**			**Fold 3**			**Fold4**			**Fold 5**		
gem	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**	**Cód.**	**Real**	**Pred.**
47	F062	frat	frat	F103	frat	frat	F079	frat	frat	F066	frat	frat	F067	frat	frat
48	F024	frat	frat	F005	frat	frat	F062	frat	frat	F055	frat	frat	F041	frat	frat
49	F072	frat	frat	F088	frat	frat	F103	frat	frat	F099	frat	frat	F093	frat	frat
50	F082	frat	frat	F014	frat	frat	F009	frat	frat	F088	frat	frat	F020	frat	frat
51	F079	frat	frat	F016	frat	frat	F085	frat	frat	F090	frat	frat	F007	frat	frat
52	F011	frat	frat	F025	frat	frat	F008	frat	frat	F098	frat	frat	F019	frat	frat
53	F065	frat	frat	F095	frat	frat	F097	frat	frat	F025	frat	frat	F023	frat	frat
54	F061	frat	frat	F008	frat	frat	F033	frat	frat	F096	frat	frat	F080	frat	frat
55	F031	frat	frat	F038	frat	frat	F006	frat	frat	***F056***	***frat***	***obli***	F022	frat	frat
56	F017	frat	frat	F031	frat	frat	F099	frat	frat	F046	frat	frat	F051	frat	frat
57	F030	frat	frat	F029	frat	frat	F052	frat	frat	F004	frat	frat	F031	frat	frat
58	F066	frat	frat	F050	frat	frat	F065	frat	frat	F014	frat	frat	F055	frat	frat
59	F094	frat	frat	F039	frat	frat	F024	frat	frat	F009	frat	frat	F029	frat	frat
60	F107	frat	frat	F107	frat	frat	F001	frat	frat	F028	frat	frat	F071	frat	frat

APÊNDICE E - Resultados das análises de imagens (fase 2) do acúleo de *A. fraterculus* provenientes de três hospedeiros (G: goiaba, N: nêspera, P: pêssego), utilizando SVM + EOAC – 288f

ACÚLEOS: SVM + EOAC – 288f															
	Fold 1			**Fold 2**			**Fold 3**			**Fold 4**			**Fold 5**		
Im.	**Cód.**	**Real**	**Predita**	**Cód.**	**Real**	**Predita**	**Cód.**	**Real**	**Predita**	**Cód.**	**Real**	**Predita**	**Cód.**	**Real**	**Predita**
Ac		**83%**			**91%**			**83%**			**87%**			**96%**	
Erros		**4**			**2**			**4**			**3**			**1**	
1	N130	N	N	N135	N	N	***N169***	***N***	***P***	N143	N	N	N118	N	N
2	N157	N	N	N157	N	N	N139	N	N	N170	N	N	N139	N	N
3	***N173***	***N***	***P***	N130	N	N	N154	N	N	N133	N	N	N151	N	N
4	N145	N	N	N136	N	N	N125	N	N	N154	N	N	N143	N	N
5	N131	N	N	N154	N	N	N157	N	N	N141	N	N	N150	N	N
6	N138	N	N	***N119***	***N***	***G***	N133	N	N	N118	N	N	N136	N	N
7	N116	N	N	N126	N	N	N159	N	N	N158	N	N	N138	N	N
8	N165	N	N	N156	N	N	N131	N	N	N131	N	N	N130	N	N
9	G097	G	G	G062	G	G	G086	G	G	G076	G	G	G095	G	G
10	***G017***	***G***	***P***	G087	G	G	***G017***	***G***	***P***	G086	G	G	G103	G	G
11	G092	G	G	G112	G	G	***G108***	***G***	***N***	G113	G	G	***G016***	***G***	***P***
12	***G029***	***G***	***P***	G092	G	G	G062	G	G	***G017***	***G***	***P***	G091	G	G
13	G078	G	G	G071	G	G	G093	G	G	G073	G	G	G092	G	G
14	G112	G	G	G086	G	G	G104	G	G	G115	G	G	G106	G	G
15	G082	G	G	G081	G	G	G069	G	G	***G108***	***G***	***N***	G071	G	G
16	G073	G	G	G073	G	G	***G106***	***G***	***P***	G087	G	G	G109	G	G
17	P054	P	P	P026	P	P	P005	P	P	P023	P	P	P053	P	P
18	P055	P	P	P004	P	P	P026	P	P	P040	P	P	P067	P	P
19	P060	P	P	P044	P	P	P001	P	P	P024	P	P	P052	P	P
20	***P064***	***P***	***G***	P054	P	P	P004	P	P	P015	P	P	P046	P	P
21	P048	P	P	P041	P	P	P020	P	P	P064	P	P	P054	P	P
22	P026	P	P	***P059***	***P***	***G***	P047	P	P	***P050***	***P***	***G***	P014	P	P
23	P014	P	P	P039	P	P	P044	P	P	P048	P	P	P034	P	P
24	P020	P	P	P050	P	P	P055	P	P	P037	P	P	P020	P	P