UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

# "**Análise filogenética das abelhas corbiculadas (Hymenoptera, Apidae, Apinae): uma análise de evidência total**".

**Zioneth Judith Garcia Galeano**

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área: Entomologia.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2014

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

# "**Análise filogenética das abelhas corbiculadas (Hymenoptera, Apidae, Apinae): uma análise de evidência total**".

**Zioneth Judith Garcia Galeano**

**Orientador: Prof. Dr. Fernando Barbosa Noll**

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área: Entomologia.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2014

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

**CATALOGAÇÃO DA PUBLICAÇÃO**

**Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto**
**Universidade de São Paulo**

Garcia Galeano, Zioneth Judith

Análise filogenética das abelhas corbiculadas (Hymenoptera, Apidae, Apinae): uma análise de evidência total.

Ribeirão Preto, 2014.

123 p. : i1.; 30 cm

Tese (Doutorado), apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Área de concentração: Entomologia.

Orientador: Noll, Fernando Barbosa.

1. Entomologia. 2. Apidae. 3. Sistemática filogenética 4. Morfometria. 5. Evidencia Total.

**Dedicatória**

*Dedico às mulheres que equilibram seu labor de pesquisadoras, estudantes ou trabalhadoras com a da maternidade consciente e ativa. Àquelas que mesmo em ambientes desfavoráveis, e contra todo prognóstico, encontram o caminho para trabalhar pelos seus sonhos e continuar sendo mães.*

**Agradecimentos**

Ao Prof. Dr. Fernando Barbosa Noll por me acolher sob a sua orientação desde a minha chegada ao Brasil. Pelo empenho na leitura dos muitos relatórios, e especialmente pela paciência e compreensão a cada mudança.

À Coleção entomológica Prof. J. M. F. de Camargo do Departamento de Biologia da Universidade de São Paulo - *campus* Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, Brasil; Coleção entomológica do "Laboratorio de abejas de la Universidad nacional de Colômbia", Bogotá, Colômbia; Coleção entomológica do "Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad nacional de Colômbia", Bogotá, Colômbia; e à Coleção de entomologia do Museu de história natural da Universidade de Kansas (USA) pelos empréstimos de materiais utilizados nesse trabalho.

Ao Dr. Santiago Catalano do Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina que me prestou assessoria sobre as análises com morfometria geométrica.

À FAPESP pela bolsa de Doutorado concedida (processo 2009/15584-2).

Aos vários amigos e colegas encontrados ao longo do curso de Pós-graduação em Entomologia.

Aos amigos Alessandra Santana, Juliana Ferez e Renato Capellari pela grande ajuda com os ajustes do idioma e comentários.

E muito especialmente ao meu esposo Paulo Skora pela paciência e compreensão durante todo o processo de doutoramento.

## RESUMO

Garcia G Z. 2014. **Análise filogenética das abelhas corbiculadas (Hymenoptera, Apidae, Apinae): uma análise de evidência total.** Tese (Doutorado). Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto 2014.

Este trabalho avaliou as relações de parentesco entre as abelhas corbiculadas (Apini) utilizando a evidência total disponível: dados morfométricos tradicionais, dados de morfometria geométrica, dados morfológicos, dados comportamentais e dados moleculares. Fontes que historicamente se mostraram incongruentes. Os problemas metodológicos que cada fonte de caracteres oferece foram investigados e corrigidos na análise filogenética de evidencia total. Todos os dados foram analisados com métodos de parcimônia. Vinte e quatro espécies de Apini e quatro espécies dos grupos externos foram analisadas. As análises filogenéticas de onze medidas corporais tradicionais sugeriram grande interferência do tamanho corporal das espécies nos resultados. Ao corrigir esse efeito do tamanho, os dados morfométricos puderam ser utilizados como caracteres filogenéticos confiáveis. O caráter obtido a partir da morfometria geométrica foi altamente convergente na análise filogenética, apesar da relação entre a forma da asa e do tamanho do corpo das espécies aparentemente terem uma restrição filogenética. As análises dos dados moleculares sugeriram a interferência da escolha dos grupos externos nos resultados, diferentes hipóteses filogenéticas surgiram quando se incluiram duas especies mais distantes de Apini nos grupos externos. Com os grupos externos mais distantes, o suporte dos clados se mostrou constante e maior para os clados mais abrangentes. Porém, os dados moleculares se mantiveram incongruentes com os caracteres morfológicos, morfométricos tradicionais e comportamentais analisados. Em contraste, os dados morfológicos e comportamentais não foram afetados pela escolha dos grupos externos, Euglossina se manteve como um grupo parafiletico segundo esses caracteres. Finalmente, a hipótese filogenética proposta nesse trabalho para o grupo das abelhas corbiculadas apoia a monofilia da tribo Apini, assim como das subtribos Euglossina, Apina, Bombina e Meliponina. A hipótese (Euglossina + (Bombina + (Apina + Meliponina))) é revalidada. Em consequência, a origem única da eussocialidade dentro de Apini é sustentada.



**Palavras chave:** Caracteres contínuos, Evidência total, Análise filogenética, Apini, Apina, Meliponina, Euglossina, Bombina, Abelhas corbiculadas.

# ABSTRACT

Garcia G Z. 2014. **Phylogenetic analysis of corbiculate bees (Hymenoptera, Apidae, Apinae): an analysis of total evidence.** Thesis (Ph.D.). Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto 2014

This work evaluated the relationship between corbiculate Apidae using the total evidence available: traditional morphometric data, geometric morphometric data, morphological data, behavioral data and molecular data. These characters historically were incongruent. Methodological problems of each source of character were investigated and corrected in the phylogenetic analysis of the total evidence. The methodological problems were searched for each source of characters. All data are analyzed with parsimony methods. Twenty- four species of Apini and four outgroup species were analyzed. Phylogenetic analysis of eleven traditional body measurements suggested significant interference with body size of the species in the results, to correct this size effect morphometric data can be used as reliable phylogenetic characters. The character obtained from geometric morphometric was highly convergent in the phylogenetic analysis, despite the apparent phylogenetic constraint observed on relationship between the wing shape and body size of the species. Analyses of molecular data suggested the interference of the choice of outgroup in the results, different phylogenetic hypotheses emerged when include two species more distant of Apini in the outgroup. With the most distant outgroup, the support of the clades showed constant and higher for most comprehensive clades. However, the molecular data remained incongruent with traditional morphological and behavioral, morphometric characters analyzed. In contrast, morphological and behavioral data were not affected by the choice of outgroup, Euglossina remained as a paraphyletic group according to these characters. Finally, the phylogenetic hypothesis proposed for the corbiculate Apidae supports the monophyly of the tribe Apini, Euglossina Apina, Bombina and Meliponina. The hypothesis (Euglossina + (Bombina + (Apina + Meliponina))) is revalidated. Consequently, a single origin of eussocialidade within Apini is sustained.

**Keywords:** continuous characters, total evidence, phylogenetic analysis, Apini, Apina, Meliponina, Euglossina Bombina, corbiculate Apidae.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1**: Classificação da Família Apidae segundo Silveira et al. (2002) ----------17

**Tabela 2**: Hipóteses filogenéticas propostas para as subtribos de Apini. ----------21

**Tabela 3**: Espécies selecionadas para a análise das relações filogenéticas da tribo Apini ----24

**Tabela 4:** Média e desvio padrão das variáveis utilizadas (mm), calculadas para as espécies de abelhas corbiculadas e grupos externos. ----------33-36

**Tabela 5**: Coeficientes da regressão entre o primeiro fator da análise de componentes principais e cada uma das onze medidas. ----------39

**Tabela 6**: Configuração de marcos anatômicos da asa anterior corrigida mediante a análise de mínimos quadrados generalizada. ----------44-45

**Tabela 7**: Resumo dos resultados da análise filogenética de caracteres morfológicos e comportamentais (caracteres discretos) para as abelhas corbiculadas e os grupos externos. -47

**Tabela 8**: Resumo dos resultados da análise filogenética de dados morfométricos tradicionais de Apini (caracteres contínuos) ----------51

**Tabela 9**: Resumo dos resultados da análise filogenética da morfometria geométrica das asas anteriores de Apini. ----------54

**Tabela 10**: Resumo dos resultados da análise filogenética dos genes*: 16s, 18s e 28s, Wingless, Pol II, EF-1a, ArgK, NaK, Opsin* para as abelhas corbiculadas e os grupos externos.----------58-59

**Tabela 11**: Resumo dos clados suportados pelas análises filogenéticas de dados moleculares das subtribos de Apini e seus grupos externos ----------65

**Tabela 12:** Resumo dos resultados da análise de evidência total para 28 espécies de Apini e seus grupos externos. ---------- 68

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1**: Variáveis morfométricas analisadas. 1a. Morfometria tradicional: medições propostas: A. Largura da cabeça, B. Comprimento da cabeça, C. Largura do mesossoma, D. Comprimento do mesossoma, E. Altura do mesossoma, F. Comprimento da tíbia anterior, G. Comprimento da tíbia posterior, H. Comprimento do fêmur posterior, I. Largura máxima da corbícula, J. Largura máxima da asa anterior, K. Comprimento máximo da asa anterior. Desenhos adaptados de http://www.ib.usp.br/beesp.htm, autor original JMF Camargo. 1b. Morfometria geométrica: configuração de marcos anatômicos. ----------26

**Figura 2**: Contribuição de cada Fator da Análise de componentes principais à variação total dos dados morfométricos tradicionais. ----------32

**Figura 3**: Dois primeiros componentes da análise de componentes principais mostrando o agrupamento dos indivíduos e as espécies. Grupo 1, Grupo 2, Grupo 3 e Grupo 4, ver explicação no texto. Eun: *Eulaema nigrita*, Erf: *Epicharis rustica*, Efe: *Eufriesea euriceps*, Egc: *Euglossa chordata*, Mlb: *Melipunula bocandei*, Oxt: *Oxitrigona tataira*. O gradiente de tamanho pode ser observado no eixo horizontal, espécies maiores são localizadas no extremo esquerdo, enquanto as menores são localizadas no extremo direito. O eixo vertical pode ser interpretado como mudanças de forma----------38

**Figura 4**: Contribuição de cada componente da análise de *relative warps* à variação total da forma das asas anteriores. ----------40

**Figura 5**: Dois primeiros componentes da análise de *relative warps* mostrando o agrupamento de espécies de acordo com a forma da sua asa anterior. Cada ponto representa um indivíduo na análise. Eun: *Eulaema nigrita.* ----------41

**Figura 6**: Relação entre a forma da asa anterior e o tamanho corporal das espécies estudadas. Correlação não paramétrica de Spearman ($p < 0,05$, correlação = 0,84). O gradiente de tamanho é mostrado na parte inferior, espécies com tamanhos maiores se encontram na esquerda do plano. O gradiente de forma da asa é mostrado ao lado esquerdo. As setas assinalam a direção das mudanças observadas. Bom: *Bombus morio*; Brb: *Bombus*

*robicundus*; Brt: *Bombus robustus* Mqa: *Melipona quadrifasciata*; Mlb: *Meliponula bocandei*; Eun: *Eulaema nigrita*, Ltm: *Leurotrigona muelleri*. ----------42

**Figura 7**: Hipóteses filogenéticas obtidas a partir da análise dos dados morfológicos e comportamentais discretos de 26 espécies de Apini com Centridini como grupos externos. A. Morfologia de larvas e adultos (Chavarria e Carpenter, 1994). B. Comportamento das espécies (Noll, 2002). C. Morfologia do aparelho de ferrão (Cardinal *et al*., 2007). D. Matriz com o total de dados morfológicos e comportamentais. Nos casos com mais de uma árvore igualmente parcimoniosa selecionada, o consenso estrito é calculado e apresentado. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. As matrizes analisadas são apresentadas no Anexo 4. ----------48

**Figura 8**: Hipóteses filogenéticas obtidas a partir da análise dos dados morfológicos e comportamentais discretos de 28 espécies de Apini com Centridini e Xylocopinae como grupos externos. A. Morfologia de larvas e adultos (Chavarria e Carpenter, 1994). B. Comportamento das espécies (Noll, 2002). C. Morfologia do aparelho de ferrão (Cardinal *et al.*, 2007). D. Matriz com o total de dados morfológicos e comportamentais. Nos casos com mais de uma árvore igualmente parcimoniosa selecionada, o consenso estrito é calculado e apresentado. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. As matrizes analisadas são apresentadas no Anexo 5. ----------50

**Figura 9**: Hipóteses filogenéticas sugeridas a partir de dados morfométricos utilizando diferentes métodos de correção de escala das espécies de Apini e os grupos externos Centridini. A. Análise de dados em mm sem nenhum tratamento. B. Análise da matriz combinada de dados em mm e caracteres morfológicos e comportamentais. C. Análise de dados morfométricos corrigidos usando razões proporcionais. D. Análise da matriz combinada de razões proporcionais e caracteres morfológicos e comportamentais. E. Análise de dados morfométricos corrigidos usando método de residuais (transformação + 10 é usada para eliminar valores negativos sem alterar a estrutura dos dados). F. Análise da matriz combinada de residuais transformados e caracteres morfológicos e comportamentais. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. Matrizes utilizadas são apresentadas no Anexo 6. ----------53

**Figura 10**: Análise filogenética de caracteres da morfometria geométrica das asas anteriores para as espécies de Apini e os grupos externos Centridini. A. Análise das coordenadas de forma (consenso por espécie da configuração de marcos anatômicos alinhados). B. Análise da matriz combinada de caracteres discretos (morfológicos e comportamentais), caracteres contínuos (residuais da morfometria tradicional) e as coordenadas de forma. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. A tabela 6 apresenta a matriz dos marcos anatômicos alinhados usada como caráter. ----------55

**Figura 11:** Análise filogenética de caracteres moleculares de Apini com os grupos externos. Toda sequência gênica foi analisada independentemente para as duas matrizes de espécies. As configurações resultantes para as análises das matrizes de 26 espécies são mostradas à esquerda enquanto as análises para 28 espécies, mostradas à direita:. A-B. Unidade ribosomal *16s*, C-D Unidade ribosomal *18s*, E-F Unidade ribosomal *28s*, G-H. *Elongation factor-1 alpha* (*EF-1a*), I-J. *Arginine kinase* (ArgK), K-L. *Sodium potassium adenosine triphosphate* (NaK), M-N. *Long-wavelength rhodopsin* (*Opsin*), O-P. *RNA polymerase II* (*Pol II*), Q-R. *Wingless*. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. ----------60-62

**Figura 12**: Análise filogenética do conjunto total de caracteres moleculares para Apini e seus grupos externos. As configurações resultantes para análises das matrizes de 26 espécies são mostradas à esquerda enquanto as análises para 28 espécies, mostradas à direita. A-B. Análise padrão, C-D. Análise com pesagem implícita de caracteres onde k=3, E-F. Análise com pesagem implícita de caracteres onde k=8. O suporte dos ramos calculado por "symmetric re-sampling" é mostrado em cada caso. ----------66

**Figura 13**: Análise filogenética de evidência total para a matriz de 28 espécies de Apini e seus grupos externos, incluindo caracteres morfológicos e comportamentais discretos, caracteres morfológicos contínuos (obtidos a partir da morfometria tradicional) e caracteres moleculares (9 genes). A. Análise padrão. B. Análise com pesagem implícita de caracteres com K=3. C. Análise com pesagem implícita de caracteres com K=8. D. Análise incluindo o caráter obtido pela morfometria geométrica. A=Apina, M=Meliponina, E=Euglossina, B=Bombina. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. ----------69

**Figura 14**: Hipótese filogenética para as relações entre as subtribos de Apini sustentada nesse trabalho. A hipótese foi obtida a partir da análise de evidência total das 28 espécies usando pesagem implícita de caracteres (k=3). O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. ----------70

**Figura 15**: Detalhe das relações filogenéticas entre espécies da subtribo Bombina sugeridas nesse trabalho a partir da análise de evidência total das 28 espécies usando pesagem implícita de caracteres (k=3). O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. ----------71

**Figura 16**: Detalhe das relações filogenéticas entre espécies da subtribo Meliponina. A. Hipótese sugerida nesse trabalho a partir da análise de evidência total das 28 espécies usando pesagem implícita de caracteres (k=3). O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. B. Hipótese sugerida por Rasmussen e Cameron (2010) usando apenas dados moleculares e análise bayesiana. ----------72

## LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| *16s* | Sequência genética da unidade ribosomal *16s*, |
| *18s* | Sequência genética da unidade ribosomal *18s*, |
| *28s* | Sequência genética da unidade ribosomal *28s*. |
| *ArK* | Sequência do gene *Arginine kinase* |
| Compr. | Comprimento |
| *EF-1a* | Sequência do gene *Elongation factor-1 alpha* |
| IC | Índice de consistência |
| IR | Índice de retenção |
| *NaK* | Sequência do gene *Sodium potassium adenosine triphosphate* |
| *Opsin* | Sequência do gene *Long-wavelength rhodopsin*, |
| *Pol II* | Sequência do gene *RNA polymerase II* |

**SUMÁRIO**

1. INTRODUÇÃO ..... 16

2. MATERIAL E MÉTODOS ..... 23

2.1 CARACTERES MORFOLÓGICOS ..... 25

2.1.1 Caracteres morfológicos e comportamentais discretos ..... 25

2.1.1 Caracteres morfológicos contínuos: ..... 25

2.2 CARACTERES MOLECULARES ..... 29

2.3 ANÁLISES FILOGÉNETICAS ..... 29

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 32

3.1 ANÁLISE MORFOMÉTRICA TRADICIONAL ..... 32

3.2 ANÁLISE DA MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DA ASA ANTERIOR ..... 39

3.3 ANÁLISES FILOGENÉTICAS DE DADOS MORFOLÓGICOS ..... 46

3.3.1 Análise filogenética de caracteres morfológicos e comportamentais discretos. ..... 46

3.3.2 Análise filogenética de dados morfométricos tradicionais ..... 50

3.3.3 Análise filogenética dos dados da morfometria geométrica ..... 54

3.4 ANÁLISE FILOGENÉTICA DE DADOS MOLECULARES ..... 57

3.5 ANÁLISE FILOGENÉTICA UTILIZANDO EVIDÊNCIA TOTAL ..... 67

3.6 PROPOSTA FILOGENÉTICA PARA AS ABELHAS CORBICULADAS ..... 69

3.6.1 Origem da eussocialidade ..... 73

4. CONCLUSÕES ..... 75

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 77

6. ANEXOS ..... 85

6.1 ANEXO 1: Lista de caracteres morfológicos e comportamentais empregados nesse trabalho. ..... 85

6.2 ANEXO 2: Dados moleculares utilizados. ..... 91

6.2.1 Números de acesso do Genbank para as sequências de genes usados para cada espécie. ..... 91

6.2.2 Parâmetros finais de alinhamento para cada gene. ..... 93

6.3 ANEXO 3: Localidade dos indivíduos utilizados nas análises de morfometria ..... 94

6.4 ANEXO 4: Matriz de caracteres morfológicos e comportamentais para 26 espécies no formato TNT ..... 119

6.5 ANEXO 5: Matriz de caracteres morfológicos e comportamentais para 28 espécies no formato TNT ..... 120

6.6 ANEXO 6: Matrizes de caracteres da morfometria tradicional ..... 121

6.6.1 Matriz de dados em milímetros no formato TNT ..... 121

6.6.2 Matriz de dados corrigidos usando razões proporcionais no formato TNT ..... 122

6.6.3 Matriz de dados corrigidos usando o método de residuais no formato TNT ..... 123

# 1. INTRODUÇÃO

Apinae é a subfamília mais diversa e abundante de Apidae, com aproximadamente 1300 espécies descritas, com distribuição cosmopolita. No Brasil, foram registradas 13 das 17 tribos de Apinae (Silveira *et al.,* 2002), sendo que Apini se caracteriza pela presença de corbícula nas fêmeas, estrutura das pernas posteriores modificada para a coleta de pólen. A maioria dos grupos apresenta algum grau de organização social, embora existam espécies solitárias e cleptoparasitas (Michener, 2000; Silveira *et al.,* 2002).

As abelhas corbiculadas, Apini, estão subdivididas em quatro subtribos, Apina, Meliponina, Euglossina e Bombina, formando um clado dentro de Apinae (Michener, 2000). Apini é um grupo amplamente reconhecido pela sua importância econômica, tanto na polinização de sistemas agrícolas e naturais, como na exploração de mel e pólen. Porém, a filogenia ainda é motivo de controvérsia, o que constitui um obstáculo potencial para o uso sustentável.

Michener (1944) classificou as abelhas de língua longa em quatro famílias: Anthophoridae, Apidae, Fideliidae e Megachilidae. Nesta classificação, Apidae era dividida em quatro subfamílias: Apinae, Euglossinae, Bombinae e Meliponinae (Michener, 1990). Posteriormente, Roig-Alsina e Michener (1993) determinaram o monofiletismo das abelhas de língua longa, sugerindo que as famílias Megachilidae e Apidae fossem rebaixadas ao nível de subfamília e, consequentemente, as subfamílias ao nível de tribos, de maneira que a subfamília Apinae fosse formada por 17 tribos, incluindo entre elas as tribos de abelhas corbiculadas (Michener, 2000). A mais recente proposta de classificação reconhece dentro da subfamília Apinae, a tribo Apini formada por quatro subtribos: Apina, Meliponina, Bombina e Euglossina. Esta será a proposta de classificação seguida neste estudo (Melo e Gonçalves, 2005) (Tabela 1).

**Tabela 1: Classificação da Família Apidae segundo Melo e Gonçalves (2005)**

**APIDAE**

| APINAE | NOMADINAE | XYLOCOPINAE |
|---|---|---|
| Ancylini* | Ammobatini* | Allodapini* |
| Anthophorini | Ammobatoidini* | Ceratinini |
| Apini | Biastini* | Manueliini* |
| Apina | Brachynomadini | Xylocopini |
| Bombina | Caenoprosopidini | |
| Euglossina | Epeolini | |
| Meliponina | Hexepeolini* | |
| Centridini | Neolarrini* | |
| Ctenoplectrini* | Nomadini | |
| Emphorini | Townsendiellini* | |
| Ericrocidini | | |
| Eucerini | | |
| Exomal*Opsin*i | | |
| Isepeolini | | |
| Melectini* | | |
| Osirini | | |
| Protepeolini | | |
| Rhathymini | | |
| Tapinotaspidini | | |
| Teratognathini* | | |
| Tetrapediini | | |

* Grupos não representados na fauna brasileira

Apina, junto com Meliponina, são os únicos táxons de Apini que apresentam comportamento eussocial, caracterizado pela sobreposição de gerações, cuidado cooperativo com a cria e divisão do trabalho reprodutivo (Michener, 2000). Apina possui somente o gênero *Apis*, com origem proposta na região tropical Indo-Malaia, mas explorado comercialmente no mundo inteiro. Atualmente são reconhecidas sete espécies, agrupadas em três subgêneros (*Apis, Megapis e Microapis*), com exemplares medindo entre 7 e 19 mm e colônias com populações de 60.000 a 80.000 indivíduos (Nates-Parra, 2006). Na região neotropical, *Apis mellifera* é uma espécie exótica e compete fortemente pelos recursos com as abelhas nativas. É explorada comercialmente para produção de mel, e nos últimos trinta e cinco anos também tem sido utilizada na polinização de culturas (Silveira *et al.,* 2002; Ruz, 2002).

Recentemente, tem se mostrado que *Apis mellifera,* apesar de um bom produtor de mel, não é um polinizador eficiente para muitas culturas e plantas silvestres, o que levou a um crescente interesse no uso sustentável de outros insetos nativos para esta tarefa, sendo as abelhas silvestres os primeiros polinizadores potenciais considerados. No entanto, ainda existem limitações taxonômicas para o emprego destes polinizadores (Silveira *et al*., 2002b).

Meliponina reúne todas as abelhas sem ferrão, encontradas nas áreas tropicais e subtropicais do mundo. Há centenas de espécies, mas seu número exato é desconhecido, devido à presença de espécies geográficas e crípticas (Nates-Parra, 2005). O tamanho varia de 0,5 a 20 mm de comprimento (Silveira *et al.,* 2002 a), as colônias têm populações que variam de 100 a 500 indivíduos em *Melipona*, chegando aos 100.000 em algumas *Trigona* (Michener, 2000; Nates-Parra, 2006).

As abelhas euglossíneas são conhecidas como polinizadoras de orquídeas, são exclusivas dos Neotrópicos, abundantes em ambientes tropicais e subtropicais e coletam fragrâncias florais (Dressler, 1982). Algumas espécies chegam a ter um tamanho corporal superior a 30 mm, enquanto as menores estão ao redor de 8 mm (Nates-Parra, 2005). Geralmente apresentam uma coloração metalizada e brilhante, e a língua é extremamente longa (Dressler, 1982). São reconhecidos cinco gêneros, sendo que a maioria das espécies é solitária, umas poucas comunais, parassociais e dois gêneros são parasitas sociais: *Aglae* e

*Exaerete* (Silveira *et al.,* 2002). A filogenia das espécies de *Exaerete* foi publicada por Anjos-Silva *et al*. (2007).

Bombina é composta por abelhas robustas, com 9-22 mm de comprimento e com muita pilosidade (Silveira *et al*., 2002). Estão representadas no mundo todo, exceto na Austrália, sendo que a maioria das espécies é primitivamente social. Apenas o subgênero *Psithyrus* é parasita de outras Bombina sociais (Kawakita *et al.,* 2004). Apenas 35 das 250 espécies descritas ocorrem na região Neotropical, sendo que algumas espécies têm sido utilizadas na polinização de culturas, especialmente o tomate e outras solanáceas (Abak *et al.,* 1995; Estay *et al*., 2001).

Várias hipóteses foram propostas para os Apini desde a primeira metade do século vinte. Cardinal e Packer (2007) fazem um compilado das topologias propostas até o ano de publicação. Embora todas aceitem a monofilia da tribo, existe controvérsia sobre as relações entre as subtribos. A Tabela 2 mostra cinco das hipóteses filogenéticas que ao parecer são as mais influentes e que tem movimentado o debate sobre a origem da eussocialidade no grupo.

Três dessas quatro hipóteses baseadas em evidências morfológicas e comportamentais sugerem uma única origem nos táxons eusssociais dentro de Apidae (Michener, 1944; Plant e Paulus, 1987; Prentice, 1991; Roig-Alsina e Michener, 1993; Chavarria e Carpenter, 1994; Noll, 2002). Porém, Winston e Michener (1977), baseando-se em morfologia externa, propuseram duas origens para a socialidade, embora Michener (1990) tenha posteriormente, sugerido uma única origem.

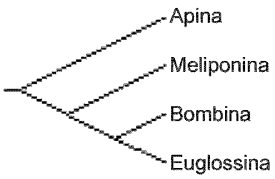
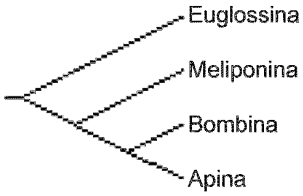
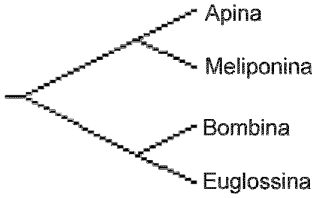
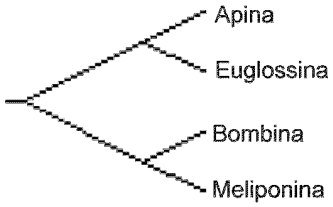
Hipóteses baseadas em diferentes sequências moleculares sugerem mais de uma origem para a socialidade dentro do grupo. Algumas das propostas com análises moleculares mostraram baixo suporte dos clados, incongruência dos diferentes genes analisados e pouco sustento para a monofilia das subtribos (Cameron, 1991; Shepard e McPheron, 1991; Cameron, 1993; Mardulyn e Cameron, 1999; Koulianos *et al*., 1999; e Mardulyn, 2001), o que tem gerado pouca aceitação entre os especialistas do grupo. Ferreira *et al.* (2013) sugerem que dados moleculares podem ser muito sensíveis à escolha dos grupos externos, e que as topologias podem apresentar diferenças significativas com a escolha de grupos externos mais distantes.

Cardinal e Danforth (2011), também utilizando dados moleculares, e considerando a Apina grupo irmão de Euglossina, propõem uma hipótese diferente, pois para eles a eusocialidade teria surgido uma vez no ancestral comum a todas as abelhas corbiculadas, sendo que os comportamentos altamente sociais teriam se desenvolvido independentemente em Meliponina e Apina, e o comportamento solitário de Euglossina corresponderia a uma perdida secundária. De acordo com eles, a incongruência entre a idade do clado de abelhas solitárias (Euglossina = 27 a 42 milhoes de anos atrás), dos primeiros registros de comportamento eussocial em abelhas corbiculadas (Meliponina *Cretotrigona prisca*= 78 a 95 milhoes de anos atrás) e a idade registrada para outros grupos de abelhas com menor complexidade do comportamento social suportam a origem secundaria do comportamento solitário em Apini.

As informações taxonômicas se conformam a um sistema hierárquico de classificação biológica. Caraterísticas da biologia de espécies novas ou pouco conhecidas podem ser estimadas através do conhecimento existente sobre os seus parentes mais próximos. Dessa forma, decisões sobre conservação, recuperação e agricultura sustentável devem ser feitas com base na história evolutiva do grupo (Amorim, 2009). As análises filogenéticas fornecem os elementos para formar uma base de dados da biodiversidade que inclua também as espécies não catalogadas até o presente, e dessa maneira, incorporar um cenário evolutivo que possibilite construir uma base sólida para as estratégias de conservação (Yates *et al.,* 2004).

No caso das abelhas corbiculadas, é difícil adotar uma história evolutiva devido à controvérsia ao redor das relações filogenéticas no grupo. Ao tratar de polinizadores potenciais ou presentes em áreas em perigo, as informações sobre a biologia, seu manejo ou habitat são limitadas, impossibilitando a inferência através dos parentes mais próximos. Um dos objetivos principais da Iniciativa Brasileira de Polinizadores (BPI) é justamente tratar o problema da falta de informações taxonômicas sobre polinizadores (Imperatriz-Fonseca, 2007). Esta iniciativa ressalta a importância da polinização pelas abelhas corbiculadas para a produção em agro-ecossistemas e a conservação de ecossistemas naturais, e reconhece o problema taxonômico como uma das principais limitações para promover a conservação e uso sustentável destes polinizadores (CDB, 2000).

**Tabela 2: Hipóteses filogenéticas propostas para as subtribos de Apini.**

| Hipóteses | Tipo de evidência usado | Autor(es) | Ano |
|---|---|---|---|
| | | Prentice | 1991 |
| | | Roig-Alsina e Michener | 1993 |
| | Morfologia externa e molecular | Chavarria e Carpenter | 1994 |
| | Dados comportamentais | Noll F B | 2002 |
| | Dados comportamentais: Autolimpeza | Canevazzi e Noll | 2012 |
| | Morfologia do aparelho de ferrão | Cardinal e Packer | 2007 |
|  | Morfologia externa | Winston e Michener | 1977 |
| | | Kimsey | 1984 |
|  | Morfologia externa | Plant e Paulus | 1987 |
|  | Morfologia externa | Michener | 1990 |
| | Morfologia interna | Serrão | 2000 |
|  | Molecular: ADN rb *28s* | Cameron | 1991 |
| | Molecular: ADN ribosomal | Shepard e McPheron | 1991 |
| | Molecular: mtADN *16s* | Cameron | 1993 |
| | Molecular: Cyt b | Koulianos *et al.* | 1999 |
| | Molecular: *Opsin* LW Rh, *28s* | Mardulyn e Cameron | 1999 |
| | Molecular: Total | Cameron e Mardulyn | 2001 |
| | Molecular: Total | Cardinal e Danforth | 2011 |
| | Molecular: Evidência total | Payne | 2013 |

A morfometria tem sido amplamente utilizada na solução de problemas taxonômicos. Nas abordagens taxonômicas com morfometria tradicional, a variação da forma é estudada por meio da variação entre pares de medidas lineares. Nesse caso, a complexidade da forma de cada indivíduo pode não ser detectada pelo método (Cooper, 2000; Gumiel *et al.,* 2003; Mutanen e Pretorius, 2007). Por outro lado, as abordagens que utilizam a morfometria geométrica são capazes de descrever e localizar claramente as regiões de mudanças na forma e, sobretudo, de reconstruir e reconstituir graficamente estas diferenças. Porém, esta aproximação exige ferramentas mais elaboradas para digitalização e análises dos dados (Monteiro e Reis, 1999; Zeldich, 2004; Garcia, 2008).

Apesar do sucesso da morfometria na taxonomia, apenas nos últimos cinco anos tem-se abordado seu uso nas análises filogenéticas. As ferramentas para análises filogenéticas tradicionais são baseadas no uso de caracteres discretos e os poucos caracteres quantitativos ou contínuos incluídos são utilizados na forma de intervalos (Fitzhugh, 2006; Goloboff *et al.,* 2006), sendo provável que informações valiosas sobre a forma das espécies estejam sendo ignoradas. Novas ferramentas para as análises filogenéticas permitiram usar caracteres contínuos sem discretizá-los, possibilitando traduzir os dados obtidos tanto da morfometria tradicional como da morfometria geométrica em caracteres filogenéticos capazes de refletir a forma das espécies (Goloboff, 2006; Garcia e Noll, em prep.).

Este trabalho propõe-se a usar a aproximação morfométrica para avaliar as hipóteses de parentesco propostas entre as abelhas corbiculadas (Apini: Meliponina, Apina, Bombina e Euglossina) e propor uma hipótese filogenética que considere evidência total: dados morfométricos tradicionais, dados de morfometria geométrica, dados morfológicos, dados comportamentais e dados moleculares. A principal contribuição deste trabalho é propor um consenso acerca da história evolutiva das abelhas corbiculadas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar as hipóteses de parentesco propostas entre as abelhas corbiculadas (Meliponina, Apina, Bombina e Euglossina) foram analisados 138 caracteres da morfologia tradicional (Chavarria e Carpenter, 1994; Cardinal, 2007), 42 caracteres comportamentais (Noll, 2002), caracteres moleculares (9 genes = 7574 pb) e 12 caracteres morfométricos.

Foram analisadas 28 espécies, algumas das quais correspondem às espécies utilizadas por Noll (2002). Duas espécies de Centridini foram usadas como grupos externos, enquanto Euglossina, Apina, Bombina e Meliponina são representadas por quatro, duas, seis e doze espécies, respectivamente (Tabela 3). Adicionalmente, *Xylocopa virginica* e *Exoneura bicolor* foram incluídas como grupos externos para testar a sensibilidade dos dados moleculares utilizados (Ferreira *et al.,* 2013).

Três das coleções entomológicas mais representativas do Brasil e da Colômbia foram visitadas:

- Coleção entomológica Prof. J. M. F. de Camargo do Departamento de Biologia da Universidade de São Paulo - *campus* Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, Brasil.
- Coleção entomológica do "Laboratorio de abejas de la Universidad nacional de Colômbia". Bogotá, Colômbia.
- Coleção entomológica do "Instituto de ciencias Naturales de la Universidad nacional de Colômbia". Bogotá, Colômbia

Adicionalmente foi analisado o material emprestado pela coleção de entomologia do Museu de história natural da Universidade de Kansas (USA).

**Tabela 3: Espécies selecionadas para a análise das relações filogenéticas da tribo Apini**

| | | **Espécie** |
|---|---|---|
| Grupos externos **Xylocopinae*** | | *Exoneura bicolor* Smith, 1854<br>*Xylocopa virginica* Linnaeus, 1771 |
| **Centridini** | | *Epicharis rustica flava* Friese, 1900<br>*Centris tarsata* Smith, 1874 |
| Grupo interno **Apini** | Euglossina | *Eufriesea violacea* (Blanchard, 1840)<br>*Eufriesea auriceps* (Friese, 1899)<br>*Eulaema nigrita* Lep., 1841<br>*Euglossa cordata* (Linnaeus, 1758) |
| | Apina | *Apis mellifera* Linnaeus, 1758<br>*Apis dorsata* Fabricius, 1793 |
| | Bombina | *Bombus nevadensis* Cresson 1874<br>*Bombus morio* (Swederus, 1787)<br>*Bombus pauloensis* Friese, 1913<br>[=*Bombus atratus* Franklin, (1913)]<br><br>*Bombus terrestris* Linnaeus, 1758<br>*Bombus robustus* Smith, 1854<br>*Bombus rubicundos* Smith, 1854 |
| | Meliponina | *Trigona spinipes* (Fabricius, 1793)<br>*Paratrigona lineata* (Lep., 1836)<br>*Oxytrigona tataira* (Smith, 1836)<br>*Geotrigona mombuca* (Smith, 1863)<br>*Meliponula bocandei* (Spinola, 1853)<br>*Melipona quadrifasciata* Lep., 1836<br>*Scaptotrigona bipunctata* (Lep., 1836)<br>*Nannotrigona testaceicornis* (Lep., 1836)<br>*Trigonisca intermedia* Moure, 1990<br>*Plebeia droryana* Friese, 1900<br>*Leurotrigona muelleri* Friese, 1900<br>*Frieseomiellita varia* (Lep., 1836) |

*não incluídas nas análises de dados morfométricos

## 2.1 CARACTERES MORFOLÓGICOS

### 2.1.1 Caracteres morfológicos e comportamentais discretos

Um total de 180 caracteres discretos selecionados a partir da literatura foram analisados, a saber: 107 caracteres morfológicos compilados por Chavarria e Carpenter (1994); 31 caracteres da morfologia do aparelho de ferrão apresentados por Cardinal e Packer (2007) e 42 caracteres comportamentais apresentados por Noll (2002). A lista de caracteres utilizados e sua correspondência com a matriz original de cada autor é apresentada no Anexo 1.

### 2.1.1 Caracteres morfológicos contínuos:

#### 2.1.1.1 Caracteres obtidos pela morfometria Tradicional

A partir da análise de onze medidas corporais foram obtidas variáveis que refletem forma e tamanho das espécies. Estas medidas são: largura e comprimento da cabeça, altura, largura e comprimento do mesossoma, comprimento do fêmur posterior, comprimento da tíbia posterior, comprimento da tíbia anterior, largura máxima da corbícula, largura e comprimento da asa anterior (figura 1A) (Noll *et al*., 1997).

Foi calculada a média e o desvio padrão para cada uma das onze variáveis em cada espécie. Uma análise de componentes principais foi utilizada de maneira descritiva para visualizar a variabilidade inter e intra-específica, permitindo a detecção de indivíduos fora do padrão, ou outras anomalias nos dados que possam comprometer as análises. O primeiro fator da análise de componentes principais foi usado como descritor geral do tamanho dos organismos. A partir da regressão entre esse valor e cada uma das médias das medidas são obtidos os residuais que são usados na análise filogenética (Somers, 1986; Damus e Otis, 1997; Garcia e Sarmiento, 2011). Para esta análise estatística foi utilizado o software STATISTICA ® 10.0. (STATSOFT, 2001).

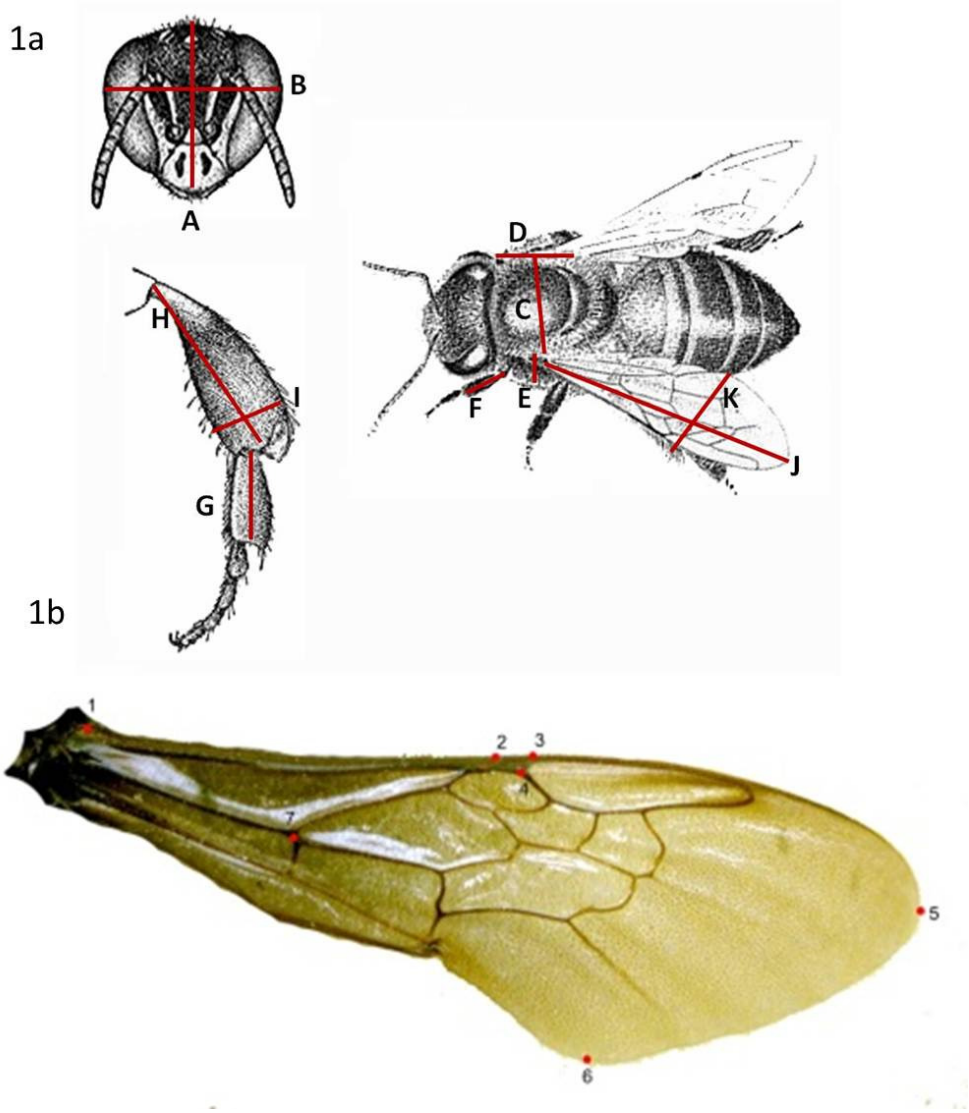



Figura 1: Variáveis morfométricas analisadas. 1a. Morfometria tradicional: medições propostas: A. Largura da cabeça, B. Comprimento da cabeça, C. Largura do mesossoma, D. Comprimento do mesossoma, E. Altura do mesossoma, F. Comprimento da tíbia anterior, G. Comprimento da tíbia posterior, H. Comprimento do fêmur posterior, I. Largura máxima da corbícula, J. Largura máxima da asa anterior, K. Comprimento máximo da asa anterior. Desenhos adaptados de http://www.ib.usp.br/beesp.htm, autor original JMF Camargo. 1b. Morfometria geométrica: configuração de marcos anatômicos.

Os dados obtidos por morfometria tradicional foram corrigidos usando os dois métodos mais empregados na morfometria. O primeiro é o método das proporções, que usa o valor da proporção entre duas medidas como variável, em substituição do dado em milímetros. A análise das mudanças proporcionais entre as medidas de cada indivíduo é usada para entender as mudanças na forma geral do organismo. O segundo é o método de residuais, que propõe corrigir o efeito do tamanho usando os residuais da relação entre o descritor do tamanho geral dos organismos e cada uma das medidas. A maior parte da variação atribuída ao tamanho é subtraída da análise, permitindo que as mudanças na forma geral do corpo dos organismos sejam mais bem abordadas (Somers, 1986; Damus e Otis, 1997; Lamborot e Eaton, 1997; Garcia e Sarmiento, 2011). Os dados residuais incluem valores abaixo de zero que foram transformados com a adição de dez unidades, a fim de possibilitar seu uso na análise. Essa transformação não afetou a comparação, já que os dados mantiveram a mesma estrutura.

A fim de comparar os diferentes métodos de correção da escala, foram realizadas análises filogenéticas de seis matrizes de dados morfométricos e dados morfométricos combinados com os dados morfológicos e comportamentais, a saber:

1. Matriz de dados morfométricos em milímetros sem nenhuma correção do efeito da escala.
2. Matriz de dados morfométricos com a escala corrigida usando o método das proporções.
3. Matriz de dados morfométricos com escala corrigida pelo método dos residuais.
4. Matriz de dados morfométricos em milímetros sem nenhuma correção do efeito da escala mais os dados morfológicos e comportamentais.
5. Matriz de dados morfométricos com a escala corrigida usando o método das proporções mais os dados morfológicos e comportamentais.
6. Matriz de dados morfométricos com escala corrigida pelo método dos residuais mais os dados morfológicos e comportamentais.

#### 2.1.1.2 Caracteres obtidos a partir da morfometria geométrica

Morfometria geométrica foi usada para determinar a forma da asa anterior (Mendes *et al.,* 2007). Para isso, posicionaram-se sete marcos anatômicos (*landmarks*) nos locais mais

conservados ao longo de todas as espécies (figura 1B). A digitalização dos marcos anatômicos, a análise de mínimos quadrados generalizado (*Procrustres*) e a análise de grelhas de deformação (*thin plane splin analisis*) foram conduzidas na série de *software* livre TPS (Rohlf, 2004 a,b; Rohlf, 2006 a,b,c). A análise de mínimos quadrados generalizada corrige a interferência da orientação, a translação e a escala na configuração de marcos anatômicos digitalizados sobre as imagens da asa anterior de cada espécime e, dessa maneira, possibilita a comparação da forma geométrica das asas de todos os indivíduos na análise. A forma geométrica bidimensional das asas anteriores é descrita pelas coordenadas de forma, isto é, a configuração de marcos anatômicos alinhados. Para cada espécie se obteve o consenso das coordenadas de forma. O conjunto das configurações de marcos anatômicos alinhados, constiui o caráter de morfometria geométrica a ser incluído nas análises filogenéticas.

Uma análise de *Relative warps* foi conduzida, essa análise multivariada permite obter um descritor da forma geral da asa anterior a partir das mudanças regionais apresentadas como as variáveis "*partial warps*". Os primeiros dois componentes da análise de *relative warps* para todos os indivíduos foram analisados graficamente na procura de indivíduos fora do padrão de cada espécie, uma vez corrigidos os erros da amostra, a análise de *relative warps* dos consensos das espécies foi utilizada para pesquisar padrões de agrupamento de espécies.

Para avaliar as mudanças na forma da asa com o tamanho dos indivíduos de cada espécie, uma análise de correlação foi realizada entre o primeiro fator da análise de componentes principais (descritor do tamanho geral do corpo) e o primeiro componente dos *relative warps* (descritor da forma geral da asa). Já que não se encontrou normalidade nos dados (Kolmogorov-Smirnof $p < 0,05$) foi utilizada a correlação não paramétrica Spearman (Statsoft 10.0).

As coordenadas de forma por espécie, isto é, o consenso por espécie da configuração de marcos anatômicos alinhados, constitui o caráter de morfometria geométrica a ser incluído nas análises filogenéticas.

## 2.2 CARACTERES MOLECULARES

Sequências parciais de nove genes também foram analisadas. Utilizou-se nas análises de evidência total as unidades ribosomais *16s*, *18s* e *28s*, e as sequências de genes codificadoras de proteínas *Wingless, RNA polymerase II* (*Pol II*), *Elongation factor-1 alpha* (*EF-1a*), *arginine kinase* (ArgK) , *sodium potassium adenosine triphosphate* (NaK), *long-wavelength rhodopsin* (*Opsin*). Todas as sequências selecionadas encontram-se disponíveis no GenBank e foram utilizadas em análises prévias por diversos autores: Cardinal (2010), Michael (2004), Costa *et al*. (2003), Rasmussen e Cameron (2009). Nos casos onde não existia sequência disponível para a espécie, foi utilizada a sequência da espécie mais próxima. Os números de acesso para as sequências de cada espécie e os parâmetros de alinhamento final para cada gene são apresentados no Anexo 2.

As sequências foram alinhadas em Clustal X 2.1 (Larkin *et al.,* 2007). Os parâmetros de alinhamento definitivos foram escolhidos gene a gene, depois de repetidas tentativas seguidas de avaliação visual do conjunto de sequências. A edição final das sequências e a construção das matrizes para análise filogenética foi realizada com o auxilio de Mesquite versão 2.72 (Maddison e Maddison, 2009).

## 2.3 ANÁLISES FILOGÉNETICAS

As análises filogenéticas foram realizadas no programa TNT 1.1, que permite usar caracteres contínuos com valores entre 0 e 65 com até três casas decimais, analisando-os sem discretização. As variáveis de dados morfométricos foram lidas como caracteres contínuos e analisadas no TNT 1.1 usando a análise sem discretização padrão. Esta análise usa o método de Weins (2001) para ler as matrizes de dados contínuos e os métodos de Farris (1970) e Goloboff (1993) na otimização dos caracteres.

Para a busca das árvores mais parcimoniosas utilizou-se busca setorial (*Sect. Search*) e a deriva de árvores (*Tree-drifting*). Tais opções são acessadas na barra de menu Analyze>*New Technology Search* (ícone "run" na barra de menu). A busca setorial baseia-se na escolha de uma parte da árvore, a qual será submetida a uma análise tradicional e permutada na árvore inteira. A análise tradicional consiste do cálculo de árvores de Wagner seguida de permutação de ramos (RAS + TBR "*random addition sequence plus tree bisection reconnection*"). A deriva de árvores (*Tree-drifting*) busca árvores mais parcimoniosas e árvores "sub-ótimas",

comparando o comprimento resultante de cada uma delas (Goloboff, 2008). Os parâmetros utilizados na análise foram: Init. addseqs = 5, Find min. length 100 times. Os índices de consistência, de retenção e o suporte dos clados foram calculados. O valor de suporte dos ramos foi calculado usando "*symmetric re-sampling*" (1000 réplicas, probabilidade 33) seguindo as recomendações de Goloboff (2008) para a análise de dados contínuos usando TNT 1.1.

A análise cladística, usando os dados de morfometria geométrica, utiliza as coordenadas de forma obtidas na análise de mínimos quadrados generalizada. O script *land_searches.run* foi utilizado para analisar os dados de morfometria geométrica combinados com as outras fontes de dados, os argumentos 2 0 foram utilizados para garantir um ótimo desempenho e tempo de análise (Catalano *et al.,* 2010; Goloboff e Catalano, 2010; Catalano, 2013 - comunicação pessoal).

Cada uma das fontes de caracteres foi analisada separadamente antes de ser incluída nas análises de evidência total. Para avaliar o efeito dos grupos externos sobre as diferentes fontes de caracteres, foram comparados os resultados da análise filogenética das matrizes de 26 espécies, onde duas espécies de Centridini formam os grupos externos com as matrizes de 28 espécies onde se incluíam duas espécies filogeneticamente mais distantes do grupo interno, nesse caso duas espécies de Xylocopinae.

Na análise de dados moleculares, além da análise padrão, foi empregada a pesagem implícita de caracteres (função "*Implied weighting"* no TNT 1.1). O TNT permite utilizar o método de pesagem implícita de caracteres descrito por Goloboff (1993), usando pontos flutuantes (=exatos) para ajustar os cálculos. O ajuste para caracteres é calculado como $f = k / ( e + k )$, onde $e$ são passos extras, e $k$ é a constante de concavidade. Dessa maneira, a primeira vez que um caráter apresenta mudança de estado, essa mudança de estado recebe peso "1", mudanças posteriores recebem menor custo, dando menor valor aos caracteres que tendem para a homoplasia na árvore. Essa ferramenta permite resolver o conflito entre caracteres favorecendo aqueles que apresentam maior grau de homologia já que ao final receberam o máximo de peso possível. Além da análise padrão descrita acima, duas análises com pesagem implícita de caracteres foram conduzidas para as matrizes com o total dos 9 genes. Empregaram-se pesagens com $k$=3 e outra com $k$=8.

Na análise de evidência total, três análises foram conduzidas para a matriz que combinou os caracteres morfológicos, caracteres comportamentais e os caracteres obtidos a partir da morfometria tradicional para o conjunto de 28 espécies (uma vez que a influência dos grupos externos foi detectada). Adicionalmente, uma análise incluiu o caráter obtido a partir da morfometria geométrica, a saber:

1- Análise padrão sem incluir a configuração de marcos anatômicos;

2- Análise usando a ferramenta de pesagem de caracteres com K=3 sem incluir a configuração de marcos anatômicos;

3- Análise usando a ferramenta de pesagem de caracteres com K=8 sem incluir a configuração de marcos anatômicos;

4 - Análise usando a configuração de marcos anatômicos (utilizando Scriptt land searches.run 2 0).

# 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 ANÁLISE MORFOMÉTRICA TRADICIONAL

Foram realizadas onze medidas corporais de 414 indivíduos de diferentes localidades (Anexo 3), agrupados em 26 espécies (Tabela 4).

O primeiro fator da análise de componentes principais explicou 87,93% da variação total das espécies, o que faz desse fator um bom descritor do tamanho geral dos organismos comparados aqui. Um total de 12,07% da variação total das espécies pode ser atribuído à variação na forma dos indivíduos (figura 2).

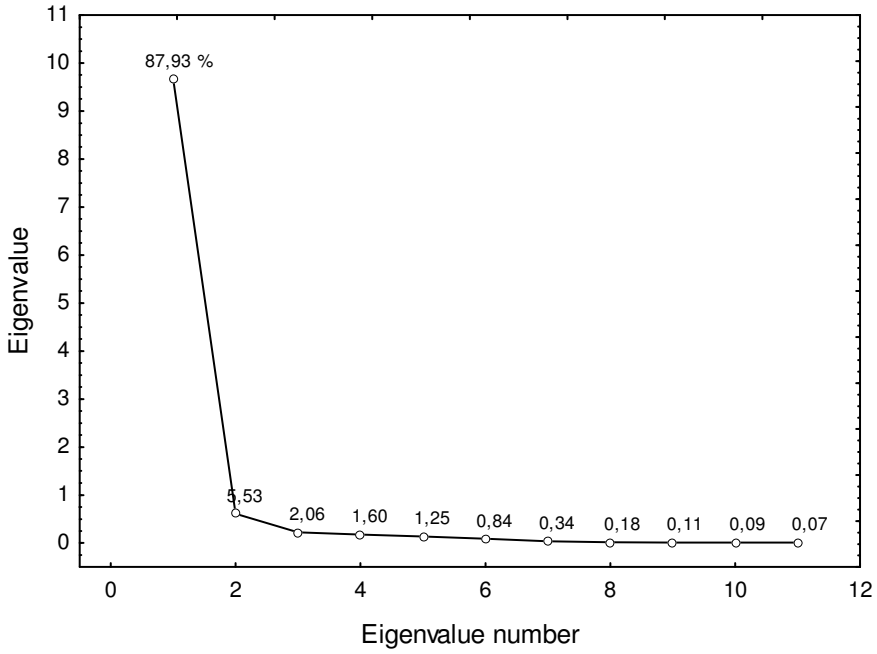



Figura 2: Contribuição de cada Fator da Análise de componentes principais à variação total dos dados morfométricos tradicionais.

**Tabela 4: Média e desvio padrão das variáveis utilizadas (mm), calculadas para as espécies de abelhas corbiculadas e grupos externos.**

| | *Espécie* | largura cabeça | largura cabeça Std. Dev | Comprimento cabeça | Comp. cabeça Std. Dev | comprimento mesossoma | Comp. mesossoma Std. Dev | largura mesossoma | largura mesossoma Std. Dev | altura mesossoma | altura mesossoma Std. Dev | tíbia posterior | tíbia posterior Std. Dev |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *Apis dorsata* | 4,195 | 0,116 | 3,965 | 0,122 | 2,977 | 0,076 | 5,298 | 0,171 | 4,475 | 0,198 | 4,245 | 0,094 |
| 2 | *Apis melífera* | 3,549 | 0,041 | 3,157 | 0,068 | 5,783 | 0,120 | 4,117 | 0,129 | 3,253 | 0,180 | 2,969 | 0,074 |
| 3 | *Bombus pauloensis* | 4,043 | 0,340 | 3,907 | 0,347 | 4,179 | 0,455 | 5,446 | 0,749 | 4,224 | 0,571 | 4,508 | 0,526 |
| 4 | *Bombus morio* | 5,129 | 0,413 | 5,421 | 0,411 | 5,635 | 0,827 | 8,247 | 0,588 | 6,034 | 0,546 | 6,071 | 0,604 |
| 5 | *Bombus nevadensis* | 5,045 | 0,535 | 4,853 | 0,377 | 5,649 | 0,670 | 6,663 | 1,242 | 6,581 | 1,374 | 5,786 | 0,840 |
| 6 | *Bombus robustus* | 2,317 | 0,153 | 1,985 | 0,101 | 2,436 | 0,090 | 4,375 | 0,313 | 3,908 | 0,395 | 3,331 | 0,188 |
| 7 | *Bombus rubicundos* | 2,235 | 0,143 | 1,915 | 0,076 | 2,715 | 0,144 | 4,236 | 0,346 | 3,635 | 0,487 | 3,366 | 0,319 |
| 8 | *Bombus terrestris* | 5,059 | 0,640 | 4,771 | 0,582 | 5,882 | 0,523 | 8,309 | 1,280 | 7,075 | 1,163 | 5,511 | 1,047 |
| 9 | *Centris tarsata* | 4,471 | 0,144 | 3,270 | 0,119 | 3,286 | 0,145 | 4,631 | 0,300 | 3,554 | 0,174 | 2,456 | 0,119 |
| 10 | *Ephicharis rustica flava* | 5,829 | 1,020 | 4,637 | 1,225 | 5,117 | 0,701 | 7,381 | 1,109 | 6,010 | 0,831 | 4,463 | 0,780 |
| 11 | *Eufriesea euriceps* | 6,319 | 0,146 | 5,167 | 0,197 | 5,399 | 0,248 | 6,992 | 0,211 | 6,685 | 0,218 | 5,781 | 0,177 |
| 12 | *Eufriesea violacea* | 5,470 | 0,076 | 4,493 | 0,075 | 4,596 | 0,120 | 5,707 | 0,139 | 5,069 | 0,186 | 4,483 | 0,124 |
| 13 | *Euglossa chordata* | 4,339 | 0,130 | 3,630 | 0,093 | 3,270 | 0,096 | 4,267 | 0,135 | 3,486 | 0,139 | 2,946 | 0,094 |
| 14 | *Eulaema nigrita* | 6,424 | 0,230 | 5,528 | 0,378 | 5,921 | 0,406 | 7,951 | 0,194 | 7,223 | 0,173 | 6,718 | 0,412 |
| 15 | *Frieseomelitta varia* | 2,271 | 0,085 | 1,766 | 0,065 | 1,709 | 0,082 | 2,148 | 0,083 | 1,902 | 0,113 | 3,092 | 0,140 |

**Tabela 4: Média e desvio padrão das variáveis utilizadas (mm), calculadas para as espécies de abelhas corbiculadas e grupos externos. (Continuação)**

| | *Espécie* | largura cabeça | largura cabeça Std. Dev | Comprimento cabeça | Comp. cabeça Std. Dev | comprimento mesossoma | Comp. mesossoma Std. Dev | largura mesossoma | largura mesossoma Std. Dev | altura mesossoma | altura mesossoma Std. Dev | tíbia posterior | tíbia posterior Std. Dev |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 16 | *Geotrigona mombuca* | 2,384 | 0,087 | 1,993 | 0,066 | 1,534 | 0,037 | 2,120 | 0,083 | 1,886 | 0,073 | 2,162 | 0,078 |
| 17 | *Leurotrigona muelleri* | 1,118 | 0,027 | 0,915 | 0,179 | 0,812 | 0,030 | 1,088 | 0,029 | 0,781 | 0,019 | 0,878 | 0,028 |
| 18 | *Melipona quadrifasciata* | 3,862 | 0,078 | 2,994 | 0,101 | 3,072 | 0,131 | 4,241 | 0,202 | 3,188 | 0,151 | 2,912 | 0,114 |
| 19 | *Meliponula bocandei* | 3,268 | 0,088 | 2,707 | 0,115 | 2,526 | 0,075 | 3,245 | 0,066 | 2,808 | 0,066 | 2,627 | 0,092 |
| 20 | *Nannotrigona testaceicornis* | 1,834 | 0,044 | 1,601 | 0,038 | 1,368 | 0,026 | 1,729 | 0,044 | 1,616 | 0,039 | 1,306 | 0,029 |
| 21 | *Oxytrigona tataira* | 2,325 | 0,047 | 1,812 | 0,054 | 1,486 | 0,044 | 1,864 | 0,036 | 1,764 | 0,047 | 1,776 | 0,058 |
| 22 | *Paratrigona lineata* | 1,628 | 0,047 | 1,568 | 0,038 | 1,316 | 0,038 | 1,800 | 0,063 | 1,488 | 0,046 | 1,293 | 0,050 |
| 23 | *Plebeia droryana* | 1,621 | 0,031 | 1,347 | 0,031 | 1,153 | 0,051 | 1,597 | 0,031 | 1,320 | 0,022 | 1,260 | 0,025 |
| 24 | *Scaptotrigona bipunctata* | 2,724 | 0,047 | 2,186 | 0,036 | 1,880 | 0,043 | 2,402 | 0,068 | 2,043 | 0,060 | 1,898 | 0,075 |
| 25 | *Trigona intermedia* | 1,105 | 0,034 | 1,003 | 0,034 | 0,936 | 0,050 | 1,091 | 0,039 | 0,902 | 0,033 | 0,933 | 0,041 |
| 26 | *Trigona spinipes* | 2,706 | 0,064 | 2,233 | 0,059 | 2,106 | 0,084 | 2,520 | 0,110 | 2,418 | 0,126 | 2,615 | 0,108 |
| | *Total* | 3,187 | 1,560 | 2,730 | 1,410 | 2,871 | 1,710 | 3,766 | 2,213 | 3,163 | 1,851 | 2,979 | 1,655 |

**Tabela 4: Média e desvio padrão das variáveis utilizadas (mm), calculadas para as espécies de abelhas corbiculadas e grupos externos. (continuação).**

| | *Espécie* | fêmur posterior | fêmur posterior Std. Dev | largura máxima corbicula | largura máx. corbícula Std. Dev | tíbia anterior | tíbia anterior Std. Dev | largura máxima asa | largura máx. asa Std. Dev | comprimento máximo asa | comprimento máx. asa Std. Dev | N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *Apis dorsata* | 2,813 | 0,090 | 1,319 | 0,066 | 2,225 | 0,074 | 12,504 | 0,116 | 4,113 | 0,233 | 5 |
| 2 | *Apis melífera* | 2,132 | 0,073 | 1,003 | 0,031 | 1,766 | 0,062 | 8,452 | 0,151 | 2,813 | 0,102 | 20 |
| 3 | *Bombus pauloensis* | 3,418 | 0,380 | 1,274 | 0,139 | 2,591 | 0,279 | 12,652 | 1,359 | 4,467 | 0,532 | 20 |
| 4 | *Bombus morio* | 4,713 | 0,301 | 1,741 | 0,128 | 3,553 | 0,263 | 17,852 | 1,504 | 6,482 | 0,801 | 20 |
| 5 | *Bombus nevadensis* | 4,360 | 0,859 | 1,828 | 0,238 | 3,457 | 0,521 | 16,782 | 2,177 | 6,142 | 0,964 | 3 |
| 6 | *Bombus robustus* | 2,560 | 0,173 | 0,279 | 0,021 | 0,592 | 0,030 | 12,344 | 0,931 | 4,139 | 0,376 | 20 |
| 7 | *Bombus rubicundos* | 2,406 | 0,193 | 0,292 | 0,013 | 0,634 | 0,063 | 12,130 | 0,975 | 4,092 | 0,367 | 20 |
| 8 | *Bombus terrestres* | 3,167 | 0,407 | 1,788 | 0,281 | 3,060 | 0,618 | 15,219 | 1,280 | 5,265 | 1,163 | 2 |
| 9 | *Centris tarsata* | 2,160 | 0,075 | 0,938 | 0,067 | 2,219 | 0,088 | 9,436 | 0,475 | 3,077 | 0,245 | 20 |
| 10 | *Ephicharis rustica flava* | 3,573 | 0,627 | 1,288 | 0,695 | 2,953 | 1,644 | 17,123 | 0,380 | 5,745 | 0,258 | 11 |
| 11 | *Eufriesea euriceps* | 3,664 | 0,144 | 2,655 | 0,097 | 2,970 | 0,085 | 14,269 | 0,369 | 4,726 | 0,196 | 11 |
| 12 | *Eufriesea violacea* | 2,879 | 0,062 | 1,987 | 0,000 | 2,568 | 0,047 | 11,003 | 0,240 | 11,003 | 0,240 | 8 |
| 13 | *Euglossa chordata* | 2,086 | 0,074 | 1,704 | 0,011 | 1,712 | 0,059 | 7,619 | 0,206 | 2,437 | 0,061 | 8 |
| 14 | *Eulaema nigrita* | 3,954 | 0,614 | 2,428 | 0,628 | 2,768 | 0,854 | 16,692 | 0,945 | 5,505 | 0,390 | 20 |

**Tabela 4: Média e desvio padrão das variáveis utilizadas (mm), calculadas para as espécies de abelhas corbiculadas e grupos externos. (continuação).**

| | *Espécie* | fêmur posterior | fêmur posterior Std. Dev | largura máxima corbicula | largura máx. corbícula Std. Dev | tíbia anterior | tíbia anterior Std. Dev | largura máxima asa | largura máx. asa Std. Dev | comprimento máximo asa | comprimento máx. asa Std. Dev | N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | *Frieseomelitta varia* | 1,902 | 0,101 | 1,096 | 0,059 | 1,082 | 0,060 | 6,207 | 0,382 | 2,040 | 0,095 | 20 |
| 16 | *Geotrigona Mombuca* | 1,385 | 0,049 | 0,863 | 0,021 | 1,141 | 0,038 | 5,339 | 0,250 | 1,876 | 0,091 | 20 |
| 17 | *Leurotrigona muelleri* | 0,591 | 0,030 | 0,323 | 0,014 | 0,498 | 0,020 | 2,376 | 0,061 | 0,930 | 0,049 | 20 |
| 18 | *Melipona quadrifasciata* | 2,155 | 0,098 | 1,073 | 0,032 | 1,937 | 0,043 | 7,593 | 0,175 | 2,739 | 0,110 | 20 |
| 19 | *Meliponula bocandei* | 1,753 | 0,102 | 1,125 | 0,051 | 1,606 | 0,053 | 6,709 | 0,206 | 2,532 | 0,055 | 9 |
| 20 | *Nannotrigona testaceicornis* | 0,871 | 0,032 | 0,516 | 0,020 | 0,798 | 0,021 | 4,166 | 0,086 | 1,518 | 0,082 | 20 |
| 21 | *Oxytrigona tataira* | 1,256 | 0,049 | 0,632 | 0,020 | 1,047 | 0,031 | 4,849 | 0,135 | 1,727 | 0,071 | 20 |
| 22 | *Paratrigona lineata* | 0,856 | 0,036 | 0,485 | 0,022 | 0,760 | 0,033 | 3,455 | 0,173 | 1,264 | 0,109 | 20 |
| 23 | *Plebeia droryana* | 0,859 | 0,021 | 0,477 | 0,019 | 0,728 | 0,026 | 3,589 | 0,062 | 1,377 | 0,032 | 20 |
| 24 | *Scaptotrigona bipunctata* | 1,375 | 0,055 | 0,826 | 0,029 | 1,219 | 0,040 | 5,849 | 0,151 | 2,102 | 0,068 | 20 |
| 25 | *Trigona intermedia* | 0,650 | 0,043 | 0,313 | 0,012 | 0,504 | 0,028 | 2,193 | 0,081 | 0,870 | 0,064 | 17 |
| 26 | *Trigona spinipes* | 1,703 | 0,090 | 0,898 | 0,058 | 1,343 | 0,044 | 6,665 | 0,180 | 2,342 | 0,108 | 20 |
| | *Total* | 2,091 | 1,159 | 0,983 | 0,643 | 1,555 | 0,970 | 8,522 | 4,772 | 3,091 | 1,964 | 414 |

Ao averiguar os dois primeiros componentes da análise, observou-se agrupamento dos indivíduos por espécie e agrupamento das espécies ao longo dos dois eixos, tamanho (horizontal) e forma (vertical). Os grupos identificados foram: Grupo1: as espécies com os maiores tamanhos, *Bombus pauloensis, Bombus morio, Eufriesea violacea* e alguns indivíduos de *Eulaema nigrita,*; grupo 2: *Melipona* sp., *Apis* sp., *Centris* sp.; grupo 3: *Trigona* e *Plebeia*; grupo 4: *Bombus robustus* e *Bombus rubicundos; g*rupo 5: *Nannotrigona testaceicornis* e *Paratrigona lineata*; grupo 6: espécies de menor tamanho, *Trigona intermedia* e *Leurotrigona muelleri*. Adicionalmente *Euglossa chordata, Oxytrigona tataira e Meliponula bocandei* separaram-se de todas as outras espécies (figura 3).

Nos casos de *Epicharis rustica flava* e *Eulaema nigrita,* houve uma clara separação dos indivíduos Brasileiros e Andinos, sugerindo que pode haver duas espécies sob o mesmo nome nesta análise. *Bombus*, representado por seis espécies, apresentou separação das espécies Andinas, principalmente no eixo vertical, o que sugere que a diferença na forma do corpo é predominante. Visualmente é possível detectar que o corpo de *Bombus robustos* e *Bombus robicundos* é mais compacto que o das outras espécies de *Bombus*. *Eufriesea* mostrou separação das espécies no eixo horizontal, o que sugere claras diferenças no tamanho dos indivíduos. Somente em *Bombus pauloensis* foi encontrado um dos indivíduos comportando-se fora do padrão da espécie, por se apresentar com menor tamanho que seus co-específicos. Porém, não foi possível encontrar a causa dessa diferença.

O valor de probabilidade da regressão entre o primeiro fator da análise de componentes principais e a média de cada uma das onze medidas para cada espécie foi inferior a 0,0001 em todos os casos. Os valores do coeficiente da regressão ($r^2$) encontram-se acima de 0,90 na maioria das variáveis, com exceção da largura máxima da corbícula (0,75) e a asa anterior (largura = 0,88, comprimento = 0,67). Isso sugere uma forte relação da maioria das estruturas com o tamanho (Tabela 5). Os residuais dessa regressão serão utilizados como caracteres contínuos em análises filogenéticas posteriores. O uso desses residuais é um dos métodos utilizados em análises de biologia comparada para a correção da interferência do tamanho sobre a evolução e adaptação da forma geral do corpo das espécies (Somers, 1986; Damus e Otis, 1997; Lamborot e Eaton, 1997; Garcia e Sarmiento 2011).

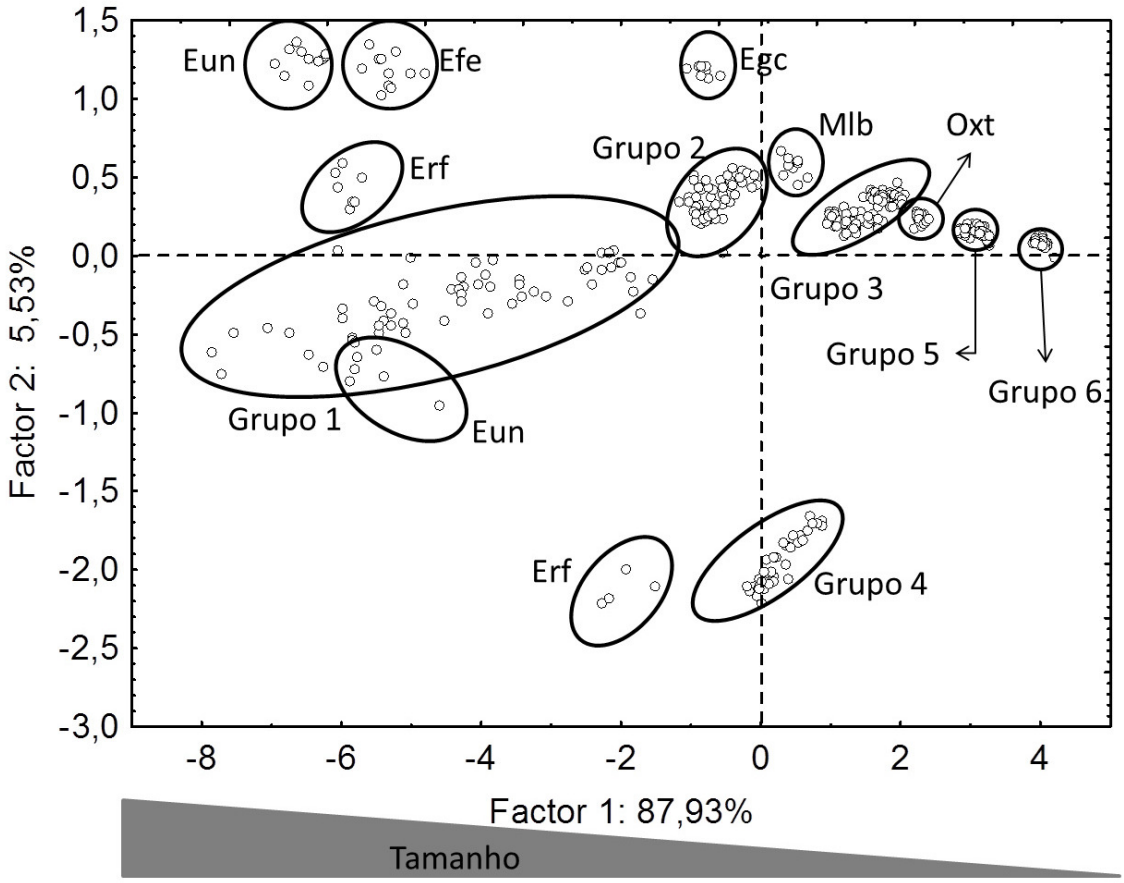



Figura 3: Dois primeiros componentes da análise de componentes principais mostrando o agrupamento dos indivíduos e das espécies de abelhas corbiculadas. Grupo 1, Grupo 2, Grupo 3 e Grupo 4, ver explicação no texto. Eun: *Eulaema nigrita*, Erf: *Epicharis rustica*, Efe: *Eufriesea euriceps*, Egc: *Euglossa chordata, Mlb: Melipunula bocandei, Oxt: Oxitrigona tataira.* O gradiente de tamanho pode ser observado no eixo horizontal, espécies maiores são localizadas no extremo esquerdo, enquanto as menores são localizadas no extremo direito. O eixo vertical pode ser interpretado como mudanças na forma.

**Tabela 5: Coeficientes da regressão entre o primeiro fator da análise de componentes principais e cada uma das onze medidas.**

| Variável | Coeficiente de regressão ajustado ($R^2$) |
|---|---|
| Largura da cabeça | 0,91 |
| Comprimento da cabeça | 0,96 |
| Comprimento do mesossoma | 0,94 |
| Largura do mesossoma | 0,95 |
| Altura do mesossoma | 0,95 |
| Comprimento da tíbia posterior | 0,93 |
| Comprimento do fêmur posterior | 0,92 |
| Largura máx. da corbícula | 0,75 |
| Comprimento da tíbia anterior | 0,90 |
| Largura máx. da asa | 0,88 |
| Comprimento máximo da asa | 0,67 |

## 3.2 ANÁLISE DA MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DA ASA ANTERIOR

Foram analisados sete marcos anatômicos (*landmarks*) na asa anterior de 228 indivíduos pertencentes as 26 espécies. Esses marcos anatômicos foram localizados nos lugares mais conservados da asa anterior ao longo de todo o grupo. O primeiro componente da análise de *Relative warps* descreveu 73,82% da variação total da forma da asa anterior (figura 4). Ao analisar os dois primeiros componentes da análise de *Relative warps* para todos os indivíduos foi possível identificar três grupos de espécies: grupo 1: Centridini, Euglossina, Apina e Bombina; grupo 2: Meliponina exceto duas espécies; grupo 3: *Trigona intermedia* e *Leurotrigona muelleri*, espécies que apresentaram o menor tamanho corporal (Figura 5).

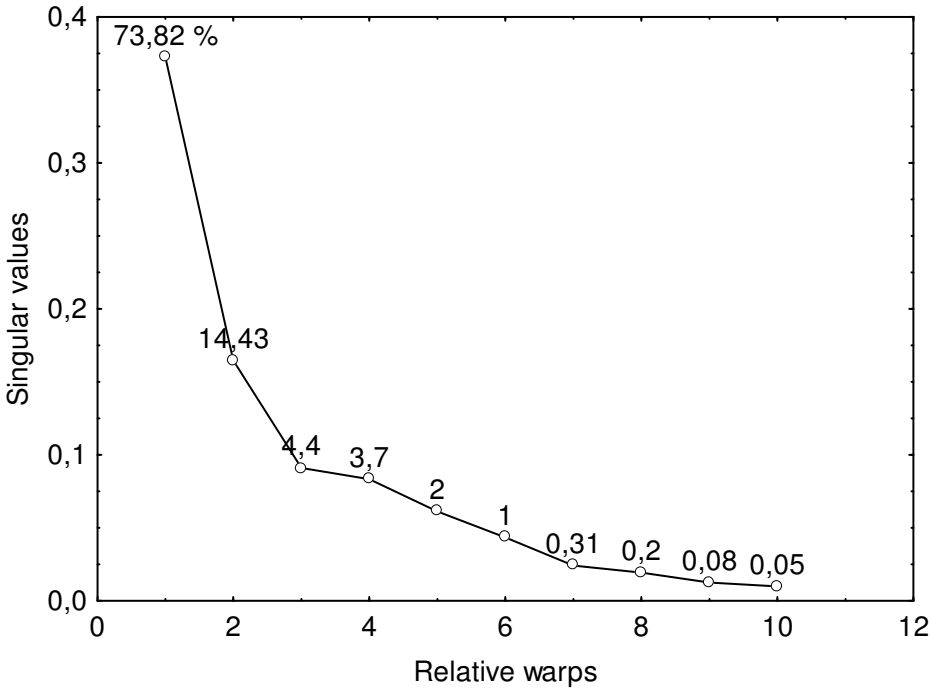



Figura 4: Contribuição de cada componente da análise de *relative warps* à variação total da forma das asas anteriores.

Houve uma relação significativa entre a forma das asas e o tamanho geral do corpo das espécies. Os testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnof) mostraram diferenças significativas com o padrão esperado nos dados, pelo qual utilizou-se a correlação de Spearman (não paramétrica) para avaliar a correlação entre as variáveis. A correlação de Spearman foi significativa e evidenciou que a forma da asa anterior está relacionada com o tamanho do corpo das espécies. Espécies de maior tamanho apresentaram asas alongadas, com a região distal mais estreita, estigma pequeno e venação de menor comprimento; enquanto as asas de espécies menores tiveram asas arredondadas, com a região distal mais larga, estigmas grandes e venação mais comprida; concordando com as observações feitas em outros Hymenoptera por Garcia e Sarmiento (2012) e Danforth (1989).

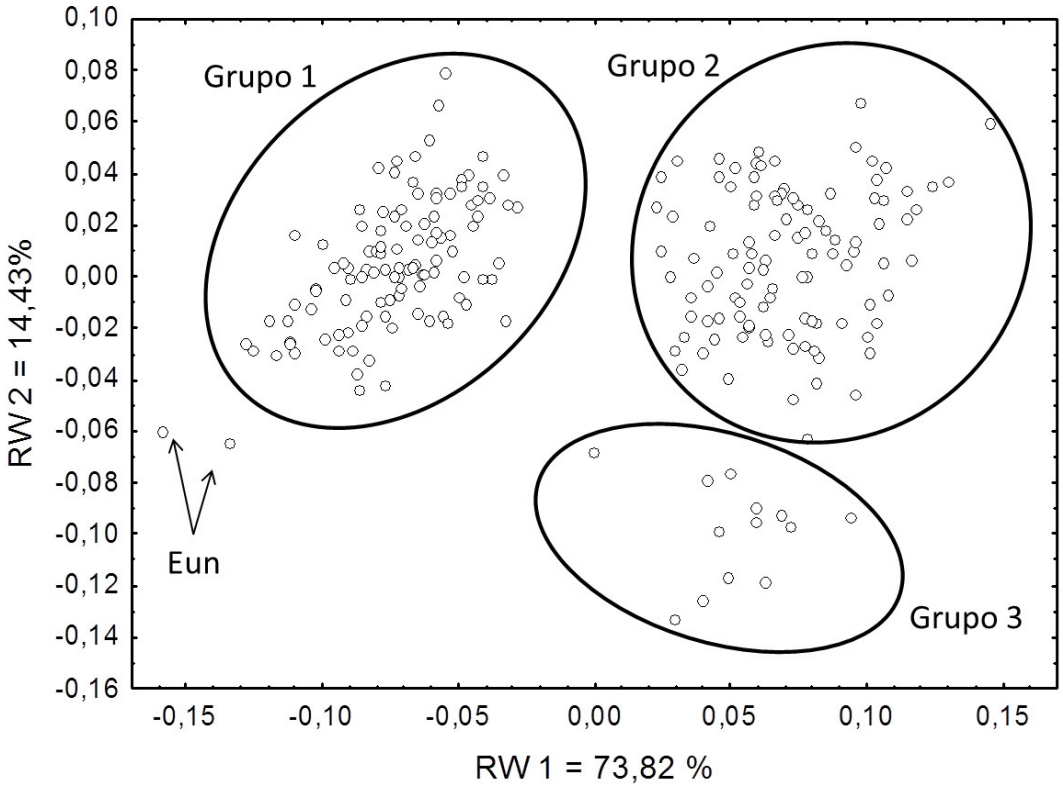



Figura 5: Dois primeiros componentes da análise de *Relative warps* mostrando o agrupamento de espécies de acordo com a forma da sua asa anterior. Cada ponto representa um indivíduo na análise. Eun: *Eulaema nigrita.*

As mudanças na forma da asa são restringidas pela aerodinâmica do vôo. Indivíduos de tamanhos diferentes enfrentam desafios aerodinâmicos diferentes. As espécies menores enfrentam maior resistência e maior densidade relativa do ar ao voar, para o qual os estigmas maiores e asas arredondadas ou com formas similares a remos são as estratégias mais comuns. Por outro lado, nas espécies mais pesadas, a sustentação e a deformação das asas causada pelo ar circulante são os problemas mais enfrentados durante o vôo. A solução nesse último caso é uma venação estendida até a parte mais distal da asa, além de asas alongadas que oferecem maior sustentação (Danforth, 1989; Dudley, 2001; Dudley, 2002; Garcia e Sarmiento, 2012).

Nas abelhas corbiculadas, uma análise detalhada das grelhas de deformação permite observar que a forma da asa é bem conservada entre os indivíduos da mesma tribo, apesar de apresentarem tamanhos diferentes. É o caso de *Bombus robustus* e *Bombus morio* (Bombina), espécies que apresentam a mesma forma da asa anterior apesar de ter tamanhos diferentes. Por

outro lado, *Melipona quadrifasciata (*Melípona*)* e *Bombus robustus* (Bombina) apresentam a forma da asa muito diferente, apesar das duas espécies apresentarem tamanhos muito similares (figura 6). Ao que parece, apesar de algumas espécies serem praticamente do mesmo tamanho e enfrentarem os mesmos desafios aerodinâmicos, como *Bombus robustus* e *Melipona quadrifasciata*, existe uma limitação na mudança da forma da asa que pode estar relacionada à origem filogenética de cada grupo, o que impediria que ambas as espécies alcançassem a mesma forma das asas. Se essa restrição filogenética existe realmente, pode representar um sinal filogenético útil para ser explorado em análises filogenéticas.

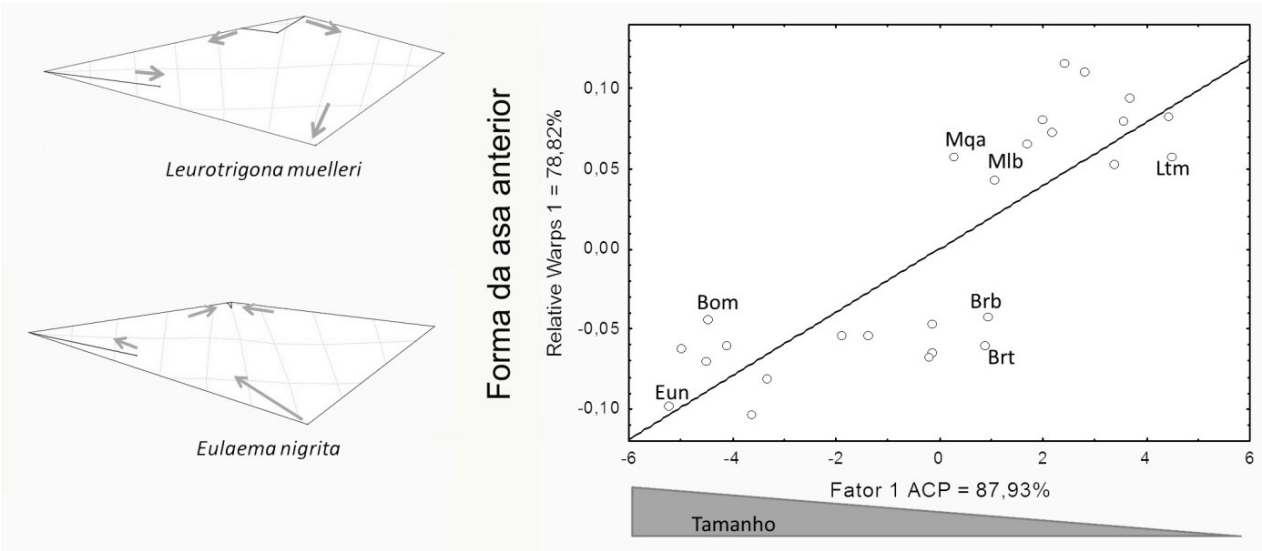



Figura 6: Relação entre a forma da asa anterior e o tamanho corporal das espécies estudadas. Correlação não paramétrica Spearman $p < 0,05$, co-relação = 0,84. O gradiente de tamanho é mostrado na parte inferior, espécies com tamanhos maiores se encontram na esquerda do plano. O gradiente de forma da asa é mostrado ao lado esquerdo. As setas assinalam a direção das mudanças observadas. Bom: *Bombus morio*; Brb: *Bombus robicundus*; Brt: *Bombus robustus* Mqa: *Melipona quadrifasciata*; Mlb: *Meliponula bocandei*; Eun: *Eulaema nigrita*, Ltm: *Leurotrigona muelleri.*

Catalano *et al.* (2010) e Goloboff e Catalano (2010) desenvolveram algoritmos para realizar a análise filogenética e a otimização de caracteres obtidos a partir da morfometria

geométrica usando métodos de parcimônia. Esse método considera que a configuração de marcos anatômicos alinhados é um caráter e permite evitar o problema de dependência de caracteres observado com a análise usando *partial warps* proposta por Klingenberg e Gidaszewski (2010). A Tabela 6 mostra a configuração dos marcos anatômicos alinhados mediante análises de mínimos quadrados generalizado que será utilizada como caráter em análises filogenéticas posteriores.

**Tabela 6: Configuração de marcos anatômicos da asa anterior corrigida mediante a análise de mínimos quadrados generalizada**

| Espécie | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | X,Y | X,Y | X,Y | X,Y | X,Y | X,Y | X,Y |
| ***Centris tarsata*** | -0.629,-0.013 | -0.016,0.107 | 0.012,0.087 | 0.623,0.062 | 0.211,-0.286 | -0.234,-0.074 | 0.033,0.117 |
| ***Ephicharis rustica flava*** | -0.612,0.000 | -0.024,0.106 | -0.002,0.090 | 0.632,0.049 | 0.242,-0.280 | -0.245,-0.078 | 0.009,0.113 |
| ***Apis dorsata*** | -0.619,-0.031 | -0.004,0.107 | 0.024,0.096 | 0.610,0.042 | 0.231,-0.266 | -0.284,-0.063 | 0.042,0.116 |
| ***Apis melífera*** | -0.622,-0.038 | -0.001,0.109 | 0.029,0.100 | 0.606,0.039 | 0.228,-0.269 | -0.282,-0.061 | 0.043,0.120 |
| ***Bombus pauloensis*** | -0.596,-0.023 | -0.020,0.108 | 0.025,0.098 | 0.615,0.046 | 0.232,-0.283 | -0.296,-0.075 | 0.039,0.128 |
| ***Bombus morio*** | -0.597,-0.016 | -0.015,0.109 | 0.019,0.101 | 0.609,0.053 | 0.239,-0.298 | -0.289,-0.075 | 0.033,0.126 |
| ***Bombus nevadensis*** | -0.611,-0.010 | -0.011,0.105 | 0.032,0.098 | 0.610,0.073 | 0.209,-0.301 | -0.271,-0.086 | 0.042,0.121 |
| ***Bombus robustus*** | -0.604,-0.021 | -0.015,0.109 | 0.022,0.099 | 0.616,0.045 | 0.231,-0.278 | -0.285,-0.077 | 0.035,0.123 |
| ***Bombus rubicundos*** | -0.617,-0.034 | 0.002,0.105 | 0.032,0.097 | 0.612,0.052 | 0.213,-0.269 | -0.292,-0.067 | 0.048,0.115 |
| ***Bombus terrestris*** | -0.610,-0.009 | -0.025,0.104 | 0.023,0.089 | 0.618,0.053 | 0.232,-0.273 | -0.278,-0.081 | 0.039,0.117 |
| ***Eufriesea euriceps*** | -0.609,-0.012 | -0.013,0.110 | 0.015,0.089 | 0.610,0.041 | 0.253,-0.269 | -0.289,-0.078 | 0.034,0.119 |
| ***Eufriesea violacea*** | -0.611,-0.005 | -0.019,0.108 | 0.011,0.083 | 0.614,0.040 | 0.258,-0.263 | -0.282,-0.079 | 0.028,0.116 |
| ***Euglossa chordata*** | -0.624,-0.025 | -0.018,0.111 | 0.018,0.090 | 0.608,0.024 | 0.257,-0.253 | -0.275,-0.064 | 0.035,0.118 |
| ***Eulaema nigrita*** | -0.588,-0.003 | -0.035,0.106 | -0.003,0.087 | 0.634,0.048 | 0.252,-0.281 | -0.281,-0.073 | 0.020,0.116 |
| ***Frieseomelitta varia*** | -0.648,-0.048 | -0.033,0.101 | 0.070,0.094 | 0.572,0.057 | 0.179,-0.265 | -0.282,-0.084 | 0.141,0.145 |

**Tabela 6: Configuração de marcos anatômicos da asa anterior corrigida mediante a análise de mínimos quadrados generalizada (continuação).**

| Espécie | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | X,Y | X,Y | X,Y | X,Y | X,Y | X,Y | X,Y |
| ***Geotrigona mombuca*** | -0.646,-0.067 | -0.002,0.114 | 0.084,0.105 | 0.544,0.051 | 0.180,-0.271 | -0.320,-0.088 | 0.160,0.156 |
| ***Leurotrigona muelleri*** | -0.591,-0.028 | -0.107,0.110 | 0.045,0.094 | 0.600,0.051 | 0.199,-0.305 | -0.274,-0.098 | 0.128,0.176 |
| ***Melipona quadrifasciata*** | -0.659,-0.038 | -0.009,0.112 | 0.052,0.104 | 0.543,0.044 | 0.224,-0.279 | -0.274,-0.088 | 0.122,0.146 |
| ***Meliponula bocandei*** | -0.634,-0.046 | -0.026,0.126 | 0.045,0.116 | 0.562,0.031 | 0.217,-0.295 | -0.268,-0.093 | 0.103,0.160 |
| ***Nannotrigona testaceicornis*** | -0.629,-0.038 | -0.043,0.113 | 0.051,0.100 | 0.574,0.045 | 0.207,-0.281 | -0.280,-0.093 | 0.120,0.154 |
| ***Oxytrigona tataira*** | -0.646,-0.058 | -0.011,0.120 | 0.079,0.103 | 0.550,0.063 | 0.169,-0.290 | -0.294,-0.094 | 0.154,0.155 |
| ***Paratrigona lineata*** | -0.644,-0.048 | -0.039,0.121 | 0.066,0.108 | 0.557,0.035 | 0.203,-0.275 | -0.277,-0.100 | 0.134,0.157 |
| ***Plebeia droryana*** | -0.621,-0.048 | -0.057,0.118 | 0.054,0.105 | 0.565,0.048 | 0.193,-0.295 | -0.290,-0.096 | 0.156,0.168 |
| ***Scaptotrigona bipunctata*** | -0.643,-0.051 | -0.016,0.118 | 0.057,0.106 | 0.559,0.042 | 0.198,-0.278 | -0.284,-0.093 | 0.129,0.157 |
| ***Trigona intermedia*** | -0.603,-0.029 | -0.096,0.115 | 0.054,0.095 | 0.588,0.063 | 0.182,-0.314 | -0.268,-0.106 | 0.144,0.176 |
| ***Trigona spinipes*** | -0.625,-0.049 | -0.038,0.111 | 0.056,0.102 | 0.573,0.038 | 0.204,-0.271 | -0.301,-0.089 | 0.131,0.158 |

## 3.3 ANÁLISES FILOGENÉTICAS DE DADOS MORFOLÓGICOS

### 3.3.1 Análise filogenética de caracteres morfológicos e comportamentais discretos.

Foram analisadas oito matrizes de caracteres discretos (morfológicos e comportamentais) obtidos da literatura. Quatro das matrizes incluíam 26 espécies, das quais duas espécies de Centridini compuseram os grupos externos. A fim de pesquisar a interferência da escolha dos grupos externos sobre os dados discretos, outras quatro matrizes com 28 espécies foram analisadas, nas quais duas espécies de Xylocopinae foram incluídas nos grupos externos. A tabela 7 mostra o resumo dos resultados da análise filogenética para essas matrizes.

O conjunto de 107 caracteres selecionados por Chavarria e Carpenter (1994) não suportou a monofilia da tribo Apini em nenhuma das matrizes, pois ao analisar as 26 espécies, *Epicharis rustica* é colocada dentro de Euglossina, mostrando-lhe como sendo parafilético (figura 7A). Ao analisar as 28 espécies, uma politomia entre os grupos externos, Euglossina e o resto dos Apini é sugerida (figura 8A). Esse resultado sugere que o conjunto de caracteres morfológicos de larvas e adultos selecionados por Chavarria e Carpenter (1994) é susceptível a escolha dos grupos externos (ao menos para a amostra de espécies desse estudo).

Na análise realizada por Chavarria e Carpenter (1994), Euglossina é sugerida como um grupo monofilético bem suportado por sinapomorfias. Nesse trabalho eles realizaram uma análise de evidência total de 20 espécies onde eram incluídas apenas duas espécies de Euglossina e não foram incluídas espécies de Centridini nos grupos externos. Na seleção dos 107 caracteres morfológicos para a análise atual, os dados moleculares e os caracteres morfológicos referentes às asas e ao tamanho dos indivíduos foram eliminados para não apresentar repetição de caracteres com os dados morfométricos que serão adicionados posteriormente na análise (ver Anexo 1).

**Tabela 7: Resumo dos resultados da análise filogenética de caracteres morfológicos e comportamentais (caracteres discretos) para as abelhas corbiculadas e os grupos externos.**

| N° de espécies | Caracteres | N° de caracteres | N° de configurações analisadas | Compr. | IC | IR | N° de Configurações retidas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **26** | Morfológicos de larvas e adultos. (Chavarria e Carpenter 1994) | 107 | 56359038 | 172 | 0,721 | 0,930 | 1 |
| **26** | Morfologia do aparelho de ferrão (Cardinal *et al.* 2007) | 31 | 6378324 | 46 | 0,913 | 0,981 | 2 |
| **26** | Comportamentais (Noll 2002) | 42 | 64498811 | 79 | 0,823 | 0,954 | 1 |
| **26** | Morfológicos e comportamentais combinados | 180 | 75811373 | 318 | 0,736 | 0,936 | 1 |
| **28** | Morfológicos de larvas e adultos. (Chavarria e Carpenter 1994) | 107 | 70021556 | 199 | 0,628 | 0,904 | 5 |
| **28** | Morfologia do aparelho de ferrão (Cardinal *et al.* 2007) | 31 | 66104268 | 46 | 0,913 | 0,984 | 2 |
| **28** | Comportamentais (Noll 2002) | 42 | 75314612 | 80 | 0,813 | 0,959 | 1 |
| **28** | Morfológicos e comportamentais combinados | 180 | 87362278 | 352 | 0,668 | 0,915 | 8 |

No atual estudo incluem-se outras duas espécies de Euglossina e duas espécies de Centridini cujos dados foram obtidos por Roig-Alsina e Michener (1993), fonte utilizada originalmente por Chavarria e Carpenter (1994). A análise de Roig-Alsina e Michener (1993) é muito mais ampla, incluindo táxons de todo o grupo das "abelhas de língua longa". Além disso, eles também sugerem Euglossina como um grupo monofilético na base de Apini sustentado por 14 sinapomorfias, que incluem caracteres das asas e formato do corpo que foram retirados na seleção de caracteres discretos para este estudo.

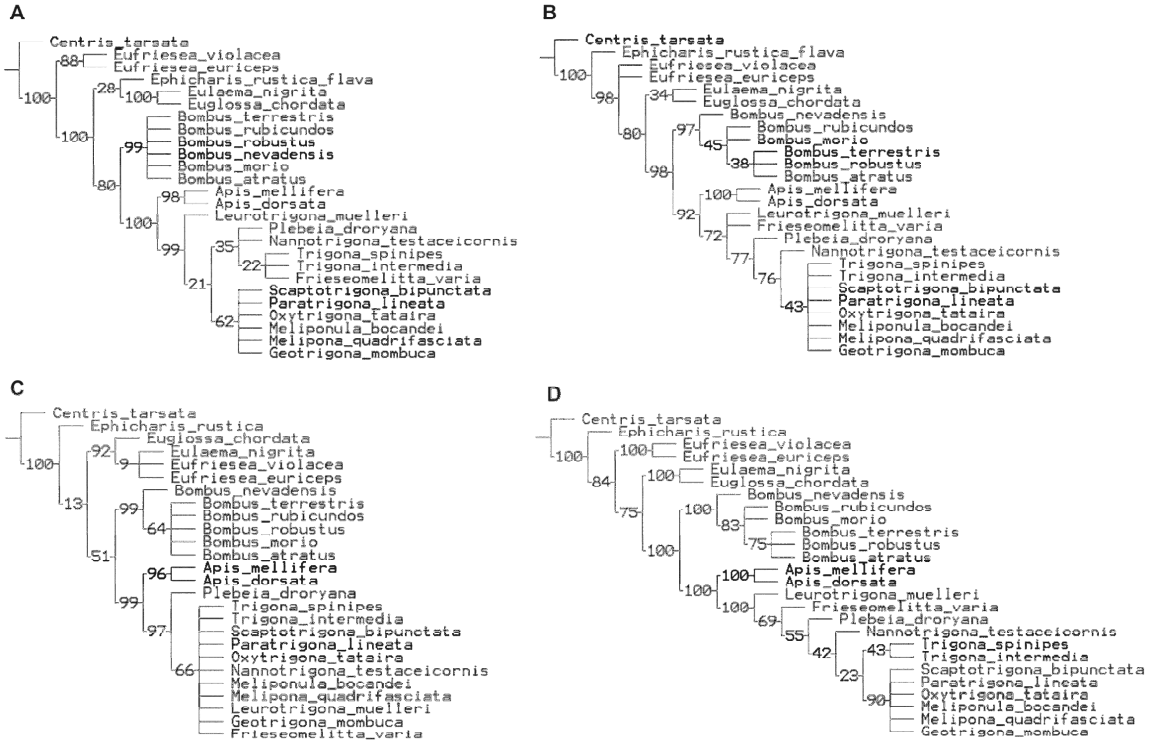



Figura 7: Hipóteses filogenéticas obtidas a partir da análise dos dados morfológicos e comportamentais discretos de 26 espécies de Apini com Centridini como grupos externos. A. Morfologia de larvas e adultos (Chavarria e Carpenter, 1994). B. Comportamento das espécies (Noll, 2002). C. Morfologia do aparelho de ferrão (Cardinal *et al*., 2007). D. Matriz com o total de dados morfológicos e comportamentais. Nos casos com mais de uma árvore igualmente parcimoniosa selecionada, o consenso estrito é calculado e apresentado. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. As matrizes analisadas são apresentadas no Anexo 4.

Os caracteres comportamentais (Noll, 2002) não apresentaram diferença entre as análises com 26 ou 28 espécies, ou seja, eles mantiveram Apini como um grupo monofilético fortemente suportado e Euglossina como sendo um clado parafilético. Os caracteres comportamentais não aparentam ser susceptíveis à escolha dos grupos externos pelo menos para o conjunto de espécies dessa análise (figura 7B e figura 8B).

Os caracteres obtidos pela morfologia do aparelho de ferrão (Cardinal *et al.,* 2007) aparentaram suportar a monofilia dos Apini, porém, o suporte do clado foi muito baixo em ambas as matrizes. Em contrapartida, esses caracteres são os únicos a suportar fortemente a monofilia da subtribo Euglossina, mostrando-se incongruentes com os demais conjuntos de caracteres (figura 7C e figura 8C).

A análise das matrizes do conjunto total de caracteres discretos (180 caracteres morfológicos e comportamentais) mostrou o mesmo padrão sugerido por Noll (2002). Porém, o suporte da monofilia dos Apini foi abalado com a inclusão das duas espécies mais distantes nos grupos externos. O valor do suporte do clado Apini mudou de 84 para 43 ao incluir *Xylocopa virginica* e *Exoneura bicolor* nos grupos externos. A subtribo Euglossina manteve a sua configuração como grupo parafilético na base da tribo Apini (figura 7D e figura 8D). É possível que as incongruências que os diferentes conjuntos de caracteres mostraram em relação à monofilia de Euglossina influenciem fortemente o valor do suporte do clado Apini quando se introduz grupos externos mais distantes na análise.

Nas oito análises de caracteres discretos, as subtribos Bombina, Meliponina e Apina foram encontradas como grupos monofiléticos fortemente suportados. Ao incluir duas espécies mais distantes na amostra dosgrupos externos, observou-se pouca ou nenhuma diferença no valor do suporte dos clados. Esse resultado sugere que a escolha dos externos não causa efeito importante sobre a organização desses clados na árvore proposta com os dados morfológicos e comportamentais analisados em conjunto (Figura 7 e Figura 8). O clado (Bombina + (Apina + Meliponina)) é sugerido pelos três tipos de caracteres morfológicos e apresenta suporte altíssimo ao combinar as três matrizes de dados, sem sofrer alterações importantes após introduzir as duas espécies de Xylocopinae como grupos externos (Figura 7D e Figura 8D).

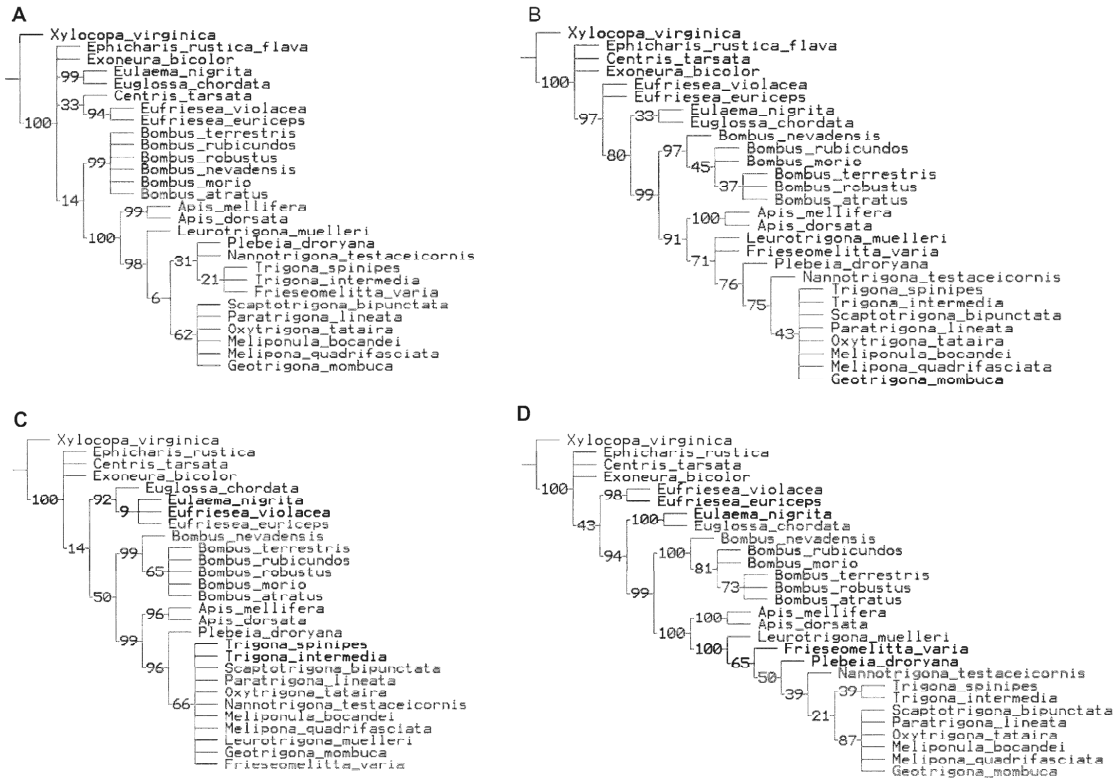



Figura 8 Hipóteses filogenéticas obtidas a partir da análise dos dados morfológicos e comportamentais discretos de 28 espécies de Apini com Centridini e Xylocopinae como grupos externos. A. Morfologia de larvas e adultos (Chavarria e Carpenter, 1994). B. Comportamento das espécies (Noll, 2002). C. Morfologia do aparelho de ferrão (Cardinal *et al.*, 2007). D. Matriz com o total de dados morfológicos e comportamentais. Nos casos com mais de uma árvore igualmente parcimoniosa selecionada, o consenso estrito é calculado e apresentado. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. As matrizes analisadas são apresentadas no Anexo 5.

### 3.3.2 Análise filogenética de dados morfométricos tradicionais

Foram analisadas seis matrizes de dados incluindo apenas dados morfométricos tradicionais, dados morfológicos e comportamentais (Anexo 6). Foi retida uma árvore mais parcimoniosa entre todas as configurações analisadas em cada caso. A tabela 8 permite comparar o número de caracteres, o índice de consistência, o índice de retenção, o número de configurações analisadas, o comprimento da árvore e o suporte das tribos na árvore mais parcimoniosa selecionada para cada matriz. As árvores são apresentadas na figura 9.

**Tabela 8: Resumo dos resultados da análise filogenética de dados morfométricos tradicionais de Apini (caracteres contínuos).**

| Caracteres | N° de caracteres | N° de configurações analisadas | Compr. | IC | IR |
|---|---|---|---|---|---|
| Medidas em mm | 11 | 106852276 | 104,097 | 0,671 | 0,91 |
| Razões proporcionais | 6 | 104723492 | 20,77 | 0,643 | 0,685 |
| Residuais | 11 | 87194498 | 61,434 | 0,494 | 0,585 |
| Medidas em mm e matriz morfológica-comportamental | 191 | 79010272 | 519,032 | 0,585 | 0,865 |
| Razões proporcionais e matriz morfológica-comportamental | 186 | 83874236 | 344,874 | 0,721 | 0,922 |
| Residuais e matriz morfológica-comportamental | 191 | 84875227 | 394,076 | 0,671 | 0,899 |

Ao analisar as matrizes com os dados morfométricos unicamente, as árvores obtidas foram pouco informativas e não foram observados os grupos monofiléticos bem suportados nas análises de dados morfológicos e comportamentais (Chavarria e Carpenter, 1994; Noll, 2002; Cardinal *et al.,* 2007; Payne 2013). Esse resultado sugere que o tamanho do corpo analisado na primeira matriz (medidas em mm) e a forma do corpo analisada nas matrizes com correção da escala não são suficientes para propor uma hipótese filogenética (figura 9A-C-E). Pignata e Diniz filho (1996) estimaram que menos de 25 % da variação de tamanho do corpo das operárias de abelhas sem ferrão (Meliponina) pode ser atribuída ao efeito filogenético, eles consideraram que o tamanho do corpo é uma expressão da adaptação das operárias às atividade de forrageio e disponibilidade de recursos. É provável que esse baixo valor do sinal filogenético seja estendível aos outros grupos de Apini e, em conseqüência, usar apenas o tamanho do corpo não seja uma boa escolha de caráter filogenético.

Ao combinar os dados morfométricos sem correção da escala (em milímetros) com os caracteres morfológicos e comportamentais, a árvore filogenética resultante foi mais longa que aquela sugerida apenas por caracteres discretos. Somente Apinae não foi bem suportada, já que Euglossina foi parafilética em relação a *Epicharis* no mesmo clado (grupos externos). Por outro lado, ao combinar as matrizes onde houve a correção da escala com os dados morfológicos e comportamentais, as árvores resultantes mostraram a mesma estrutura proposta por Noll (2002). Não há diferença significativa entre essas árvores. Esses resultados indicam que a hipótese filogenética proposta pelos dados morfológicos e comportamentais é robusta o suficiente, já que ao incluir novos caracteres (neste caso caracteres contínuos altamente convergentes), a hipótese se manteve com um bom suporte em seus ramos principais.

Essa análise sugere que os dados morfométricos tradicionais podem ser utilizados em análises filogenéticas, porém deve-se considerar os problemas de escala para inclusão dos dados na análise. Apesar de pouco informativos se usados individualmente, os caracteres morfométricos corrigidos e combinados com outros tipos de caracteres se mostraram úteis para dar suporte e resolução aos clados.

Em análises filogenéticas posteriores desse trabalho, que incluem os dados de morfometria tradicional, utiliza-se o método de residuais para corrigir a escala dos indivíduos, uma vez que a escolha de razões proporcionais ainda é um método que pode ser considerado arbitrário e pode levar a interferência direta do observador na análise.

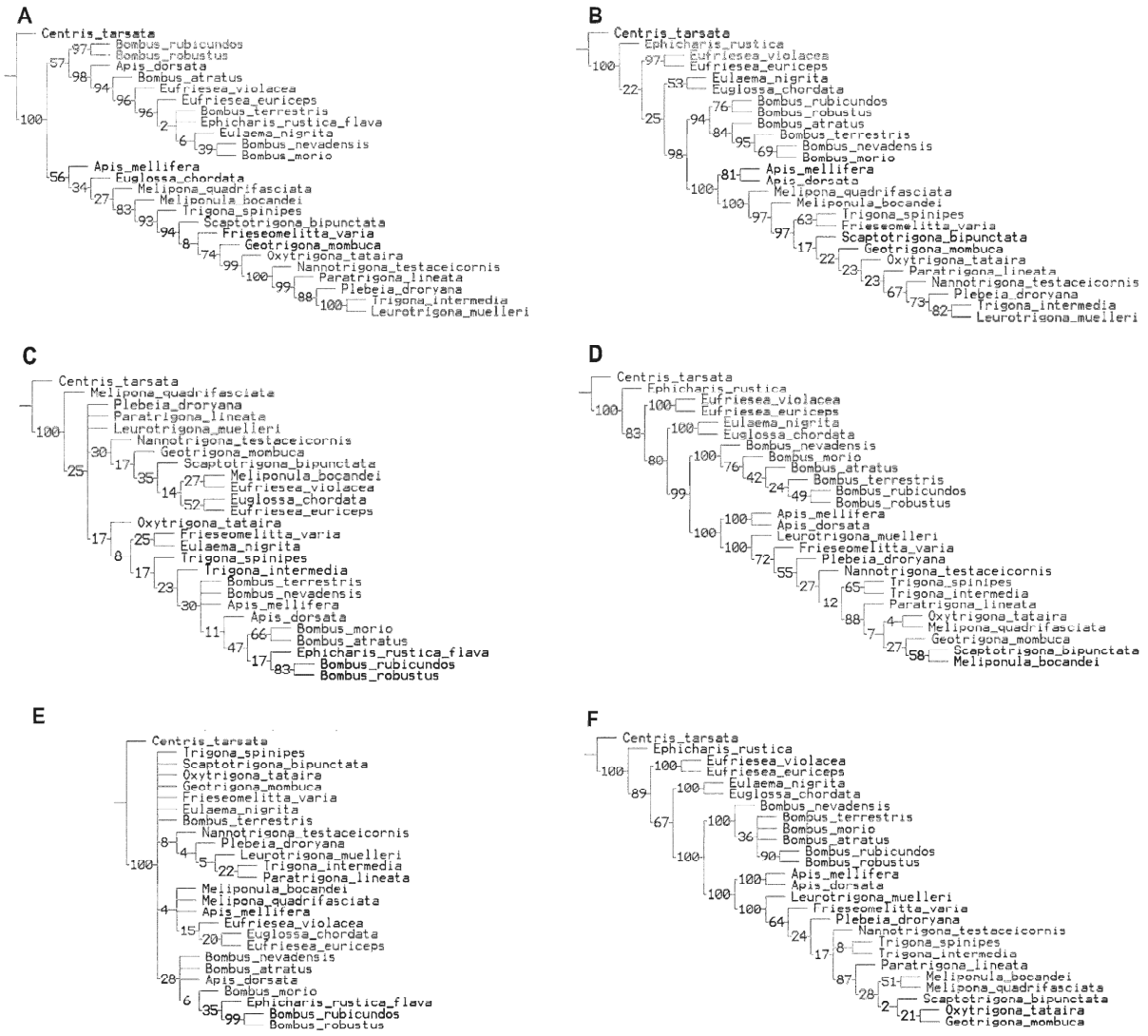



Figura 9: Hipóteses filogenéticas sugeridas a partir de dados morfométricos utilizando diferentes métodos de correção da escala das espécies de Apini e os grupos externos Centridini. A. Análise de dados em mm sem nenhum tratamento. B. Análise da matriz combinada de dados em mm e caracteres morfológicos e comportamentais. C. Análise de dados morfométricos corrigidos usando razões proporcionais. D. Análise da matriz combinada de razões proporcionais e caracteres morfológicos e comportamentais. E. Análise de dados morfométricos corrigidos usando método de residuais (transformação + 10 é usada para eliminar valores negativos sem alterar a estrutura dos dados). F. Análise da matriz combinada de residuais transformados e caracteres morfológicos e comportamentais. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. Matrizes utilizadas são apresentadas no Anexo 6.

### 3.3.3 Análise filogenética dos dados da morfometria geométrica

Foram analisadas duas matrizes com dados da morfometria geométrica. A primeira inclui apenas a configuração das coordenadas de forma, isto é, o consenso por espécie para o conjunto de marcos anatômicos alinhados; enquanto a segunda inclui os caracteres discretos (morfológicos e comportamentais), caracteres contínuos (residuais obtidos pela morfometria tradicional) e as coordenadas de forma na mesma matriz combinada.

Apenas uma árvore foi retida como sendo a mais parcimoniosa em cada caso, o resumo dos resultados é mostrado na tabela 9. A árvore sugerida usando apenas os dados morfométricos (figura 10A) mostrou Apina, Euglossina e Bombina (Com exceção de *Bombus nevadensis*) como tendo uma forma da asa predominante e diferente de Meliponina + *Bombus nevadensis*. Esses dois grandes clados parecem coincidir com os resultados obtidos na relação entre a forma da asa e o tamanho dos indivíduos (figura 6). O primeiro clado corresponde às espécies com os tamanhos maiores, enquanto o segundo as espécies menores. Esse resultado não é congruente com a proposta filogenética dos dados morfológicos e comportamentais discretos analisados anteriormente.

**Tabela 9**: **Resumo dos resultados da análise filogenética da morfometria geométrica das asas anteriores de Apini.**

| Caracteres | N° de caracteres | Comprimento | IC | IR |
|---|---|---|---|---|
| Configuração dos marcos anatômicos alinhados | 1 | 2,702 | | |
| Matriz de residuais + matriz morfológica comportamental + Coordenadas de forma | 192 | 397,544 | 0,671 | 0,899 |

A configuração de marcos anatômicos alinhados das asas anteriores tem se mostrado altamente convergente e pouco informativo para desvendar as relações filogenéticas das abelhas corbiculadas. De forma similar, outros estudos que incluem a análise filogenética usando morfometria geométrica de asas em insetos mostraram resultados similares. Portanto, a morfometria por si só é incapaz de revelar um padrão filogenético congruente com as

hipóteses propostas pela morfologia tradicional, que utiliza caracteres discretos (Houle *et al.,* 2003; Klingenberg e Gidaszewski, 2010). Porém, estudos que incluem dados morfométricos de ossos em vertebrados têm mostrado importantes congruências com as filogenias de caracteres morfológicos discretos anteriormente propostas para esses grupos (David e Laurin, 1996; Larson, 2005; Gonzalez-José *et al.,* 2008).

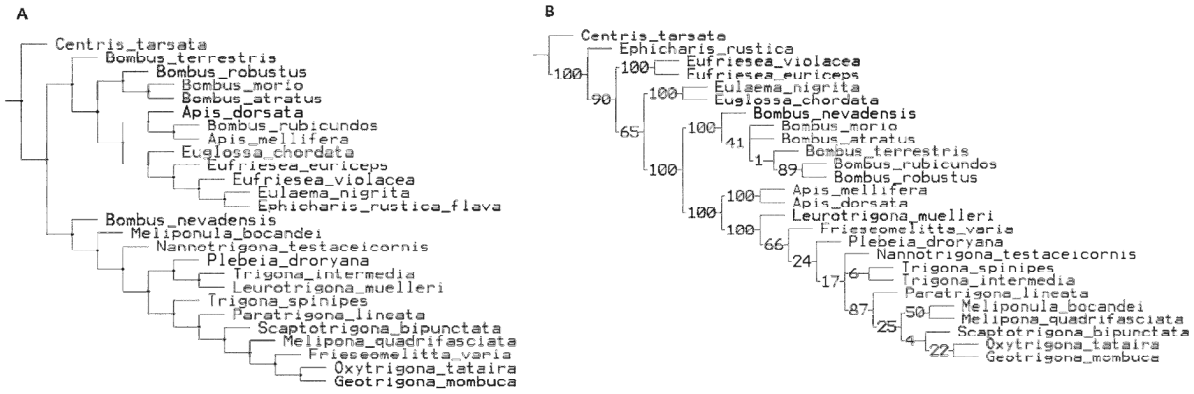



Figura 10: Análise filogenética de caracteres da morfometria geométrica das asas anteriores para as espécies de Apini e os grupos externos Centridini. A. Análise das coordenadas de forma (consenso por espécie da configuração de marcos anatômicos alinhados). B. Análise da matriz combinada de caracteres discretos (morfológicos e comportamentais), caracteres contínuos (residuais da morfometria tradicional) e as coordenadas de forma. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. A tabela 6 apresenta a matriz dos marcos anatômicos alinhados usada como caráter.

Se por um lado a metodologia para a inclusão dos dados de morfometria geométrica nas análises filogenéticas está numa fase melhor resolvida graças aos recentes trabalhos de Goloboff e Catalano, por outro, ainda falta entender mais sobre o efeito das variáveis físicas e ambientais sobre as mudanças da forma. Questiona-se: até que ponto tais mudanças adaptativas podem ser afetadas pela restrição filogenética e quando essas mudanças realmente podem refletir a história filogenética dos grupos estudados?

Em insetos, o vôo é uma das principais caraterísticas, responsável em grande parte pela radiação adaptativa do grupo. Variáveis ambientais como a altitude, temperatura, umidade relativa, que alteram a densidade relativa e a resistência do ar, a distância de forrageio e o próprio peso dos indivíduos devem ter resposta adaptativa eficiente para garantir a sobrevivência e radiação da espécie (Dudley, 2001; Rodriguez e Sarmiento, 2008; Garcia e Sarmiento, 2012). Estruturas como as asas e a musculatura torácica devem ser capazes de responder rapidamente às mudanças ambientais para garantir o vôo. Em vespas sociais, por exemplo, observou-se que indivíduos distribuídos ao longo de um gradiente altitudinal sofrem mudanças importantes nas estruturas relacionadas ao vôo. Rodriguez e Sarmiento (2008) observaram *Agelaia pallipes* ao longo de um gradiente altitudinal e descobriram que os indivíduos de maiores altitudes apresentam mesossoma e asas relativamente maiores, esses autores propõem que tais mudanças acontecem em resposta ao aumento das restrições para o vôo que experimentam os insetos de maiores altitudes, o que obriga esses indivíduos a aumentar o investimento nas estruturas para o vôo a fim de garantir a sua sobrevivência.

No contexto filogenético, o uso da forma das asas, tórax ou mesossoma em análises filogenéticas pode não ser a aproximação mais adequada, já que a necessidade de adaptação ao ambiente para garantir a sobrevivência da espécie pode gerar mudanças importantes na forma e tamanho dessas estruturas que podem mascarar as mudanças relacionadas à história filogenética das espécies.

A análise conjunta de caracteres discretos (morfológicos e comportamentais), caracteres contínuos da morfometria tradicional e o caráter da morfometria geométrica, mostraram-se congruentes com a proposta filogenética sugerida na análise anterior (figura 9D). Isso porque a configuração de marcos anatômicos alinhados constituiu apenas um caráter e, sendo assim, ele não consegue afetar nem a estrutura e nem o suporte dos clados de maneira substancial (figura 10B).

Até o momento, a proposta filogenética incluindo caracteres morfológicos tradicionais, caracteres comportamentais, caracteres morfométricos clássicos e morfometria geométrica têm mantido a tribo Apini e as subtribos, Bombina, Meliponina e Apina como grupos monofiléticos robustos e bem suportados, enquanto Euglossina ainda se mantém como um clado parafilético basal dentro dos Apini.

## 3.4 ANÁLISE FILOGENÉTICA DE DADOS MOLECULARES

Foram conduzidas análises filogenéticas dos nove genes separadamente, e do conjunto total de genes. Compararam-se os resultados das análises entre as matrizes com 26 e com 28 espécies. Quando a análise detectou várias configurações com igual comprimento de ramo como sendo mais parcimoniosas, calculou-se o consenso estrito entre elas. O suporte dos clados foi calculado para o consenso estrito em tais casos. Apenas clados com suporte superior a 50% foram aceitos. A tabela 10 mostra um resumo dos resultados da análise filogenética dos nove genes e das três análises do conjunto total de dados moleculares.

Ao comparar os clados suportados por cada um dos genes observou-se que Apini foi o clado mais sensível à inclusão de espécies mais distantes nos grupos externos. Os genes *16s, 18s* e *EF-1a* suportaram a monofilia de Apini na análise com 26 espécies, porém, apenas o gene *18s* manteve o clado na análise com 28 espécies. As subtribos não mostraram diferenças nas análises com 26 ou com 28 espécies, sendo suportadas pelos mesmos genes em ambas as análises. Euglossina foi bem suportado por *Nak*, *Opsin* e *Pol II*. Apina foi proposto como clado por *EF-1a*, *Nak*, *Opsin* e *Wingless.* Meliponina foi bem suportada por *28s, EF-1, Nak e Opsin*. Bombina por outro lado, suportado por seis genes nas análises com 26 espécies passou a ser suportado por oito genes nas análises com 28 espécies, apenas *EF-1a* não suportou o clado em nenhuma das análises (Figura 11A-R). O índice de consistência e o índice de retenção de todos os genes são superiores a 0,5 e 0,6, respectivamente, em todos os casos, alguns genes como *18s, Opsin, Wingless* e *EF-1a* tiveram o índice de retenção em torno de 0,8 indicando-os uma boa fonte de caracteres.

.

**Tabela 10: Resumo dos resultados da análise filogenética dos genes: *16s, 18s e 28s, Wingless, Pol II, EF-1a, ArgK, NaK, Opsin* para as abelhas corbiculadas e os grupos externos.**

| N° espécies | Caracteres | N° de caracteres | N° de configurações analisadas | Compr. | IC | IR | N° de Configurações retidas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **26** | *16s* | 617pb | 78567662 | 1409 | 0,576 | 0,690 | 1 |
| **26** | *18s* | 784pb | 60269341 | 105 | 0,781 | 0,965 | 37 |
| **26** | *28s* | 853pb | 73266472 | 857 | 0,729 | 0,793 | 10 |
| **26** | *EF-1ª* | 1021pb | 74517114 | 1560 | 0,633 | 0,839 | 34 |
| **26** | ArgK | 899pb | 96477169 | 2279 | 0,595 | 0,737 | 1 |
| **26** | NaK | 1434pb | 70854405 | 1487 | 0,740 | 0,843 | 2 |
| **26** | *Opsin* | 724pb | 75462924 | 1295 | 0,603 | 0,809 | 24 |
| **26** | *Pol II* | 848pb | 76539652 | 743 | 0,616 | 0,865 | 1 |
| **26** | Wingless | 403pb | 78658331 | 178 | 0,646 | 0,856 | 3 |
| **26** | Total molecular | 7524pb | 73475784 | 11984 | 0,527 | 0,693 | 1 |
| **26** | Total molecular peso K=3 | 7524pb | 85914240 | 998,928 | 0,524 | 0,689 | 1 |
| **26** | Total molecular peso K=8 | 7524pb | 79092362 | 523,344 | 0,526 | 0,692 | 1 |

**Tabela 10: Resumo dos resultados da análise filogenética dos genes: *16s, 18s e 28s, Wingless, Pol II, EF-1a, ArgK, NaK, Opsin* para as abelhas corbiculadas e os grupos externos. (Continuação)**

| N° espécies | Caracteres | N° de caracteres | N° de configurações analisadas | Compr. | IC | IR | N° de Configurações retidas |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **28** | *16s* | 622pb | 102552801 | 1558 | 0,539 | 0,677 | 2 |
| **28** | *18s* | 785pb | 70055891 | 130 | 0,800 | 0,962 | 44 |
| **28** | *28s* | 857pb | 90532756 | 961 | 0,695 | 0,756 | 17 |
| **28** | *EF-1ª* | 1016pb | 97353957 | 1789 | 0,594 | 0,809 | 61 |
| **28** | ArgK | 899pb | 109519781 | 2455 | 0,567 | 0,732 | 2 |
| **28** | NaK | 1434pb | 89823937 | 1752 | 0,683 | 0,797 | 1 |
| **28** | *Opsin* | 724pb | 94739868 | 1413 | 0,582 | 0,802 | 9 |
| **28** | *Pol II* | 848pb | 90040510 | 913 | 0,573 | 0,834 | 3 |
| **28** | Wingless | 414pb | 92966703 | 481 | 0,778 | 0,789 | 6 |
| **28** | Total molecular | 7599pb | 87260837 | 13628 | 0,512 | 0,675 | 1 |
| **28** | Total molecular peso K=3 | 7599pb | 95989221 | 1125,274 | 0,511 | 0,674 | 1 |
| **28** | Total molecular peso K=8 | 7599pb | 90133373 | 599,898 | 0,511 | 0,674 | 1 |

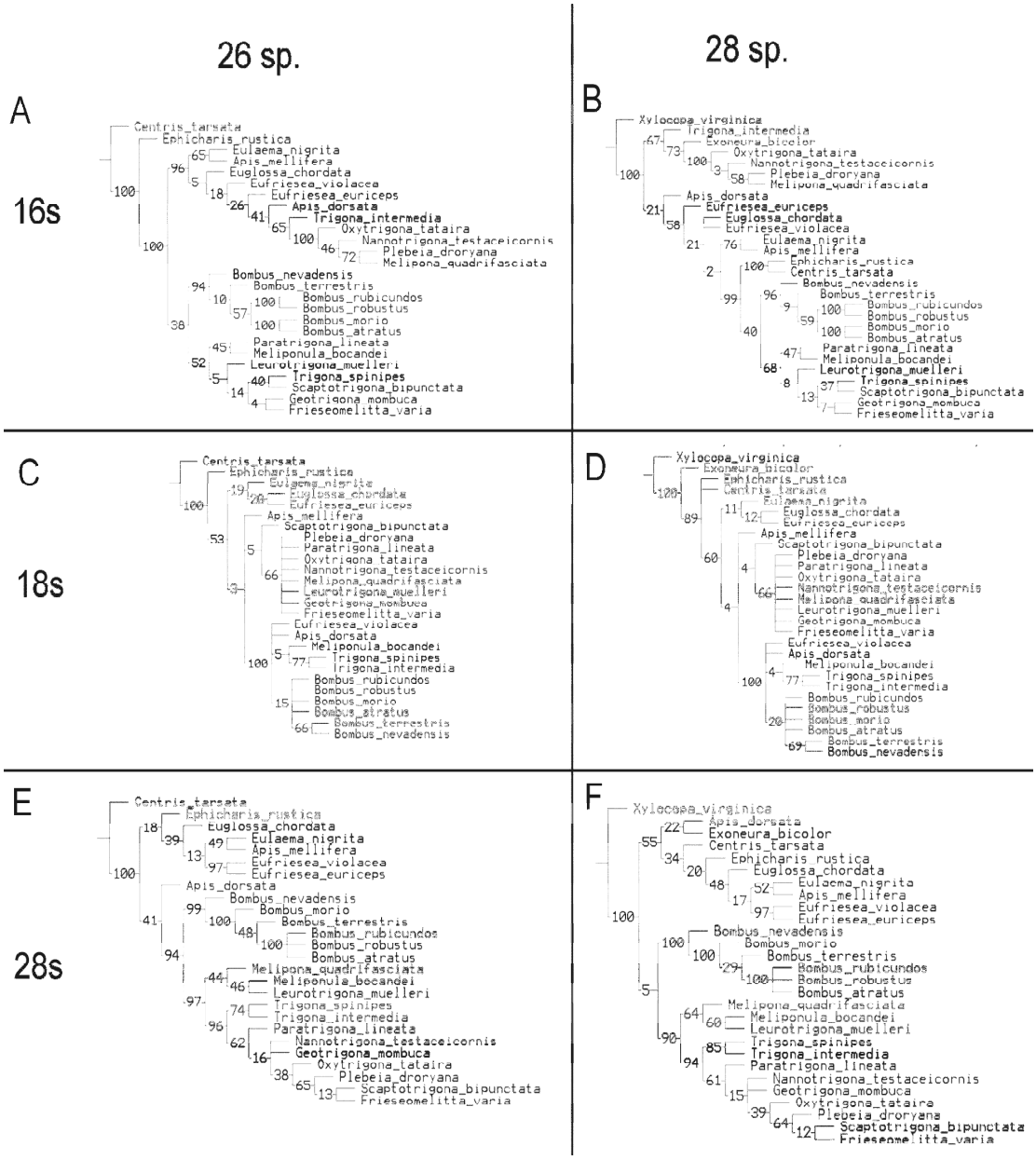



Figura 11: Análise filogenética de caracteres moleculares de Apini com os grupos externos. Toda sequência gênica foi analisada independentemente para as duas matrizes de espécies. As configurações resultantes para as análises das matrizes de 26 espécies são mostradas à esquerda enquanto as análises para 28 espécies, mostradas à direita. A-B. Unidade ribosomal *16s*, C-D. Unidade ribosomal *18s*, E-F. Unidade ribosomal *28s*. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso.

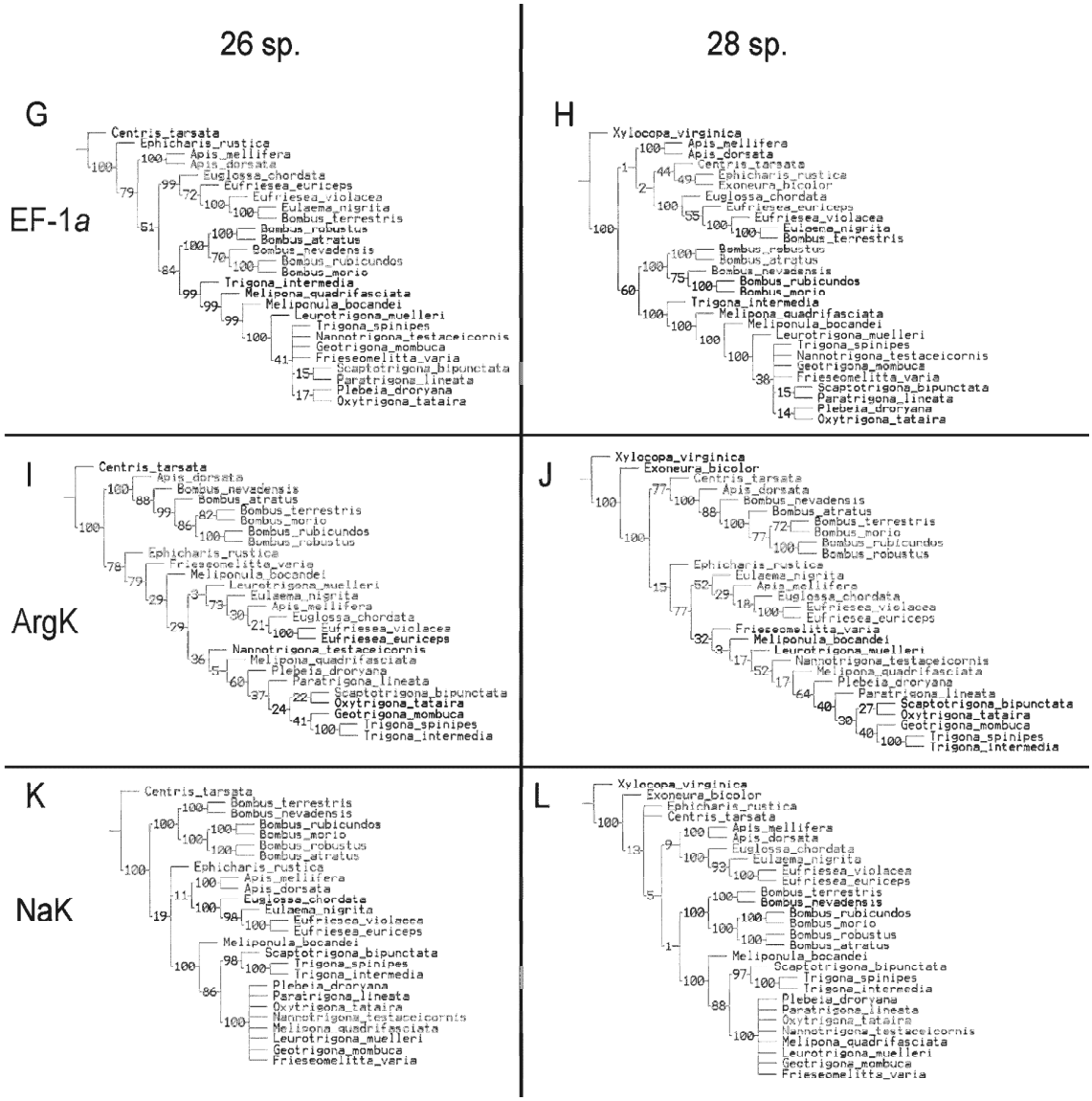



Figura 11 (Continuação): Análise filogenética de caracteres moleculares de Apini com os grupos externos. Toda sequência gênica foi analisada independentemente para as duas matrizes de espécies. As configurações resultantes para análises das matrizes de 26 espécies são mostradas à esquerda enquanto as análises para 28 espécies, mostradas à direita. G-H. *Elongation factor-1 alpha* (*EF-1a*), I-J. *Arginine kinase* (*ArgK*), K-L. *Sodium potassium adenosine triphosphate* (*NaK*). O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso.

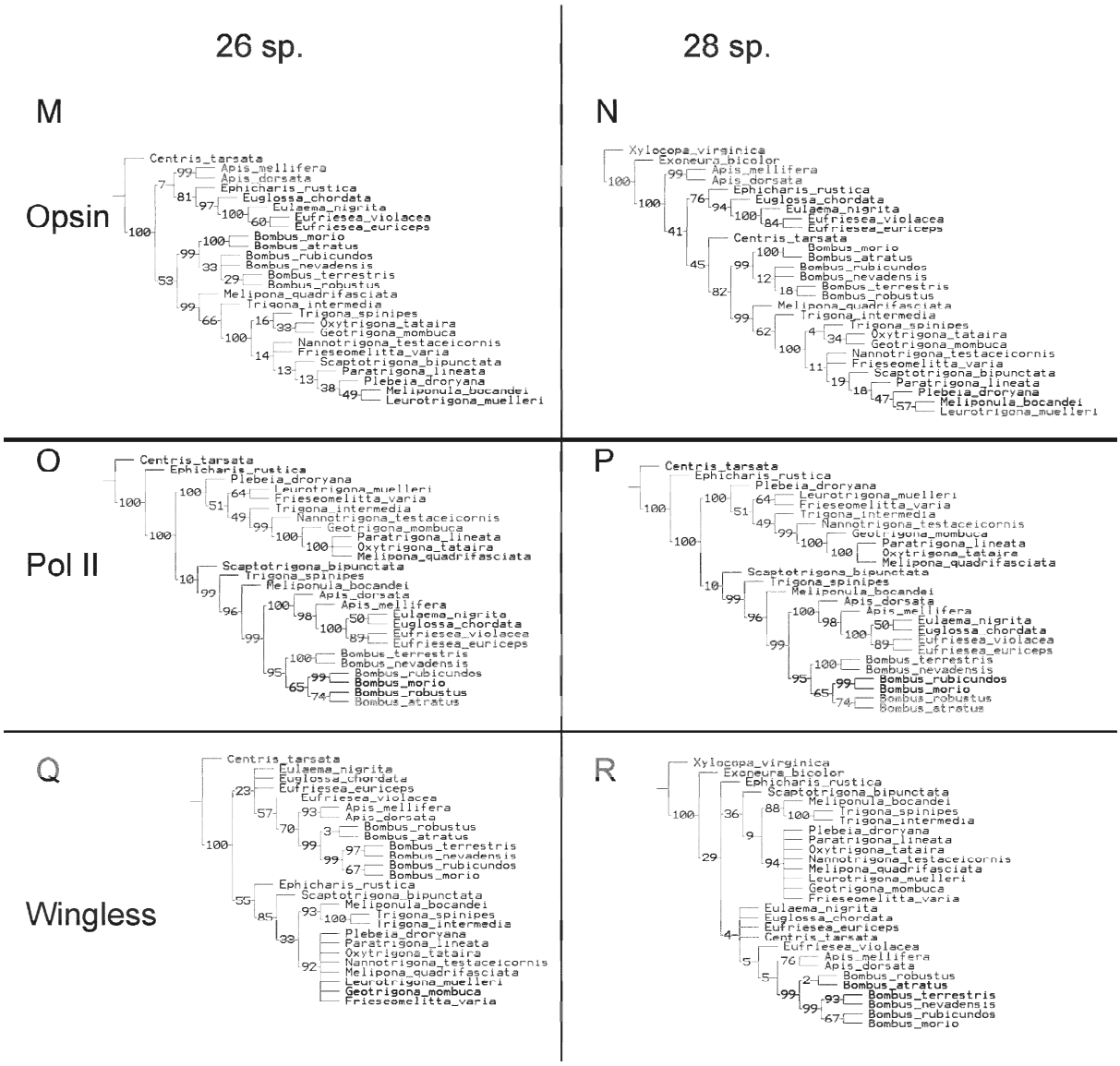



Figura 11 (Continuação): Análise filogenética de caracteres moleculares de Apini com os grupos externos. Toda sequência gênica foi analisada independentemente para as duas matrizes de espécies. As configurações resultantes para análises das matrizes de 26 espécies são mostradas à esquerda enquanto as análises para 28 espécies, mostradas à direita. M-N. L*ong-wavelength rhodopsin* (*Opsin*), O-P. *RNA polymerase II* (*Pol II*), Q-R. *Wingless*. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso.

Foram observadas mudanças importantes ao comparar a configuração dos clados proposta para cada gene com as análises de 26 e de 28 espécies. Por exemplo, na análise com 26 espécies, *28s* propõe o clado Bombina + Meliponina com 94% de suporte enquanto que na análise com 28 espécies, o mesmo clado tem suporte extremamente baixo (5%) (figura 11E-F). A Tabela 11 mostra um resumo dos grandes clados suportados por cada gene e os agrupamentos das subtribos que apresentaram suportes maiores que 50% em cada análise.

Nenhum gene analisado de forma independente foi capaz de manter a resolução dos clados Apini, Euglossina, Bombina, Apina e Meliponina. Somente a análise de todos os genes em conjunto foi capaz de suportar a monofilia da tribo e suas subtribos. Porém, a inclusão de duas espécies mais distantes nos grupos externos modificou a configuração das subtribos, afetando principalmente o valor do suporte dos agrupamentos. Foram realizadas três análises com a matriz total dos dados moleculares: uma análise padrão e duas análises com pesagem sucessiva de caracteres utilizando k=3 e k=8. As análises das 26 espécies mostraram o clado Apina + Euglossina como sendo bastante estável, mantendo o valor de suporte acima de 50% mesmo ao usar a pesagem de caracteres. Na análise sem pesagem, o suporte apresentado foi de 99%, diminuindo nas análises com pesagem para 70% (k=3) e 96 % (K=8). Em contraste, nas análises com 28 espécies sem usar a pesagem, o suporte do grupo Apina + Euglossina diminuiu para 67%; usando a pesagem de caracteres com k=8 o mesmo clado apresenta um valor abaixo de 40%, enquanto que usando a pesagem com K=3 o grupo deixa de ser um clado e forma-se, então o clado Apina+Bombina com um suporte abaixo de 30%. Nos casos onde o suporte foi menor que 50%, considera-se configuração ambígua expressa como uma politomia para (Apina + Euglossina + Bombina) (Tabela 11, Figura 12A-F).

Esses resultados sugerem que a escolha dos grupos externos pode afetar de forma mais sensível às análises com dados moleculares do que as análises de caracteres morfológicos e comportamentais. Usar nos grupos externos espécies mais distantes da amostra de espécies central revela a presença de fortes mudanças nas bases nucleotídicas acontecendo de forma homoplástica, que poderiam ser ignoradas ou mesmo mascaradas nas análises com 26 espécies. Esperava-se que configurações robustas de clados suportados principalmente por caracteres homólogos fossem fortalecidas na análise com pesagem implícita de caracteres, já que nela as homologias recebem um maior peso (Goloboff, 1993). E mesmo após a inclusão de grupos mais distantes filogeneticamente da amostra central de espécies os clados propostos

fossem mantidos. Porém, esses resultados das análises com 26 e 28 espécies mostraram que os clados são sustentados por caracteres altamente homoplásticos, pelo que o suporte dos agrupamentos diminui ao usar a ferramenta de pesagem implícita de caracteres e ao incluir mais espécies nos grupos externos.

Payne (2013) mostrou que a inclusão de íntrons na análise de dados moleculares, o alinhamento das sequências e o uso de sequências dificilmente alinháveis pode afetar o suporte dos clados propostos pela análise filogenética. A inclusão de grupos mais distantes nos grupos externos pode ter influenciado o alinhamento das sequências de genes e assim, afetado a análise filogenética. Vale ressaltar que os genes selecionados nesse trabalho apresentaram sequências bem conservadas ao longo do grupo. Incluíram-se as sequências completas (com os íntrons) da mesma forma como são encontradas no Genbank. As regiões iniciais e finais de cada gene (Poli-A) foram apagadas durante os alinhamentos. O gene Cyt b não foi incluído nesse trabalho justamente por apresentar sequências de difícil alinhamento entre as espécies selecionadas.

Cameron e Mardulyn (2001), usando quatro genes (*Opsin*, *28s*, *16s* e Cyt b), propuseram o clado fortemente suportado Bombina + Meliponina e o clado Apina + Euglossina com um suporte inferior aos 55%. Esses resultados coincidem com os resultados obtidos para as análises dos mesmos genes nesse estudo. Porém, ao incluir outros seis genes na análise, o clado Bombina + Meliponina não é suportado e o clado Apina + Euglossina recebe um suporte médio. Como os dados moleculares não ofereceram resolução suficiente na filogenia das abelhas corbiculadas, a proposta de Cameron e Mardulyn (2001) é considerada inconclusiva, sendo necessárias mais fontes de caracteres para aumentar a robustez da hipótese filogenética.

A análise da matriz total dos nove genes, sem pesagem e com as 28 espécies é considerada como a melhor proposta metodológica plausível de ser comparada com a análise de caracteres morfológicos e comportamentais. Várias diferenças são observadas entre essas hipóteses: Euglossina aparece como um clado parafilético pelos dados morfológicos e comportamentais (figura 8D) e monofilético bem suportado pelos dados moleculares (figura 12F). Os dados moleculares sugerem Apina como grupo irmão de Euglossina dentro de um clado pouco esclarecido com Bombina e Meliponina, proposta coincidente com a hipótese dos

caracteres morfológicos e comportamentais, onde Apina + Meliponina são o grupo irmão de Bombina mantendo Euglossina basal ao grupo das corbiculadas.

**Tabela 11: Resumo dos clados suportados pelas análises filogenéticas de dados moleculares das subtribos de Apini e seus grupos externos.**

| N° de espécies | Genes | Apini | Euglossina | Apina | Meliponina | Bombina | Clados propostos |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **26** | *16s* | S | N | N | N | N | - |
| **26** | *18s* | S | N | N | N | N | - |
| **26** | *28s* | N | N | N | S | S | (B + M) |
| **26** | *EF-1a* | S | N | S | S | N | (A + (E + B + M)) |
| **26** | ArgK | N | N | N | N | S | - |
| **26** | NaK | N | S | S | S | S | (A + E) + B + M |
| **26** | *Opsin* | N | S | S | S | S | A + E + (B + M) |
| **26** | *Pol II* | N | S | N | N | S | E + B |
| **26** | Wingless | N | N | S | N | S | A + B |
| **26** | Total molecular | S | S | S | S | S | (((A + E) + B) + M) |
| **26** | Total molecular peso K=3 | S | S | S | S | S | ((A + E) + B + M) |
| **26** | Total molecular peso K=8 | S | S | S | S | S | (((A + E) + B) + M) |
| **28** | *16s* | N | N | N | N | S | - |
| **28** | *18s* | S | N | N | N | S | - |
| **28** | *28s* | N | N | N | S | S | - |
| **28** | *EF-1a* | N | N | S | S | N | (B + M) |
| **28** | ArgK | N | N | N | N | S | - |
| **28** | NaK | N | S | S | S | S | (A + E) + (B + M) |
| **28** | *Opsin* | N | S | S | S | S | A + (E + (B + M)) |
| **28** | *Pol II* | N | S | N | N | S | (A + E + B) |
| **28** | Wingless | N | N | S | N | S | - |
| **28** | Total molecular | S | S | S | S | S | ((A + E) + B + M) |
| **28** | Total molecular peso K=3 | S | S | S | S | S | ((A + B + E + M) |
| **28** | Total molecular peso K=8 | S | S | S | S | S | ((A + B + E) + M) |

**A= Apina, B= Bombina, E= Euglossina, M= Meliponina. S= clado bem suportado (>50%); N= Clado não suportado (<50%).**

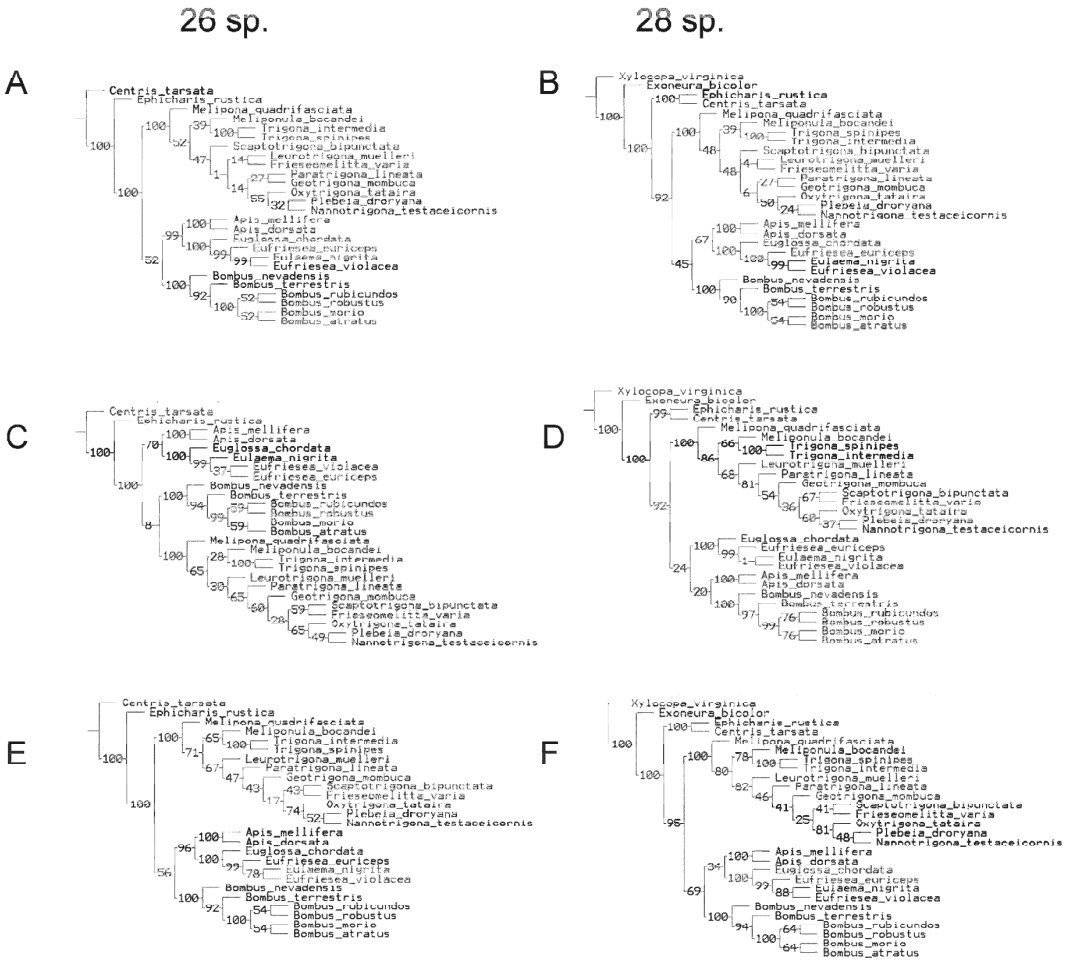



Figura 12: Análise filogenética do conjunto total de caracteres moleculares para Apini e seus grupos externos. As configurações resultantes para análises das matrizes de 26 espécies são mostradas à esquerda enquanto as análises para 28 espécies, mostradas à direita. A-B. Análise padrão, C-D. Análise com pesagem implícita de caracteres onde k=3, E-F. Análise com pesagem implícita de caracteres onde k=8. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso.

A incongruência nas hipóteses para as relações filogenéticas entre as subtribos de Apini tem sido o motivo de uma extensa discussão sobre o peso e a importância dos caracteres moleculares *vs*. caracteres morfológico-comportamentais, a origem do comportamento eussocial e até mesmo a validade de algumas hipóteses com baixíssimo suporte dos clados. Graças à disponibilidade de dados moleculares, morfológicos e comportamentais, o desenvolvimento de novas fontes de caracteres como a morfometria

clássica e geométrica e o desenvolvimento de ferramentas computacionais mais potentes que viabilizem uma análise conjunta de dados, permitirão o avanço a uma análise conjunta de todas as fontes de caracteres disponíveis numa análise de evidência total.

### 3.5 ANÁLISE FILOGENÉTICA UTILIZANDO EVIDÊNCIA TOTAL

Foram conduzidas três análises com a matriz de evidência total com a inclusão de caracteres morfológicos discretos, caracteres comportamentais, caracteres morfológicos contínuos (obtidos a partir da morfometria tradicional) e caracteres moleculares (sequências de nove genes). Adicionalmente, foi realizada uma análise incluindo também o caráter obtido a partir de morfometria geométrica. Analisou-se a matriz constituída por 28 espécies com duas espécies adicionais aos grupos externos para um maior controle do efeito dos grupos externos nos dados moleculares. A Tabela 12 mostra o resumo dos resultados para essas análises.

Em todas as configurações recuperou-se o monofiletismo da tribo Apini com um alto suporte. O mesmo aconteceu com as subtribos Apina, Euglossina, Bombina e Meliponina (figura 13). O índice de consistência e o de retenção entre as diferentes análises não mostraram diferenças significativas. A escolha da melhor hipótese foi baseada no suporte dos clados propostos. Apenas clados com suporte maior que 50% foram aceitos.

A análise de evidência total usando o método padrão mostrou uma proposta de configuração filogenética entre as subtribos de baixo suporte; é o caso do clado formado por Apina + Euglossina com um suporte de 21% e o clado ((Apina+Euglossina) + Bombina) com um suporte de 23%. Ao usar um critério de suporte mínimo de 50% para a aceitação de clados, tais relações seriam rejeitadas, restando um panorama inconcluso com as quatro subtribos formando uma politomia (figura 13A).

Ao utilizar a ferramenta de pesagem implícita de caracteres com K=3, obteve-se uma configuração com clados fortemente suportados (suportes acima de 60%), mostrando Euglossina como grupo irmão do restante de abelhas corbiculadas e Bombina como grupo irmão do clado formado por Apina + Meliponina (suporte 63%) (Figura 13B). Ao utilizar K=8 nessa mesma análise, novamente Euglossina é mostrada como um grupo irmão do restante das abelhas corbiculadas, mas os clados formados entre as subtribos apresentam baixos suportes; é o caso de (Apina + Bombina) com suporte de 5%, e

((Apina+Bombina)+Meliponina) com suporte de 26%. Com a utilização do critério de suporte mínimo de 50%, novamente chega-se à politomia entre as subtribos de Apini (figura 12C).

**Tabela 12: Resumo dos resultados da análise de evidência total para 28 espécies de Apini e seus grupos externos.**

| Análise | N° de caracteres | N° de configurações analisadas | Compr. | IC | IR | N° de Configurações retidas |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Padrão | 7790 | 89989140 | 14182,02 | 0,511 | 0,684 | 1 |
| Com pesagem de caracteres K=3 | 7790 | 87811960 | 1172,65 | 0,508 | 0,68 | 1 |
| Com pesagem de caracteres K=8 | 7790 | 94987483 | 627,62 | 0,509 | 0,682 | 1 |
| Incluindo caráter da morfometria geométrica | 7791 | | 14185,32 | 0,508 | 0,680 | 1 |

A análise incluindo o caráter de morfometria geométrica é muito similar à análise padrão, uma vez que não é usada a pesagem de caracteres e só é acrescentado um caráter na análise. Existe uma mudança leve no comprimento da árvore, esperada devido à alta homoplasia do caráter da forma da asa (figura 13D).

Ao longo das análises separadas com cada uma das fontes de caracteres e das análises de evidência total observaram-se as diferentes configurações que tem sido propostas ao longo dos anos por diversos autores em diferentes estudos (Michener, 1944; Winston e Michener, 1977; Kimsey,1984; Plant e Paulus, 1987; Michener, 1990; Cameron, 1991; Prentice, 1991; Shepard e McPheron, 1991; Cameron, 1993; Roig-Alsina e Michener, 1993; Chavarria e Carpenter, 1994; Koulianos *et al*., 1999; Mardulyn e Cameron, 1999; Serrão, 2000; Cameron e Mardulyn, 2001; Noll, 2002; Cardinal e Packer, 2007; Payne, 2013) (ver Tabela 2). Os resultados nesse trabalho sugerem que a escolha dos grupos externos e o alinhamento de sequências são os principais responsáveis pela baixa congruência entre as diversas hipóteses filogenéticas propostas para o grupo das abelhas corbiculadas. Apesar da configuração apresentada na figura 13B não ser a de menor comprimento na análise, ela é considerada nesse trabalho como a melhor hipótese filogenética para o grupo de abelhas corbiculadas já que propõe as relações entre as subtribos com o melhor suporte possível a partir do conjunto de dados.

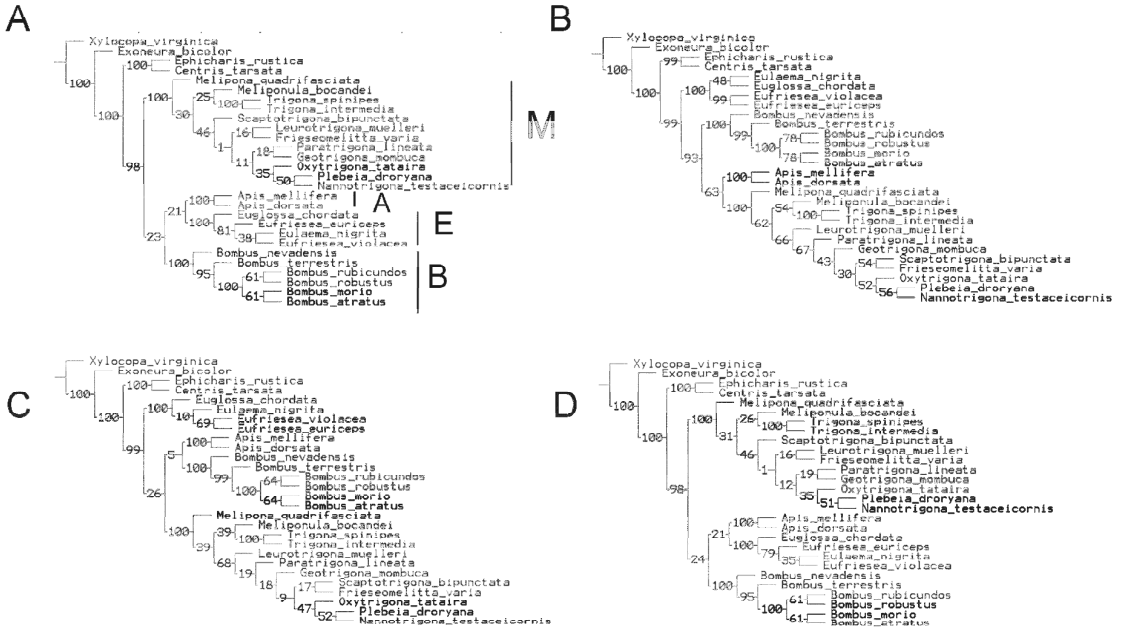



Figura 13: Análise filogenética de evidência total para a matriz de 28 espécies de Apini e seus grupos externos, incluindo caracteres morfológicos e comportamentais discretos, caracteres morfológicos contínuos (obtidos a partir da morfometria tradicional) e caracteres moleculares (nove genes). A. Análise padrão. B. Análise com pesagem implícita de caracteres com K=3. C. Análise com pesagem implícita de caracteres com K=8. D. Análise incluindo o caráter obtido pela morfometria geométrica. A=Apina, M=Meliponina, E=Euglossina, B=Bombina. O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso.

## 3.6 PROPOSTA FILOGENÉTICA PARA AS ABELHAS CORBICULADAS

Após as análises de evidência total de dados morfológicos discretos, comportamentais, morfológicos contínuos e moleculares realizadas nesse trabalho corrobora-se o monofiletimo de Apini , formado pelas subtribos Euglossina, Apina, Bombina e Meliponina, também monofiléticas. Euglossina sendo o grupo irmão do clado formado por Bombina, Apina e Meliponina, onde Bombina é o grupo irmão de (Apina + Meliponina) (figura 14). Essa hipótese coincide com a proposta de vários autores que trabalharam com morfologia externa

(Michener, 1944; Prentice, 1991; Roig-Alsina e Michener, 1993), morfologia externa em conjunto com dados moleculares (Chavarria e Carpenter, 1994), dados comportamentais (Noll, 2002) e morfologia do aparelho de ferrão (Cardinal e Packer, 2007).

Assim como Euglossina, Apina foi pouco representada nas análises desse trabalho; Apina é representada por apenas um gênero (duas espécies) e Euglossina representada por três gêneros (quatro espécies). Consequentemente, o numero de espécies não se mostrou suficiente para uma discussão acerca das relações filogenéticas dos gêneros dentro dessas subtribos. Cabe ressaltar que no caso de Euglossina a monofilia da subtribo é sugerida com um alto suporte do clado nas análises de evidência total.

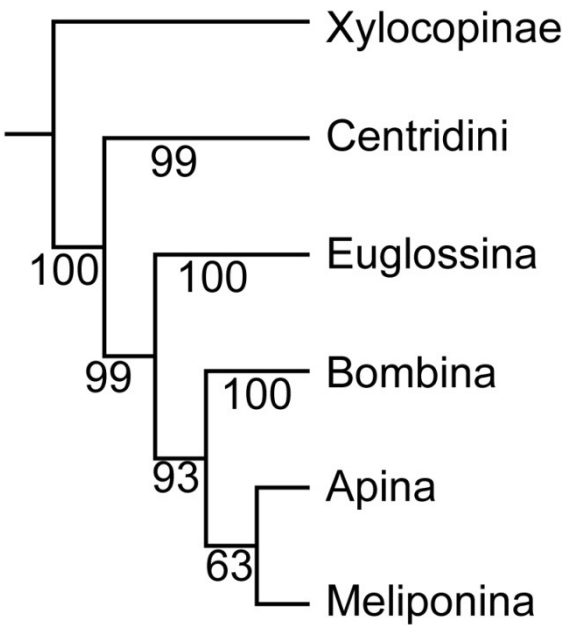



Figura 14: Hipótese filogenética para as relações entre as subtribos de Apini sustentada nesse trabalho. A hipótese foi obtida a partir da análise de evidência total das 28 espécies usando pesagem implícita de caracteres (k=3). O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso.

Dentro da subtribo Bombina, a proposta de relações entre as espécies estudadas aqui é congruente com a proposta de Kawakita *et al*. (2004): as espécies Andinas *Bombus robustus* e

*B. robicundos* formam o grupo irmão das espécies *B. pauloensis* e *B. morio*, e juntas constituem um clado de *Bombus* neotropicais, com *B. terrestres* como irmão deles e *B. nevadensis* sendo o grupo basal irmão do restante de Bombina (figura 15).

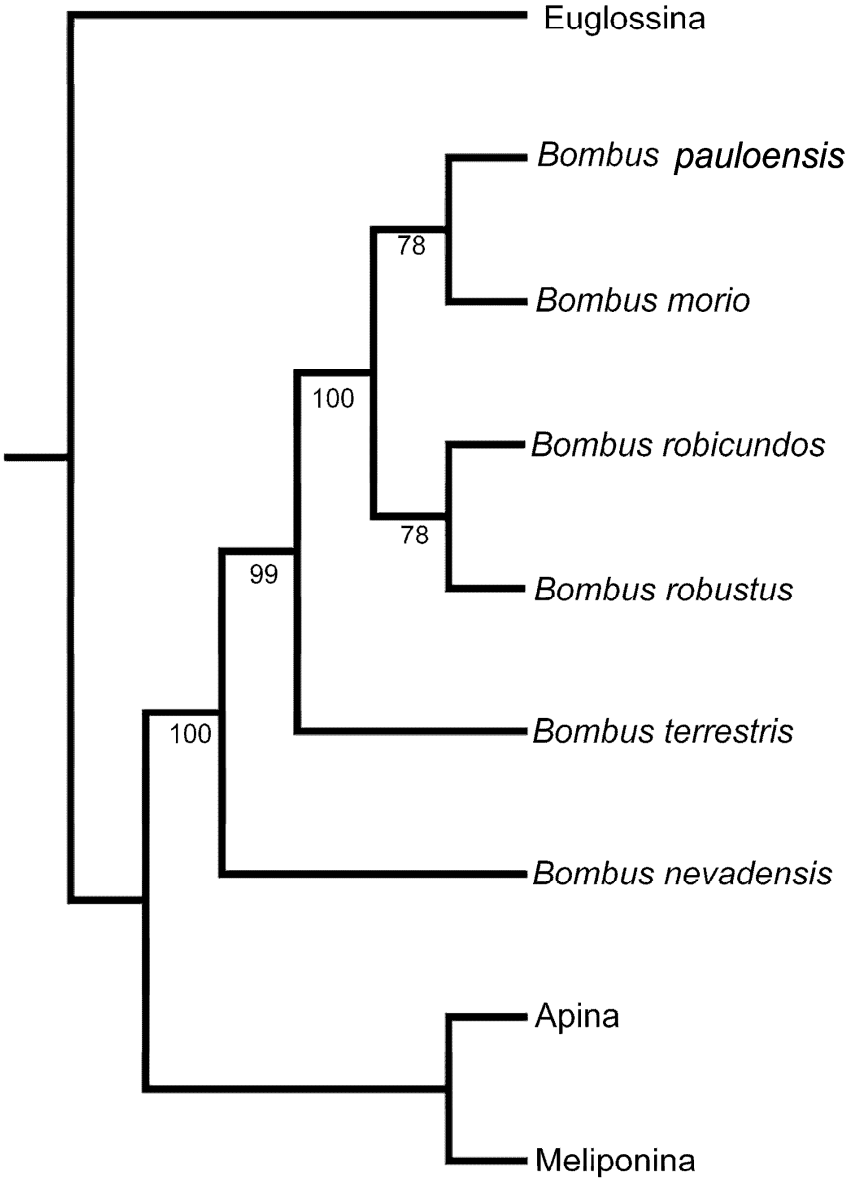



Figura 15: Detalhe das relações filogenéticas entre espécies da subtribo Bombina sugeridas nesse trabalho a partir da análise de evidência total das 28 espécies usando pesagem implícita de caracteres (k=3). O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso.

Dentro de Meliponina, as relações entre os gêneros estudados mostraram a espécie *Melipona quadrifasciata* como o grupo irmão das demais espécies de Meliponina, *Meliponula bocandei* e *Trigona* formam um clado irmão do clado formado por *Leurotrigona, Paratrigona, Geotrigona, Scaptotrigona, Frieseomelitta, Oxytrigona, Plebeia e Nannotrigona.* Por sua vez, *Plebeia* e *Nannotrigona* formam o clado irmão de *Oxytrigona*, enquanto *Frieseomelitta* e *Scaptotrigona* formam o grupo irmão delas (figura 16A). Com exceção do clado *Plebeia* + *Nannotrigona,* essa proposta difere da hipótese de Rasmussen e Cameron (2010).

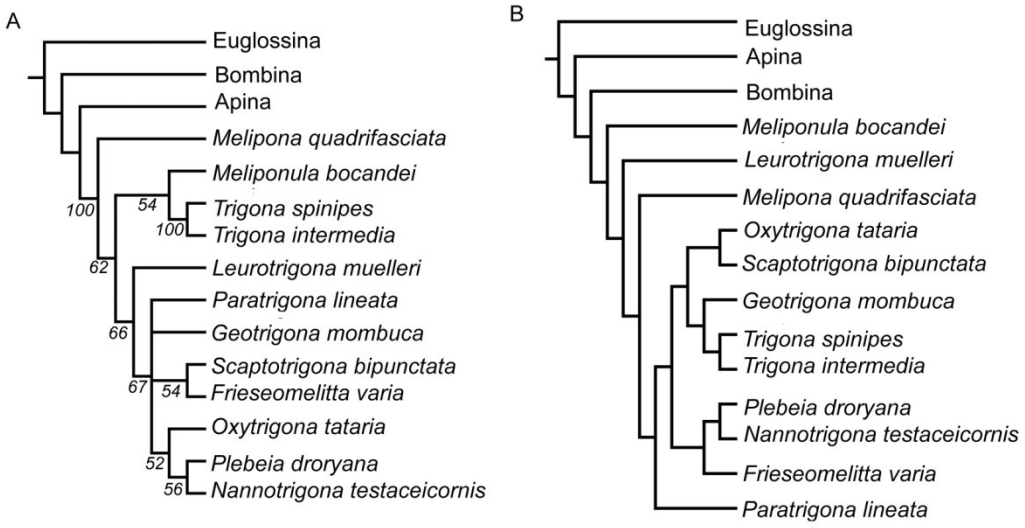



Figura 16: Detalhe das relações filogenéticas entre as espécies da subtribo Meliponina. A. Hipótese sugerida nesse trabalho a partir da análise de evidência total das 28 espécies usando pesagem implícita de caracteres (k=3). O suporte dos ramos calculado por "*symmetric re-sampling*" é mostrado em cada caso. B. Hipótese sugerida por Rasmussen e Cameron (2010) usando apenas dados moleculares e análise bayesiana.

Baseados na análise bayesiana de nove sequências de genes, alguns deles incluídos nesse trabalho, Rasmussen e Cameron (2010) propõem a separação das espécies Afrotropicais (*Meliponula bocandei* entre outras) e Neotropicais, além de considerar Bombina o grupo mais próximo de Meliponina (figura 16B). Os mesmos autores apresentam uma proposta usando máxima parcimônia mostrando uma grande politomia dos gêneros Neotropicais, colocando-os

como o grupo irmão das espécies Afrotropicais, e com o clado Apina + Euglossina como sendo o mais próximo de Meliponina. Em nenhuma dessas propostas, Rasmussen e Cameron (2010) incluem espécies externas a Apini. É provável, assim como foi sugerido nas análises de dados moleculares nesse trabalho, que a inconsistência para revelar o grupo mais próximo de Meliponina ao empregar diferentes métodos de análise provavelmente sugere vários problemas analíticos, como: a falta de um grupo externo mais distante, problemas com o alinhamento de sequências ou mesmo o uso de genes com sequências de difícil alinhamento nessas análises.

### 3.6.1 Origem da eussocialidade

As relações filogenéticas entre as subtribos de Apini têm recebido atenção especial devido às implicações sobre o panorama de evolução da eussocialidade nas abelhas corbiculadas. Por um lado, caracteres morfológicos têm apontado repetidamente em diferentes trabalhos hipóteses filogenéticas que suportam uma única origem da eussocialidade ao propor a configuração (Euglossina+(Bombina+(Apina+Meliponina))) (Michener, 1944; Prentice, 1991; Roig-Alsina e Michener, 1993; Cardinal e Packer, 2007). Em contraste, dados moleculares têm sugerido duas origens, ao propor Euglossina como grupo irmão de Apina (Cameron, 1991; Shepard e McPheron, 1991; Cameron, 1993; Koulianos *et al.*, 1999; Mardulyn e Cameron, 1999; Cameron e Mardulyn, 2001; Payne, 2013). Porém, nesses trabalhos a socialidade das abelhas corbiculadas é tratada como um único caracter, diferenciando espécies solitárias, primitivamente sociais ou eusssociais, na forma proposta por Chavarria e Carpenter (1994).

Cardinal e Danforth (2011) avaliam a hipóteses de origem da eussocialidade proposta nas reconstruções filogenéticas baseadas em dados moleculares. Apesar de concordarem com Apina e Euglossina como grupos irmãos, eles propõem que a eusocialidade teria surgido uma única vez no ancestral comum a todos os Apini, com desenvolvimento de comportamentos altamente sociais de maneira independente em Meliponina e Apina, e perda secundaria da eusocialidade em Euglossina. Porém, nesse trabalho a socialidade das abelhas corbiculadas é tratada novamente como um único caracter maneira similar à forma proposta por Chavarria e Carpenter (1994).

Wilson (1971) define a eussocialidade como a presença de três características no comportamento das espécies: a sobreposição de várias gerações em um mesmo ninho, o cuidado cooperativo com a prole e a divisão do trabalho entre castas reprodutiva e operária. Os grupos onde a eussocialidade evoluiu (p. ex. formigas, vespas, cupins, abelhas) percorreram um longo caminho evolutivo até alcançar a eussocialidade. Diferentes graus de comportamento social emergiram ao longo da história evolutiva dos insetos, de modo que as mudanças de comportamento e morfológicas coevoluiam. Nesse panorama, a eussocialidade deveria ser tratada como o resultado de mudanças comportamentais e morfológicas gradativas e não como um evento pontual dentro de uma linhagem filogenética (Wilson, 2005).

Em abelhas, a variação no comportamento social parece estar acompanhada de mudanças no nível morfológico; é o caso das glândulas produtoras de cera utilizadas na construção de ninhos, estruturas especializadas na coleta de pólen, especialização de estruturas utilizadas no forrageio de néctar e produção de mel, especialização de estruturas utilizadas no vôo, entre outras (Noll, 2002). Descrever tais mudanças com um caracter assim como proposto por Chavarria e Carpenter (1994) pode não ser a forma mais adequada de descrever tal grau de variação no grupo, chegando a mascarar informações de valor filogenético. Noll (2002) propõe 42 caracteres baseados no comportamento social e seus produtos (ninhos, secreção de cera, mel, cuidados da prole, etc.) para descrever a socialidade no grupo. A partir dessa abordagem, a eussocialidade emerge na filogenia das abelhas corbiculadas como uma consequência da aquisição gradativa de características e de comportamentos.

Na análise de evidência total proposta nesse trabalho é empregada a proposta de caracteres de Noll (2002), em conjunto com caracteres morfológicos (Chavarria e Carpenter, 1994; Cardinal *et al.,* 2007), caracteres morfométricos e dados moleculares (que em trabalhos anteriores se mostraram incongruentes com a origem única da eussocialidade) (Figura 14). A hipótese aceita nesse trabalho sugere que a eussocialidade evoluiu uma única vez no grupo de abelhas corbiculadas. Apesar dos dados moleculares se mostrarem incongruentes ao serem analisados separadamente, correções metodológicas como a inclusão de grupos externos mais distante, o critério de aceitação de clados com suporte superior aos 50% e a utilização de pesagem implícita de caracteres nas análises de evidência total permitiram a aceitação da hipótese de origem única da eussocialidade em Apini.

## 4. CONCLUSÕES

Este trabalho avaliou as hipóteses de parentesco existentes entre as abelhas corbiculadas (Apini: Meliponina, Apina, Bombina e Euglossina) utilizando a evidência total disponível: dados morfométricos tradicionais, dados de morfometria geométrica, dados morfológicos, dados comportamentais e dados moleculares. Cada fonte de caracteres foi avaliada separadamente na procura de possíveis problemas metodológicos que pudessem interferir na análise de evidência total.

A interferência da escolha dos grupos externos foi avaliada nas análises filogenéticas dos caracteres discretos, morfológicos e comportamentais. Os resultados mostraram pouca sensibilidade da hipótese proposta por esses dados. Porém, apesar de sustentar a monofilia de Apini, Bombina, Meliponina e Apina, foram pouco eficientes para suportar a monofilia de Euglossina.

As análises filogenéticas dos dados morfométricos tradicionais sugerem que as diferenças de tamanho entre as espécies comparadas geram uma interferência que precisa ser corrigida para que as mudanças na forma do corpo possam ser avaliadas. Propõe-se o método que utiliza os residuais da regressão entre as medidas morfométricas e o descritor de tamanho das espécies como a melhor ferramenta de correção da interferência do tamanho, já que consegue evitar a arbitrariedade na escolha do observador presente no método de razões proporcionais. O primeiro fator da análise de componentes principais das medidas é usado como descritor de tamanho das espécies.

A forma da asa estudada através da morfometria geométrica constituiu apenas um caracter na análise filogenética. A análise morfométrica mostrou uma importante relação entre a forma das asas e o tamanho das espécies, indicando uma possível via de compensação de problemas aerodinâmicos que cada tamanho experimenta no vôo. Apesar de tais mudanças de forma indicarem uma possível restrição filogenética, o caracter de morfometria geométrica mostrou-se altamente convergente nesta análise. Sugere-se reconsiderar o uso de características ligadas ao vôo dos insetos nas análises filogenéticas, já que tais características são altamente sensíveis às mudanças ambientais que podem afetar a sobrevivência dos indivíduos.

As análises filogenéticas dos dados moleculares sugeriram a interferência da escolha dos grupos externos; hipóteses diferentes emergiram ao analisar matrizes com 26 ou 28 espécies. O uso de grupos externos mais distantes da amostra de espécies ofereceu uma melhor abordagem metodológica para a análise de dados moleculares já que o suporte dos clados se mostrou constante e maior para os clados mais abrangentes. Porém, os dados moleculares analisados continuaram a se mostrar incongruentes com os caracteres morfológicos, morfométricos tradicionais e comportamentais.

Na análise de evidência total foram incluídas as 28 espécies. Apesar da hipótese proposta com a pesagem implícita de caracteres (k=3), empregada com o objetivo de minimizar o efeito dos caracteres altamente homoplásticos, não ser a de menor comprimento na análise, ela foi considerada nesse trabalho como a melhor hipótese filogenética para o grupo de abelhas corbiculadas, já que propõe as relações entre as subtribos com o melhor suporte possível a partir do conjunto de dados.

Finalmente, a hipótese filogenética proposta nesse trabalho para o grupo das abelhas corbiculadas apoia a monofilia da tribo Apini, assim como a monofilia das subtribos Euglossina, Apina, Bombina e Meliponina. A hipótese (Euglossina + (Bombina + (Apina + Meliponina))) é revalidada. Em consequência, a proposta de um único ancestral para os grupos eussociais dentro de Apini é sustentada. Sugere-se que as características que descrevem o comportamento eussocial das abelhas corbiculadas possivelmente coevoluíram gradativamente com mudanças morfológicas, e não de forma pontual na linhagem, apoiando assim a proposta de Noll (2002).

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abak K, Sari N, Paksoy M. 1995. Efficiency of bumblebees on the yield and quality of egg plant and tomato grown in unheated glasshouses. Acta Hoticulturae 412: 268-274.

Amorim D S. 2002. Fundamentos de sistemática filogenética. Holos editora, Ribeirão Preto, Brasil.

Anjos-Silva E J, Engel M S, Andena S R. 2007. Phylogeny of the cleptoparasitic bee genus *Exaerete* (Hymenoptera: Apidae). Apidologie (Celle), v. 38, p. 419-425, 2007.

Cameron S, 1991. A new tribal phylogeny of the Apidae inferred from mitochondrial DNA sequences. Em: Smith, D.R. (Ed.). Diversity in the Genus Apis, Western Press, Boulder, CO, pp. 71-87.

Cameron S A, 1993. Multiple origins of advanced eusociality in bees inferred from mitochondrial DNA sequences. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 8687–8691.

Cameron SA, Mardulyn P. 2001. Multiple data sets suggest independent origins of highly eusocial behavior in bees (Hymenoptera: Apinae). Syst. Biol. 50, 194–214.

Canevazzi N C. 2012. Filogenia das abelhas corbiculadas (Apidae, Apinae): uso combinado de dados comportamentais de auto-limpeza e moleculares. [Dissertação]. São Jose do Rio Preto: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Cardinal S, Packer L. 2007. Phylogenetic analysis of the corbiculate Apinae based on morphology of the sting apparatus (Hymenoptera: Apidae). Cladistics 23: 99–118.

Cardinal S, Danforth B N. 2011. The Antiquity and Evolutionary History of Social Behavior in Bees. PLoS ONE 6(6): e21086. doi:10.1371/journal.pone.0021086Catalano S A, Goloboff P, Gianninia N. 2010. Phylogenetic morphometrics (I): the use of landmark data in a phylogenetic framework. Cladistics 26: 539–549.

CDB. 2000. Convenção da Diversidade Biológica: quinta conferência das partes. Nairóbi.

Chavarria G, Carpenter J M. 1994. “Total evidence” and the evolution of highly social bees. Cladistics 10, 229-258.

Cooper M. 2000. Five new species of *Agelaia* Lepeletier (Hym., Vespidae, Polistinae) with a key to members of genus. New synonymy and notes. Entomologist’s Monthly Magazine, 136:177-198.

Damus M S, Otis G W. 1997. A morphometric analysis of *Apis cerana* and *Apis nugrocincta* Smith populations from Southeast Asia. Apidologie 28: 309-323

Danforth B. 1989. The evolution of hymenopteran wings: the importance of size. J Zool Lond 218:247–276

David B., Laurin B. 1996. Morphometrics and cladistics: measuring phylogeny in the sea urchin Echinocardium. Evolution. 50:348–359.

Dressler R L. 1982. Biology of orchid bees (Euglossini). Annu. Rev. Ecol. Syst. 13: 373-394.

Dudley R 2001. The biomechanics and functional diversity of Flight. In: Woiwod IP, Reynolds DR, Thomas CD (eds) Insect movement: mechanisms and consequences. CABI, Cambridge

Dudley R. 2002. The biomechanics of insect fight. Princeton University Press, Princeton

Estay P, Wagner A, Escaff M. 2001. Evaluation of *Bombus dahlbomii* (Guér.) as a pollinating agent for tomato (*Lycopersicon esculentum* (Mill.)) flowers under greenhouse conditions. Agric. Téc. 61 (2): 113-119.

Ferreira P, Patalano S, Chauhan R, Ffrench-Constant R, Gabaldón T, Guigó R, Sumner S. 2013. Transcriptome analyses of primitively eussocial wasps reveal novel insights into the evolution of sociality and the origin of alternative phenotypes. Genome Biology14: R20.

Farris J S. 1970. Methods for computing Wagner trees. Syst. Zool. 19 (1):83-92.

Fitch WM. 1971. Towards defining the course of evolution: Minimum change for a specific tree topology. Systematic Zoology 20: 406-416.Fitzhugh K. 2006. The philosophical

basis of character coding for the inference of phylogenetic hypotheses. Zool. Scr. 35 (3): 261–286.

Garcia Z. 2008. ¿Es o son? Morfometría geométrica de dos espécies de avispas sociales (Hymenoptera, Vespidae). Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle 9(1): 11-16.

Garcia Z, Sarmiento E. 2011. Relationship between body size and flying-related structures in Neotropical social wasps (Polistinae, Vespidae, Hymenoptera). Zoomorphology 131 (1): 25-35.

Goloboff P A. (1993). "Estimating Character Weights During Tree Search". *Cladistics* 9: 83–91

Goloboff P. 1993. Character optimization and calculation of tree lengths. Cladistics 9, 433–436

Goloboff P, Farris JS & Nixon K. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. Cladistics 24: 774- 786.

Goloboff P A, Mattoni C I, Quinteros A S. 2006. Continuous characters analyzed as such. Cladistics 22 (2006) 1–13.

Goloboff P A, Catalano S A. 2010. Phylogenetic morphometrics (II): algorithms for landmark optimization. Cladistics 26: 1–10

González-José R, Escapa I, Neves W A, Cúneo R, Pucciarelli H M 2008. Cladistic analysis of continuous modularized traits provides phylogenetic signals in Homo evolution. Nature. 453:775–778.

Gumiel M, Catalã S, Noireau F, Rojas de Arias A, Garcia A, Dujardin J P. 2003. Wing geometry in Triatoma infestans (Klug) y Triatoma melanosoma Martínez, Olmedo & Carcavallo (Hemiptera: Reduvidae). Syst. Entomol. 28:173-179

Imperatriz-Fonseca V L, Saraiva A M, Gonçalves L. 2007. A iniciativa brasileira de polinizadores e os avanços para a compreensão do papel dos polinizadores como produtores de serviços ambientais. Biosci. J. 23 (1): 100-106.

Hennig W. 1966. Phylogenetic systematic. Urbana III. Universiti of Illinois press.

Houle D, Mezey J G, Galpern P, Carter A. 2003. Automated measurement of Drosophila wings. BMC Evol. Biol. 3:25.

Kawakita A, Sota T, Ito M, Ascher J, Tanaka H, Kato M, Roubik D W. 2004. Phylogeny, historical biogeography, and character evolution in bumble bees (*Bombus*: Apidae) based on simultaneous analysis of three nuclear gene sequences. Mol. Phylogenet. Evol. 31 (2004) 799–804.

Kimsey L S. 1984. A reevaluation of the phylogenetic relationships in the Apidae (Hymenoptera). Syst. Entomol. 9, 435-442.

Klingenberg C P, Gidaszewski N A. 2010. Testing and Quantifying phylogenetic signals and Homoplasy in Morphometrics data. Syst. Biol. 59(3): 245-261

Kluge A G. 2004. On Total evidence: for the record. Cladistics 20: 205-207

Koulianos S, Schmid-Hempel R, Roubik D W. 1999. Phylogenetic relationships within the corbiculate Apinae (Hymenoptera) and the evolution of eusociality. J. evol. Biol. 12, 380-384.

Lamborot M and Eaton L. 1997. The Maipo river as a biogeographical barrier to *Liolaemus monticola*(Tropiduridae) in the mountain ranges of central chile. J Zool Syst Evol Res.

Larkin M A, Blackshields G, Brown N P, Chenna R, McGettigan P A, McWilliam H, Valentin F, Wallace I M, Wilm A, Lopez R, Thompson J D, Gibson T J, Higgins D G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics, 23:2947-2948.

Larson PM. 2005. Ontogeny, phylogeny, and morphology in anuran larvae: morphometric analysis of cranial development and evolution in Rana tadpoles (Anura: Ranidae). J. Morphol. 264:34–52. 35:105-111

Maddison W and Maddison D. Mesquite version 2.72 Copyright (c) 1997-2009.

Mardulyn P, Cameron S A. 1999. The major *Opsin* in bees (Insecta:Hymenoptera): a promising nuclear gene for higher level phylogenetics. Mol. Phylogenet. Evol. 12, 168–176.

Melo G A, Gonçalves R B. 2005. Higher-level bee classifications (Hymenoptera,Apoidea,Apidae sensu lato). Rev. Bras. Zool. 22 (1): 153–159.

Mendes M F, Francoy T M, Nunes-Silva P, Menezes C, Imperatriz-Fonseca V L. 2007 Intra-populational variability of *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier 1836 (Hymenoptera, Meliponini) using relative warp analysis, Biosci. J., 23, 147 – 152.

Michener C D. 1944. Comparative external morphology, phylogeny, and a classification of the bees. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 82, 151-326.

Michener C D. 1990. Classification of Apidae. University of Kansas Science Bulletin 54, 75-164.

Michener C D. 2000. The Bees of the World. Baltimore, Johns Hopkins.

Monteiro L R, dos Reis S. 1999. Princípios de Morfometria Geométrica. Holos editora, Ribeirão preto, Brasil.188pp

Mutanen M, Pretorius E. 2007. Subjective visual evaluation vs. traditional and geometric morphometrics in species delimitación: a comparison of moth genitalia. Syst. Entomol. 32(2):371-386.

Nates-Parra G. 2005. Abejas Corbiculadas de Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 157 pp.

Nates-Parra G. 2006. Familia Apidae. Em: Fernandez F e Shaerkey M J (Eds). 2006. Introducción a los Hymenoptera de la región Neotropical. Sociedad Colombiana de Entomologia e Universidad Nacional de Colombia. 487- 503.

Noll F B. 2002. Behavioral phylogeni of corbiculate Apidae (Hymenoptera; Apinae), with special reference to social behavior. Cladistics 18, 137-153.

Nixon, K. C. 2002. WinClada ver. 1.00.08 Published by the author, Ithaca, NY

Nixon K C, Carpenter J M. 1993. On outgroups. Cladistics 9: 413-423

Noll F B, Simoes D, Zucchi D. 1997. Morphological caste differences in the Neotropical swarm-founding Polistinae wasps: Agelaia m. multipicta and A. p. pallipes. (Hymenoptera, Vespidae). Ethol. Ecol. Evol. 9: 361-372.

Pignata M I, Diniz-Filho J A. 1996. Phylogenetic autocorrelation and evolutionary constraints in worker body size of some neotropical stingless bees (Hymenoptera: Apidae). Heredity 76: 222—228

Plant J D, Paulus H F.1987. Comparative morphology of the postmentum of bees (Hymenoptera: Apoidea) with special remarks on the evolution of lorum. Zool. Syst. Evol. Forsch. 25, 81-103

Prentice M. 1991. Morphological analysis of the tribes of Apidae. Em: Smith, D.R. (Ed.). Diversity in the Genus Apis, Western Press, Boulder, CO, pp. 51- 69.

Rasmussen C, Cameron S A. 2010. Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal. Biol J Linn Soc. 99: 206–232.

Rodríguez A, Sarmiento CE (2008) Altitudinal distribution and body resource allocation in a high mountain social wasp (Hymenoptera: Vespidae). Neotr Entomol 37:1–7

Roig-Alsina A, Michener C D. 1993. Studies of the phylogeny and classification of long-tongued bees (Hymenoptera, Apoidea). University of Kansas Science Bulletin 55, 123-162.

Rohlf James F (a). 2004. TPSsplin. Versión 1.20. Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook.

Rohlf James F (b). 2004. TPSregr. Versión 1.30. Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook.

Rohlf James F (a). 2006. TPSdig. Versión 2.05. Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook.

Rohlf James F (b). 2006. TPSUtil. . Versión 1.34. Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook.

Rohlf James F (c). 2006. TPSrelw. Versión 1.42. Ecology & Evolution, SUNY at Stony Brook.

Ruz L. 2002. Bee Pollinators Introduced to Chile: a Review . IN: Kevan P & Imperatriz Fonseca VL (eds) - Pollinating Bees - The Conservation Link Between Agriculture and Nature - Ministry of Environment / Brasília. p.155-167.

Schuh R T. 2000. Biological Systematics: Principles and Applications. Cornell University Press, 256 p.

Scotland R, Pennington R T. 2000. Homology and systematics: coding characters for phylogenetic analysis. Systematics Association special volume 58. Taylor & Francis, London. 217p.

Serrão J E. 2000. A comparative study of the proventricular structure in corbiculate apinae (Hymenoptera, Apidae). Micron 32, 379-385

Somers K M. 1986. Multivariate allometry and removal of size with principal components analysis. Systematic Zoology. 35 (3): 359-368

Silveira F A, Melo G, Almeida E A. 2002. Abelhas Brasileiras, Sistemática e Identificação. Belo horizonte.

Silveira F A, Pinheiro-Machado C, Alves dos Santos I, Kleinert A, Imperatriz-Fonseca V L. 2002b. Taxonomic Constraints for the Conservation and Sustainable Use of Wild Pollinators – The Brazilian Wild Bees. em: Kevan P e Imperatriz Fonseca VL (eds) - Pollinating Bees - The Conservation Link Between Agriculture and Nature - Ministry of Environment / Brasília. p.41-50.

Sheppard W S, McPherson B A. 1991. Ribosomal DNA diversity in Apidae. Em: Smith, D.R. (Ed.). Diversity in the Genus Apis, Western Press, Boulder, CO, pp. 87-102.

Somers K M (1986) Multivariate allometry and removal of size with principal components analysis. Systematic Zoology 35 (3): 359-368.

Wiens J. 2001. Character analysis in morphological phylogenetics: problems and solutions. Syst. Biol. 50, 689–699

Wilson, Edward . 1971. The Insect Societies. Cambridge. Massachusetts: Belknap Press of Harvard University Press, 1971.

Wilson, Edward. 2005. Eusociality: Origin and Consequences. PNAS 102 (38): 13367–13371.

Winston M L, Michener C D. 1977. Dual origin of highly social behavior among bees. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 74, 1135 -1137.

Yates T L, Salazar-Bravo J, Dragoo J W. 2004. The importance of the tree of life to society. *In:* Cracraft, J. e Donoghue, M.J. 2004. Assembling the Tree of Life. Oxford University Press. 576 pp.

Zelditch M L, Swiderski D L, Sheets D H, Fink W. 2004. Geometrics morphometrics for biologist: A primer. London: Elsevier Academic Press.

# 6. ANEXOS

## 6.1 ANEXO 1*:* Lista de caracteres morfológicos e comportamentais empregados nesse trabalho.

Caracteres 1-107: os números entre parênteses correspondem à tabela 8 de Chavarria e Carpenter (1994)

Caracteres 108-138: os números entre parênteses correspondem à matriz usada por Cardinal *et al*. (2007).

Caracteres 109-180: os números entre parênteses correspondem à matriz usada por Noll (2002)

### Chavarria e Carpenter (1994)

| | | |
|---|---|---|
| 1 | (2) | Papillae on distal Parts of wings: absent [0]; present [1]. |
| 2 | (3) | Mandibular grooves: present [0]; absent [1]. |
| 3 | (4) | Mentum and lorurn: united [0]; separated [1]. |
| 4 | (5) | Arolia: present [0]; greatly reduced [1]: absent [2]. |
| 5 | (6) | Upper pan of main axis of strigilis: not expanded and without apical prong [0]; expanded and with prong or lamella [1]. |
| 6 | (7) | Hind tibial spurs: present [0]; absent [1]. |
| 7 | (8) | Stigma: large [0]: small [1], |
| 8 | (9) | First recurrent vein: longer, more oblique and not angulate [0]; long and moderately angulate [1]; short and angulate, sometimes absent [2]. |
| 9 | (10) | Hind wing jugal lobe: present [0]; absent [1]; vestigial [2] |
| 10 | (11) | Male gonobase: well developed [0]; incomplete band [1]; absent [2]; thin ribbon [3] |
| 11 | (12) | Male SVII & VIII: well developed [0]; much reduced [1]; fused mesally [2]; reduced [3] |
| 12 | (13) | Supital sc!erite: delicate [0]; strong [1]. |
| 13 | (15) | Postgenal lobes: narrow [0]; wide [1], |
| 14 | (16) | Hind basitarsos: slender [0]; auricle present [1]. |
| 15 | (17) | Prosternum constriction: ahsent [0]; present [1], |
| 16 | (18) | Prosternal apophyseal pit: visible [0]; obscured [1] |
| 17 | (19) | Prosternal cutjcle': with setae [0]; smooth [1]. |
| 18 | (20) | Hypopharyngeal lobes oriented: not transversely [0]*;* transversely [1]. |

19 (21) Galeal bar in rnaxillus: absent [0]; present (l).

20 (22) Stipites: flared above cardines [0]: not flared [1].

21 (23) Antero-lateral process of mesoscutum: curved [0]; flat [1].

22 (24) Cuticle: without bands of uneven sclerotization [0]: with [1].

23 (25) Subgaleal sclerite: varied [0]: similar shape [1],

24 (26) Postmentum: adjoining [0]: separated [1],

25 (27) Basisternum: small [0]; expanded [1]

26 (28) Internal metapleural ridge: not bent [0]; bent [1].

27 (29) Second phragma retractor muscle ridge: not smoothly curved [0]. smoothly cuprved [1]

28 (30) Prosternum: small [0]; large [1].

29 (203) Keirotrichia of worker: uniformly distrihuted [0]; restricted to median longitudinal band on tibia [1],

30 (204) Hind-tibial cross-section of worker: inner surface flat from premedian longitudinal ridge [0]; with broad depressed posterior zone [1].

31 (205) Sting stylet of worker: stylet distinct. sharp [0]; stylet with apex about right angular or with apex rounded [1]

32 (206) Sting lancet of worker: long, free, apex more or less longitudinal [0]; short to absen t, included in membrane [1].

33 (207) Submarginal angle in forewing: strongly acute [0]; slightly acute to obtuse [1].

34 (225) Anterior tentorial pit: high on epistomal suture [0]; at or below middle of epistornal suture [1].

35 (226) Paraocular carina: absent [0]; present [1]

36 (227) Condyle of anterior mandibular articulation: contiguous with lateral clypeal margin [0]; partly covered by lateral clypeal margin [1]

37 (228) Latera1 part of lower portion of c1ypeus: not bent backward or only gently curved backward [0]; strongly and abruptly bent back [1].

38 (230) Dorsal sheet of anterior tentorial arm: without spur reaching orbit of eye [0]; with spur reaching laterally to eye [1].

39 (231) Lateral expansion of internal thickening above epistomal ridge: at least as wide as half width of .socket diameter [0]; reduced [1]

40 (232) Clypeus with apical inflection: present [0]: reduced to narrow band [1]

41 (233) Postoccipital pouch below foramen magnum: absent [0]; distinct & deep [1]

42 (234) Fan-shaped posterior sheets of tentorium: well developed [0]; small to absent [1].

43 (235) Epistomal suture below anterior tentorial pits: nearly straight or gently curved or' angulate [0], extending straight down [1].

44 (236) Maxillary stipes with ridge on outer surface: absent [0]: present [1].

45 (237) Ma.xillary galeal blade: uniformly sclerotized or only narrowly desclerotized near apex [0]; with posterior margin broadly desclerotized almost to base [1].

46 (238) Maxillary lacinia: rounded [0]; elongate [1].

47 (239) Lorum and mentum: united [0]; separated from one another [1]

48 (240) Base of lorum: simple [0]; with a longitudinal fissure on each side [1].

49 (241) Subligular process of prementum: fully sclerotized and united to rest of pre-mentum [0]; separated from rest of prementum by weak line [1]; weakly sclerotized [2]

50 (242) First segment of labial palpus: without membranous margin [0]: with membranous inner margin [1].

51 (243) Glossal rod: absent [0]; present but not enclosing bacular canal [1]; present and partly surrounding the bacular canal [2]

52 (244) Posterior surface of flabellum: smooth or nearly so [0]; with a cobblestone pattern [1].

53 (245) Annular hairs of glossa: extending to base of flabellum [0]: separated from flabellulTl by a non-annulate shank [1].

54 (246) Mandible of female: pollex not expanded distally [0]; pollex expanded [1].

55 (247) Lateral carina separating exposed part of propleuron from part hidden by pronotum: present [0]; absent [1].

56 (248) Apophyseal arms of prosternum: fused [0]; separate [1].

57 (249) rnternal scrobal ridge: absent [0]; present [1],

58 (250) Distance between metapleural pits, divided by height: >0.20 [0]; 0.10-0.19 [1].

59 (251) Membrane closing space behind metasternum and hind coxae: arising above free apex of metasternum [0]: arising from apical margin of metasternum [1].

60 (252) Lower extremity of metapostnotum internally: with vertical longitudinal ridge [0]; with ridge extending beyond marginal area [1]: absent [2]

61 (253) Conjunctiva between metasternum, hind coxae, and SI: entirely membranous [0]; with sc!erotized bars near coxal margins [1],

62 (254) Degree of isolation of bases of hind tibial spurs: none to partial [0]; complete [1].

63 (255) Inner margin of inner hind tibial spur of female: finely serrate to ciliate [0]; pectinate [1],

64 (256) Basitibial plate: present at least in female [0]; absent [1].

65 (257) Hind tibial scopa (female): absent [0]; surrounding large polished space on outer side of tibia [1].

66 (258) Apex of inner surface of hmd tibia (female); without comb of bristles [0]; wlth comb of bristles [1].

67 (259) Apex of hind tibia (female): not expanded dorsally [0]; expanded dorsally [1]

68 (260) Hind basitarsus (female): giving rise to second tarsomere at apex [0]; projecting distad above articulation of second tarsomere [1]; projecting distad but ending in small dense brush [2]

69 (261) Trunk of anterior tibial spur: simple [0]; with strong expansion at right angles to velum [1].

70 (262) Velum of anterior tibial spur: broad [0]; about as long as broad [1].

71 (263) Pygidial plate of T6 of female: present [0]; absent [1].

72 (264) S7 of male: without apical lobes [0]; short and transverse, without lobes [1].

73 (265) S8 of male: with single apical projection and moderate basolateral arms [0]; without apical projection [1]: almost completely absent [2]

74 (266) Gonostylus: articulated to gonocoxite [0]; more or less fuscd to gonostylus [1].

75 (267) Volsella: a free sclerite but not chelate [0]; absent or fused to gonocoxito [1].

76 (268) Dorsal bridge of penis valves: short [0]; not extended behind level of apodemes [1].

77 (270) Spiculation on dorsal surface of labrum: absent [0]; present. [1].

78 (271) Dorsal & maxillary spiculation: present [0]: absent [1].

79 (272) Anterior tentorial pit: high [0]; low [1].

80 (273) Posterior thickening of headwall: well developed [0]; weakly developed (l).

81 (275) Median longitudinal thickening of headwall: absent [0]; developed only dorsally [1]; extending fomward to level of epistomal suture [2]

82 (276) Hypostomal ridge: well developed [0]; weak [1] .

83 (277) Angle of hypostomal ridge: obtuse [0]; perpendicular [1].

84 (278) Pleurostomal ridge: well developed [0]; weak [1].

85 (279) Epistomal ridge of depression; well below level of antennae [0]. arched upward [1],

86 (280) Antennal papilla: enlarged basally & moderately developed [0]: well developed [1].

87 (282) Sensilla-bearing swellings: present [0]; absent [1].

88 (283) Mandibular apex; acute [0]; broadly rounded ( 1).

89 (284) Mandibular apex: simple [0]; bidentate with dorsal tooth longer or teeth subequal [1]; ventral tooth longer [2].

90 (285) Apical part of mandible: not attenuate [0]; attenuate [1]

91 (286) Teeth on dorsal apical edge of mandible: present [0]; absent [1].

92 (287) Mandibular apical concavity: weakly to moderately developed [0]; strongly developed [1].

93 (291) Inner apical maxillar surface; rounded [0]; produced mesally [1].

94 (292) Maxillary palpus: elongate [0]; shorter than basal diameter [1].

95 (293) Maxillary palpus: slender [0]; robust [1].

96 (297) Labial palpus: shorter than maxillary palpus [0]; subequal to or longer than maxillary palpus [1].

97 (298) Salivary lips: greatly reduced or absent [0]; well developed (l).

98 (300) Salivary opening: nearly as broad as distance between labial palpi or broader [0]; much narrower [1].

99 (301) Hypophyrangeal groove: distinct [0]: absent [1].

100 (302) Body integument: with patches or transverse rows of conspicuous spicules or setae [0]: without conspicuous spicules or setae [1].

101 (303) Body integument: apparently nonsetose [0]: setose [1].

102 (304) Salivary opening: nearly as broad as distance between labial palpi or broader [0]; much narrower [1].

103 (306) Dorsal conical tubercles: absent [0]; present [1].

104 (307) Venter or abdominal segment X: rounded, not produced [0]; produced [1].

105 (308) Dorsum of abdominal segment X: without transverse line or ridge [0]; with transverse ridge [1]; with transverse line [2]

106 (312) Spiracular atrial wall: without spines [0]; with small spines or denticles [1]: with long spines [2]

107 (313) Spiracular atrial rim: present [0]; absent [1].

## Cardinal *et al*. (2007)

108 (0) Marginal ridge of HT7: Complete or almost complete, HT7 entirely or almost entirely enclosed by well defined ridge [0]. Incomplete, posterior portion of HT7 not enclosed by ridge [1] absent posteriorly; and absent or reduced laterally [2]

109 (1) Lateral process HT7—location: anteriorly positioned [0]; 1⁄2 way along lateral portion of marginal ridge [1]; absent or reduced to a nub [2]

110 (2) Lateral process HT7—orientation: at a 30–110_ angle from lateral ridge and largely straight [0]; at a 40–80_ angle from lateral ridge and clearly sinuate [1]; at a 130–160_ angle from lateral ridge and straight [2]

111 (3) Width of lamina spiracularis compared with that of the lateral lamella (HT7): <2.9 X [0]; </= 4.6 X [1]; lateral lamella absent [2]

112 (4) Incision of lateral lamella (HT7): anteriorly positioned, narrowed towards lateral margin of lamella [0]; posteriorly positioned, widest towards lateral margin of lamella [1]; anteriorly positioned, widest towards lateral margin of lamella [2]

113 (5) Position of spiracle in lamina spiracularis (HT7): posterolateral [0]; central [1]

114 (6) Anterior ridge of HT8; extended around medial margin of apodeme [1]; not extended [2]

115 (7) Posterior ridge (HT8): weakly developed or absent [0]; well developed, complete [1]

116 (8) Anteromedial portion of apodeme (HT8): not produced anteriorly [0]; produced anteriorly [1]

117 (9) Angle of the carina separating the apodeme from the plate of HT8 in relation to the anterior ridge: 45–70° [0]; 85° [1]; 20–25° [2]; 5–10° [3]

118 (10) Lateral margin of plate of HT8: extended laterally far beyond the apodeme [0]; not extended [1]

119 (11) Posteromedial edge of plate of HT8; narrowed towards posterior margin of apodeme [0]; expanded posteriorly away from margin of apodeme [1]

120 (12) Shape of HT8 in anterior view: variable, but never distinctly sinuate [0]; sinuate [1]

121 (13) Orientation of sting plates in body of insect (first valvifer): mostly dorsoventral [0]; mostly horizontal [1]

122 (14) Length of anterior portion of first ramus (the part perpendicular to length of sting shaft) compared with height of sting shaft bulb (first valvifer): long, 5–7 X height of bulb [0]; short, 2–3.5 X height of bulb [1]

123 (15) Posterior margin of the first valvifer: concave [0]; straight [1]

124 (16) Ventral margin of the first valvifer: Convex [0]; sinuate [1]; concave [2]

125 (17) Longitudinal carina of the first valvifer: developed into a tooth [0]; not developed into a tooth [1]

126 (18) Number of barbs on lancet (first valvifer): 2-4 [0]; 10-12 [1]

127 (19) Gonostylus (second valvifer): Clearly divided into two segments [0]; undivided with at most an incomplete medial unsclerotized region [1]

128 (20) Setae on gonostylus (second valvifer): distinct, long, dispersed and not forming brush [0]; distinct, long, and forming brush [1]; indistinct, short [2]

129 (21) Rostral process (second valvifer): gradually expanding towards pars articularis [0]; abruptly expanded towards pars articularis [1]

130 (22) Apodeme of the second valvifer: narrowly lunate, tapering evenly towards both ends [0]; basal portion wide, gradually narrowing apically [1]; basal portion narrow, gradually widening apically [2]

131 (23) Posteroapical edge of the 2nd valvifer: evenly curved [0]; abruptly bent into a 110° angle [1]

132 (24) Sting shaft: not reduced [0]; reduced [1]

133 (25) Bulb of the sting shaft: ventrally bent [0]; straight [1]

134 (26) Stylet of the sting shaft: straight or slightly curved dorsad [0]; distinctly curved dorsad [1]

135 (27) Furcula: present [0]; absent [1]

136 (28) Dorsal arm of furcula: laterally compressed and about ½ length of ventral
Arms [0]; laterally compressed and 1/10–1⁄5 length of ventral
arms [1]; not distinctly compressed with apex pointed [2]; dorsoventrally compressed [3]; absent [4]

137 (29) Shape of furcula in lateral view: angulate at junction of dorsal and ventral arms [0]; evenly curved [1]

138 (30) Angle subtended by ventral arms of furcula: acute [0]; rounded [1]

## Noll (2002)

139 (1) Collection and storage of aromatic chemicals by the males: absent [0]; presente [1].

140 (2) Nest site and general structure: cells excavated in burrows [0]; free-standing constructions of imported material [1].

141 (3) Storing of nest construction material: absent [0]; presente [1]

142 (4) Nest coating: absent [0]; lining of all or part of the cavity with resin [1]; thick layer of propolis covering the nest cavity floor, walls, and ceiling [2].

143 (5) Vertical pillars and connectives extensively built in the nest used for stabilizing brood cells: absent [0]; present [1]

144 (6) Hygienic habits: waste materials are kept in the nest [0]; waste materials are kept in the nest but are clearly removed from the brood area to the periphery [1]; waste materials are carried away from the nest [2]; waste materials are removed and deposited in the lowermost involucral sheet [3]

145 (7) Wax envelope covering the brood area: absent [0]; presente [1].

146 (8) Materials employed in cell construction: non vegetable material from the substrate [0]; materials other than substrate, composed of vegetable material brought from outside the nest such as resin and a small quantity of secreted material [1]; secreted material mixed with resin or pollen [2]; secreted material [3].

147 (9) Cell walls: cells are excavated and are lined with endogenous substances [0]; cell walls differentiated into outer and inner layers with different texture, without special lining [1]; cell walls have only one layer made of resin [2]; cell walls have only one layer made of secreted material [3].

148 (10) Brood cell architecture: independent cells [0]; cells constructed independently but clustered together [1]; cells serially constructed as a comb so that the cells have at least one wall in common [2]

149 (11) Cell shape: elliptical [0]; hexagonal [1]

150 (12) Reuse of cells or space where larvae are reared: absent [0]; material reused but cells reconstructed [1]; cells or spaces always reused [2].

151 (13) Brood cell construction: each cell construction Brood cell construction. [0]; various individuals are engaged in the construction of one cell at the same time [1].

152 (14) Number of eggs per cell: one [0]; more than one [1].

153 (15) Cell walls: fixed [0]; expansible [1].

154 (16) Brood cell construction: each cell is followed by oviposition [0]; more than one cell can be built before oviposition [1]

155 (17) Royal cells: absent [0]; presente [1].

156 (18) Cell construction and oviposition: always by the same female [0]; by the same female but she can open a cell of other females, eat the egg, and lay her own egg [1]; always in cells built by other females [2].

157 (19) Oviposition in the presence of more than one female: more than one female can lay eggs at the same time [0]; only the queen lays eggs initially, but workers start building their own cells and ovipositing in the end of the cycle (usually when the queen is rearing males) [1]; only the queen lays eggs and worker reproduction is rare [2]; queens and workers lay eggs but in the latter the eggs are mostly nonviable [3].

158 (20) Cell provisioning: always by the same female that oviposited in the cell [0]; by the same female that oviposited in the cell in the solitary phase only [1]; always by other females than that which oviposited in the cell [2].

159 (21) First brood cell provisioning: provisions provided in toto prior to oviposition and cell closure [0]; provision of the egg chamber of first brood is done before the eggs are laid but more food is added before the larvae mature [1]; provisions composed entirely or almost entirely of secreted material fed to developing larva in the open cell [2].

160 (22) Feeding the second brood: provisions provided in toto prior to oviposition and cell closure [0]; provisions provided more or less progressively to de veloping larva [1].

161 (23) Feeding pockets: absent [0]; presente [1]

162 (24) Brood food origin: comes straight from the field [0]; comes from both field and storing places [1]; is always from storing places [2]

163 (25) Brood food composition: pollen and nectar [0]; pollen, honey, and glandular secretions [1]; glandular origin [2]

164 (26) Pollen transportation: dried [0]; in a firm mass together with a little nectar [1]

165 (27) Food storage: absent, food is deposited directly in brood cells [0]; honey and pollen are separatelydeposited in storage pots [1]; honey and pollen are separately deposited in combs [2].

166 (28) Foraging behavior: all individuals forage [0]; all individuals forage but dominants stay in the nest much more than forage [1]; queen forages only until the first brood emerges; [3] queens never forage [2].

167 (29) Division of nonreproductive labor: absent [0]; larger individuals perform activities like foraging and smaller individuals perform nest activities [1]; young individuals start to work with wax and cerumen, away fromthe brood nest, and then some shift toward building and provisioning brood cells (i.e., age polyethism) From brood care they go to foraging: first they receive incoming nectar and dehydrate it before becoming actual foragers [2].

168 (30) Food exchange among adults: absent [0]; via brood cells or brood food only [1]; direct via oral trophallaxis [2].

169 (31) Nectar exchange among the individuals before being stored: nectar is deposited directly in the brood cell [0]; nectar is directly deposited in the pots [1]; nectar is exchanged among workers and is dehythe drated before being stored [2].

170 (32) Time of cell closure: immediately after an egg is laid [0]; upon pupation [1].

171 (33) Cell closure: withmandibles [0]; with abdominal insertation and rotating behavior [1].

172 (34) Cell colar: absent [0]; presente [1].

173 (35) Removal of cell walls after cocoon spinning: absent [0]; present [1].

174 (36) Colony foundation: solitary [0]; swarm [1].

175 (37) Queen (or lone *a* ) foraging: Pollen-collecting and carrying apparatus as in *a* [0]; with such structures absent, must start colony with swarm of workers [1]

176 (38) Social regulation: dominance behaviorally mediated [0]; dominance pheromonally–behaviorally mediated [1]; dominance pheromonally mediated [2]

177 (39) Morphologically trophic eggs: absent [0]; present [1].

178 (40) Dominant female or queen disappearance: subordinates or workers behave as dominant [0]; a subordinate or worker(s) never behaves as dominant [1]

179 (41) Morphological differences between castes: no castes [0]; castes differ strikingly in mean size [1]; mean size and discrete morphological differences (queens lack apparatus for collection pollen, producing wax) [2].

180 (42) Provision and oviposition process: absent [0]; present [1]

## 6.2 ANEXO 2*:* Dados moleculares utilizados.

### 6.2.1 Números de acesso do Genbank para as sequências de genes usados para cada espécie.

| *Espécie* | *16s* | *18s* | *28s* | **wingless** | *Pol II* | *Opsin* | *EF-1a* | **NaK** | **ArgK** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ***Centris tarsata*** | EU162948 | GU244597 | GU244765 | GU245523 | GU245364 | AF344590 | GU244918 | GU245070 | EU163032 |
| ***Ephicharis rustica*** | EU162948 | GU244600 | GU244760 | GU245518 | GU245359 | GU245242 | GU244921 | GU245065 | EU163033 |
| ***Apis dorsata*** | AF153098 | HM750230 | HM750243 | EU184715 | EU184732 | AF091733 | AY267146 | EU184749 | AY267178 |
| ***Apis mellifera*** | AF250955 | AB126807 | AF181590 | AY703618 | KC213058 | AF091732 | AF015267 | EU184748 | EF032397 |
| ***Bombus pauloensis*** | AY268398 | HM750224 | HM750237 | EU184707 | EU184724 | AY268376 | AF492964 | EU184741 | DQ788398 |
| ***Bombus morio*** | AY268409 | HM750223 | HM750236 | EU184708 | EU184725 | AY268387 | AF492961 | EU184742 | DQ788467 |
| ***Bombus nevadensis*** | DQ788069 | HM750222 | HM750235 | EU184709 | EU184726 | AF493041 | AF492957 | EU184743 | AF492892 |
| ***Bombus robustus*** | DQ788093 | HM750224 | HM750237 | EU184707 | EU184724 | AF493031 | AF492964 | EU184741 | EF032405 |
| ***Bombus rubicundos*** | DQ788093 | HM750223 | HM750237 | EU184708 | EU184725 | AF493028 | AF492961 | EU184742 | EF032405 |
| ***Bombus terrestris*** | DQ788118 | HM750222 | FJ042181 | EU184709 | EU184726 | AF493022 | AJ582380 | EU184743 | AF492888 |
| ***Eufriesea euriceps*** | L22904 | GU244638 | GU244798 | GU245559 | EU421215 | GU245272 | EU421332 | GU245106 | EU421591 |
| ***Eufriesea violacea*** | AJ581090 | HM750221 | GU244798 | EU184706 | EU421228 | EU184834 | EU421348 | EU184740 | EU421608 |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ***Euglossa chordata*** | AJ581088 | GU244636 | GU244796 | GU245557 | EU421297 | GU245270 | EU421422 | GU245104 | EU421679 |
| ***Eulaema nigrita*** | AJ581097 | GU244635 | GU244795 | GU245556 | EU421300 | GU245269 | AJ582369 | GU245103 | EU421685 |
| ***Frieseomelitta varia*** | FJ041924 | GU244653 | FJ042025 | GU245576 | EU162857 | FJ042403 | FJ042301 | GU245123 | FJ042200 |
| ***Geotrigona mombuca*** | FJ041928 | GU244653 | FJ042029 | GU245576 | EU162865 | FJ042407 | FJ042305 | GU245123 | FJ042204 |
| ***Leurotrigona muelleri*** | FJ041933 | GU244653 | FJ042034 | GU245576 | EU162857 | FJ042412 | FJ042310 | GU245123 | FJ042209 |
| ***Melipona quadrifasciata*** | AF343100 | GU244653 | GU244813 | GU245576 | EU162905 | AF344607 | EU163218 | GU245123 | FJ042223 |
| ***Meliponula bocandei*** | DQ790452 | HM750227 | HM750240 | EU184712 | EU184729 | DQ813209 | EU163204 | EU184746 | EU163036 |
| ***Nannotrigona testaceicornis*** | AF343102 | GU244653 | FJ042056 | GU245576 | EU162853 | FJ042433 | FJ042331 | GU245123 | FJ042230 |
| ***Oxytrigona tataira*** | AF343104 | GU244653 | FJ042062 | GU245576 | EU162905 | FJ042440 | FJ042338 | GU245123 | FJ042237 |
| ***Paratrigona lineata*** | FJ041969 | GU244653 | FJ042072 | GU245576 | EU162905 | FJ042450 | FJ042348 | GU245123 | FJ042247 |
| ***Plebeia droryana*** | AF343092 | GU244653 | FJ042078 | GU245576 | EU980082 | FJ042455 | FJ042353 | GU245123 | FJ042252 |
| ***Scaptotrigona bipunctata*** | FJ041987 | GU244657 | FJ042092 | GU245580 | GU245414 | FJ042467 | FJ042366 | GU245127 | FJ042265 |
| ***Trigona intermedia*** | L22901 | HM750225 | EU049738 | EU184710 | EU162858 | EU184835 | EU184770 | EU184744 | EU049759 |
| ***Trigona spinipes*** | EU049716 | HM750225 | EU049741 | EU184710 | EU184727 | EU049811 | EU049790 | EU184744 | EU049766 |
| ***Xylocopa virginica*** | L22905 | GU244743 | GU244903 | AF091730 | GU245500 | AF091730 | AY208290 | GU245220 | AY267179 |
| ***Exoneura bicolor*** | L22906 | GU244736 | GU244896 | GU245668 | GU245493 | AF091730 | GU245041 | GU245212 | AY267179 |

### 6.2.2 Parâmetros finais de alinhamento para cada gene.

| *Parâmetros de alinhamento de sequências Clustal X 2.1* | *16s* | *18s* | *28s* | **wingless** | *Pol II* | *Opsin* | *EF-1a* | **NaK** | **ArgK** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Gap opening (0-100)* | 15 | 15 | 20 | 20 | 15 | 15 | 15 | 15 | 30 |
| *Gap extension (0-100)* | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 20 |
| *Delay divergent sequences (%)* | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 20 |
| *DNA transition weight (0-1)* | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |

## 6.3 ANEXO 3: Localidade dos indivíduos utilizados nas análises de morfometria

| *Espécie* | Estado | Localidade | Data coleta |
|---|---|---|---|
| *Apis dorsata* | India | India. Bangalore | 1-2/ago/90 |
| *Apis dorsata* | | India. Karnataka, Devarayadurga 1187m | 14/jun/84 |
| *Apis dorsata* | | India. Karnataca. Nandi Hills, 65m N Bangalore | 08/ago/90 |
| *Apis dorsata* | | India. Punjab Ludhiana campus PunjabAgric Univ | 13/set/64 |
| *Apis dorsata* | | India. Punjab Ludhiana campus PunjabAgric Univ | 10/nov/64 |
| *Apis mellifera* | MA | São Luis | 11/dez/82 |
| *Apis mellifera* | MA | São Luis | 11/dez/82 |
| *Apis mellifera* | MA | Alcántara | 09/dez/82 |
| *Apis mellifera* | GO | Aragarças | 21/jan/71 |
| *Apis mellifera* | GO | Aragarças | 21/jan/71 |
| *Apis mellifera* | PA | Gradaus | out/77 |
| *Apis mellifera* | PA | Tauari. Rio Tapajos | 29/jan-1/fev/79 |
| *Apis mellifera* | PA | Tauari. Rio Tapajos | 29/jan-1/fev/79 |
| *Apis mellifera* | PA | Rio Trairão | 21-24/jul/1979 |
| *Apis mellifera* | PA | Rio Trairão | 21-24/jul/1979 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Apis mellifera* | PA | São Luis do Tapajos | 14-17/jan/79 |
| *Apis mellifera* | PA | Santana. Rio Tapajos | 21-23/jan/1979 |
| *Apis mellifera* | PA | Cach de Porteira | 9-12/fev/79 |
| *Apis mellifera* | SP | Ribeirão Preto | jan/75 |
| *Apis mellifera* | SP | Ribeirão Preto | jan/75 |
| *Apis mellifera* | SP | Ribeirão Preto | jan/75 |
| *Apis mellifera* | SP | Ribeirão Preto | jan/75 |
| *Apis mellifera* | SP | Ribeirão Preto | jan/75 |
| *Apis mellifera* | AM | Tefé | 27-30/jan/77 |
| *Apis mellifera* | AM | Tefé | 27-30/jan/77 |
| *Bombus pauloensis* [*Bombus atratus*] | SP | Ribeirão Preto. Caixa 15 | |
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto. Caixa 15 | |
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto. Caixa 15 | |
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto. Caixa 15 | |
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto. Caixa 15 | |
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto. Caixa 4 | |
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto. Caixa 4 | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto. Caixa 4 | |
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto. Caixa 4 | |
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto. Caixa 4 | |
| *Bombus pauloensis* | MG | Vicasa | 15/set/80 |
| *Bombus pauloensis* | MG | Serra de canastro. São Roque de Minas. 1100m | 11-13/jan/1992 |
| *Bombus pauloensis* | MG | Serra de canastro. São Roque de Minas. 1100m | 11-13/jan/1992 |
| *Bombus pauloensis* | SP | Serrana | 21/jan/72 |
| *Bombus pauloensis* | SP | Serrana | 21/jan/72 |
| *Bombus pauloensis* | SP | Ribeirão Preto | 11/jun/86 |
| *Bombus pauloensis* | DF | Brasilia DF | 19/fev/71 |
| *Bombus pauloensis* | DF | Brasilia DF | 19/fev/71 |
| *Bombus pauloensis* | GO | Cristalina | 31/jan/93 |
| *Bombus pauloensis* | GO | Res. Krahá galheiros | 21/jan/93 |
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 27/abr/73 |
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 28/abr/73 |
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 29/abr/73 |
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 30/abr/73 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 01/mai/73 |
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 02/mai/73 |
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 03/mai/73 |
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 04/mai/73 |
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 05/mai/73 |
| *Bombus morio* | SP | Agudos | 06/mai/73 |
| *Bombus morio* | SP | Sta Rosa de Viterbo | abr/66 |
| *Bombus morio* | SP | São Sebastião | 12-13/nov/65 |
| *Bombus morio* | SP | São Simão | 10/mai/72 |
| *Bombus morio* | SP | Ribeirão Preto | 20/jan/73 |
| *Bombus morio* | SP | Ribeirão Preto | 30/jun/69 |
| *Bombus morio* | MT | Navirai | .1975 |
| *Bombus morio* | MG | Alto Caparacá. 1000m | 23/jan/88 |
| *Bombus morio* | MG | Alto Caparcá. 1000m | 23/jan/88 |
| *Bombus morio* | MG | São João de Rei | .1975 |
| *Bombus morio* | MG | São João de Rei | .1975 |
| *Bombus nevadensis* | | USA. Colo. Conejos Co Conejos canyon | 17/20/jul/92 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Bombus nevadensis* | | USA. Utah. Cove fort | 01/ago/24 |
| *Bombus nevadensis* | | USA. Montana Power Rivero cump pass | 10/ago/78 |
| *Bombus nevadensis* | | USA. Davis Crk Cal. Medoe Col | 15/jul/23 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Via Cogua Pacho | 20/mar/83 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Via La calera 3070m | 12/nov/83 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Via La calera 3070m | 12/nov/83 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Via La calera 3070m | 12/nov/83 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Cabrera- Via Paquilo 2600m | 29/nov/83 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Cabrera- Via Paquilo 2600m | 29/nov/83 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Cabrera- Via Paquilo 2600m | 29/nov/83 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Zipaquira 2930m | 21/set/84 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Zipaquira 2930m | 21/set/84 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Suasca -Camino piedras | 30/abr/95 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | La Calera, Vda el salitre | 20/jan/02 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Mapachilo | abr/99 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Paramo Subachoque 3000m | 10/jun/83 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Represa Neusa 3100m | 19/nov/81 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Represa Neusa 3100m | 19/nov/81 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Represa Neusa 3100m | 19/nov/81 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Represa Neusa 3100m | 19/nov/81 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Via Cogua Pacho | 20/mar/83 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Zipaquira 2930m | 21/set/84 |
| *Bombus robustus* | Col- Cund | Alto de la Viga, Atras de Monserrate | fev/82 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | PNN Chingaza | dez/01 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Via La calera 3250m | 12/nov/83 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Boy | Arcabuco, Via cogua-Iguaque | 04/abr/85 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | El Salitre | 06/out/91 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | | |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Paramo Guerrero- Sur San Cayetano | 20/mar/83 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Paramo Guerrero- Sur San Cayetano | 20/mar/83 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Paramo Guerrero- Sur San Cayetano | 20/mar/83 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Pacho | 22/set/89 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Via La calera 3250m | 12/nov/83 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Via La calera-chuza 3070m | 12/nov/83 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Bombus rubicundos* | Col- Boy | Santuario Iguaque | 12/jan/90 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cauc | PN Purace 3300m | 15/abr/82 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Boy | Tunja, santuario iguaque 2830m | 08/jan/92 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | V. Pinzon 3000 | 24/fev/96 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cauc | PNN Purace. San Rafael 3200m | 17/abr/82 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Usme. Chizacá 3620 | 28/set/91 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Pacho 2870m | 28/set/84 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Guatavita 3100m | 29/set/91 |
| *Bombus rubicundos* | Col- Cund | Via Cogua -Pacho 3130m | 20/mar/83 |
| *Bombus terrestris* | | Tor slunda Ekologiska stn | 24/ago/74 |
| *Bombus terrestris* | | New zeland. MC Banks Peninsula. Princes valley | nov/80 |
| *Centris tarsata* | MG | Ritapolis | 19/jan/79 |
| *Centris tarsata* | MT | Navirai | 26/mai/05 |
| *Centris tarsata* | PA | Alter do chao | 3-4/fev/79 |
| *Centris tarsata* | PA | Alter do chao | 3-4/fev/79 |
| *Centris tarsata* | MG | Alto Caparacá. 1000m | 23/jan/88 |
| *Centris tarsata* | SP | Ribeirão Preto | 21/fev/86 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Centris tarsata* | GO | Aragarças | 10-29/jan/79 |
| *Centris tarsata* | GO | Aragarças | 10-29/jan/79 |
| *Centris tarsata* | SP | São Sebastião | 12-13/nov/65 |
| *Centris tarsata* | SP | São Sebastião | 12-13/nov/65 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 10/mar/98 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 24/abr/99 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 25/mai/98 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 25/mai/98 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 05/nov/99 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 03/nov/99 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 03/nov/99 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 07/jul/99 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 31/ago/99 |
| *Centris tarsata* | SP | Est. Ecol. Paulo de faria | 03/dez/99 |
| *Ephicharis rustica flava* | MG | Conego Marinho | 13-15/fev/88 |
| *Ephicharis rustica flava* | BA | Morro de chapéu | 17/jan/85 |
| *Ephicharis rustica flava* | DF | Brasilia DF | 19/fev/71 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Ephicharis rustica flava* | DF | Brasilia DF | 19/fev/71 |
| *Ephicharis rustica flava* | SP | Ribeirão Preto | 07/nov/74 |
| *Ephicharis rustica flava* | SP | Ribeirão Preto | 08/mar/76 |
| *Ephicharis rustica flava* | SP | São Sebastião | 12-13/nov/65 |
| *Ephicharis rustica flava* | Col-Ant | Colombia. Antioquia. Medellin | fev/44 |
| *Ephicharis rustica flava* | Panama | Panama. Dolega | 15/mar/80 |
| *Ephicharis rustica flava* | Col-meta | Colombia.Meta. PNN La macarena | 01/mai/88 |
| *Ephicharis rustica flava* | Col-ara | Colombia. Arauca. La conquista. Fca. Macaguan. 120m | mai/75 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 03/jan/89 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 1-9/jan/90 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 01/jan/90 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 09/dez/89 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 03/jan/90 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 10/dez/89 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 03/jan/89 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 07/jan/90 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 06/jan/90 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | .1989 |
| *Eufriesea euriceps* | SP | Cajurí. Faz Sta Carlota | 11/jan/90 |
| *Eufriesea violacea* | SP | Ribeirão Preto campus USP | 11/set/91 |
| *Eufriesea violacea* | SP | Ribeirão Preto campus USP | 03/out/96 |
| *Eufriesea violacea* | SP | Serra do japi. Jundai | 05/nov/99 |
| *Eufriesea violacea* | SP | Serra do japi. Jundai | 05/nov/99 |
| *Eufriesea violacea* | SP | Serra do japi. Jundai | 05/nov/99 |
| *Eufriesea violacea* | SP | Serra do japi. Jundai | 05/nov/99 |
| *Eufriesea violacea* | SP | Serra do japi. Jundai | 05/nov/99 |
| *Eufriesea violacea* | SP | Serra do japi. Jundai | 05/nov/99 |
| *Euglossa chordata* | SP | Ribeirão Preto campus USP | 08/out/95 |
| *Euglossa chordata* | SP | Ribeirão Preto campus USP | 13/nov/96 |
| *Euglossa chordata* | SP | Ribeirão Preto campus USP | 10/abr/95 |
| *Euglossa chordata* | SP | Ribeirão Preto campus USP | dez/96 |
| *Euglossa chordata* | SP | Ribeirão Preto campus USP | 30/set/95 |
| *Euglossa chordata* | SP | Ribeirão Preto campus USP | 18/abr/91 |
| *Euglossa chordata* | SP | Ribeirão Preto campus USP | 06/jan/95 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Euglossa chordata* | SP | Ribeirão Preto campus USP | 28/mar/96 |
| *Eulaema nigrita* | MG | São Ramão | 20/fev/97 |
| *Eulaema nigrita* | SP | Jucupiranga | .1986 |
| *Eulaema nigrita* | AM | Manaus | out/69 |
| *Eulaema nigrita* | AM | Manaus | out/69 |
| *Eulaema nigrita* | SP | Ribeirão Preto | 19/ago/67 |
| *Eulaema nigrita* | SP | Ribeirão Preto | 19/ago/67 |
| *Eulaema nigrita* | ES | Viena | .1961 |
| *Eulaema nigrita* | ES | Sta Teresa | dez/64 |
| *Eulaema nigrita* | MG | Passos | .1961 |
| *Eulaema nigrita* | SP | São Carlos | 23/dez/71 |
| *Eulaema nigrita* | Col - Ris | Colombia. Pereira. Hda Labrador | 19/mai/83 |
| *Eulaema nigrita* | Col- cund | Colombia. Apulo | 18/mai/88 |
| *Eulaema nigrita* | Col Meta | Sierra la Macarena | 01/jul/87 |
| *Eulaema nigrita* | Col- cund | Mesitas. Cementerio | 19/out/84 |
| *Eulaema nigrita* | RN | Serra Negra do Norte. Est. Ecol. Do Serido | 16/jul/95 |
| *Eulaema nigrita* | Col-Meta | Puerto Gaitan | 24/jun/92 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Eulaema nigrita* | Col- Hui | La Plata | 23/mar/82 |
| *Eulaema nigrita* | Col- cund | Carmen de Apicala | 13/ago/80 |
| *Eulaema nigrita* | Col-Meta | Reserva Macarena | nov/85 |
| *Eulaema nigrita* | SP | Faz. Sta. Carlota | 31/jan/99 |
| *Frieseomelitta varia* | VEN-Bol | Venezuela, Esd. Bolivar El panji | 24/out/93 |
| *Frieseomelitta varia* | VEN-Bol | Venezuela, Esd. Bolivar El panji | 24/out/93 |
| *Frieseomelitta varia* | VEN-Bol | Venezuela, Esd. Bolivar El panji | 21/fev/88 |
| *Frieseomelitta varia* | VEN-Bol | Venezuela, Esd. Bolivar El panji | 22/fev/88 |
| *Frieseomelitta varia* | VEN-Bol | Venezuela, Esd. Bolivar El panji | 23/fev/88 |
| *Frieseomelitta varia* | MT | Cuiabá, Estrada manso | 28/fev/00 |
| *Frieseomelitta varia* | MT | Cuiabá, Estrada manso | 28/fev/00 |
| *Frieseomelitta varia* | MG | São jose do barreiro - São Roque de Minas | 06/jul/97 |
| *Frieseomelitta varia* | MG | São jose do barreiro - São Roque de Minas | 06/jul/97 |
| *Frieseomelitta varia* | MG | São jose do barreiro - São Roque de Minas | 06/jul/97 |
| *Frieseomelitta varia* | AM | Codajás | 9-11/jul/1993 |
| *Frieseomelitta varia* | AM | Codajás | 9-11/jul/1993 |
| *Frieseomelitta varia* | AM | Codajás | 9-11/jul/1993 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Frieseomelitta varia* | AM | Codajás | 9-11/jul/1993 |
| *Frieseomelitta varia* | AM | Codajás | 9-11/jul/1993 |
| *Frieseomelitta varia* | TO | Lizarda | 18/nov/94 |
| *Frieseomelitta varia* | TO | Lizarda | 18/nov/94 |
| *Frieseomelitta varia* | TO | Lizarda | 18/nov/94 |
| *Frieseomelitta varia* | TO | Lizarda | 18/nov/94 |
| *Frieseomelitta varia* | TO | Lizarda | 18/nov/94 |
| *Geotrigona mombuca* | MT | Serra da Araras | 19-27/nov/1987 |
| *Geotrigona mombuca* | MT | Serra da Araras | 19-27/nov/1987 |
| *Geotrigona mombuca* | MT | Serra da Araras | 19-27/nov/1987 |
| *Geotrigona mombuca* | MT | Serra da Araras | 19-27/nov/1987 |
| *Geotrigona mombuca* | MT | Serra da Araras | 19-27/nov/1987 |
| *Geotrigona mombuca* | MT | Serra da Araras | 19-27/nov/1987 |
| *Geotrigona mombuca* | MG | Uberlandia | set/91 |
| *Geotrigona mombuca* | MG | Uberlandia | set/91 |
| *Geotrigona mombuca* | MG | Uberlandia | set/91 |
| *Geotrigona mombuca* | MG | Uberlandia | set/91 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Geotrigona mombuca* | MG | Uberlandia | set/91 |
| *Geotrigona mombuca* | MG | Niquelândia | out/95 |
| *Geotrigona mombuca* | MG | Passos | 13-23/Nov/1993 |
| *Geotrigona mombuca* | TO | Ponte alta do bom Jesus, 650m | 09/jul/95 |
| *Geotrigona mombuca* | TO | Ponte alta do bom Jesus, 650m | 09/jul/95 |
| *Geotrigona mombuca* | TO | Ponte alta do bom Jesus, 650m | 09/jul/95 |
| *Geotrigona mombuca* | TO | Dianópolis, 712m | 8-9jul1995 |
| *Geotrigona mombuca* | TO | Aurora de Tocantins | 08/jul/95 |
| *Geotrigona mombuca* | BA | Serra Geral, 110Km N de Dianopolis | 10/jul/95 |
| *Geotrigona mombuca* | PI | Monte Alegre de Piaui | 17/nov/94 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Três Lagoas | jun/65 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Nova Xavantina | 26/jul/95 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Nova Mutum, Faz. Buriti | 07/dez/97 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Nova Mutum, Faz. Buriti | 07/dez/97 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Nova Mutum, Faz. Buriti | 07/dez/97 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Nova Mutum, Faz. Buriti | 07/dez/97 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Nova Mutum, Faz. Buriti | 07/dez/97 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Barra de Garças | 21/jan/71 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Barra de Garças | 21/jan/71 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Serra da Araras | 19-27/set/1987 |
| *Leurotrigona muelleri* | MT | Serra da Araras | 19-27/set/1987 |
| *Leurotrigona muelleri* | MG | Mandaçaia | 18/jul/90 |
| *Leurotrigona muelleri* | MG | Mandaçaia | 18/jul/90 |
| *Leurotrigona muelleri* | MG | Mandaçaia | 18/jul/90 |
| *Leurotrigona muelleri* | MG | Pe. De Ma da Cruz | 22/jul/88 |
| *Leurotrigona muelleri* | MG | Pe. De Ma da Cruz | 22/jul/88 |
| *Leurotrigona muelleri* | MG | Pe. De Ma da Cruz | 22/jul/88 |
| *Leurotrigona muelleri* | MG | Pe. De Ma da Cruz | 22/jul/88 |
| *Leurotrigona muelleri* | MG | Turamalina | 23/jul/90 |
| *Leurotrigona muelleri* | MG | Posses | 17/jul/94 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | MG | pocinhos do rio verde | 26/jan/80 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | MG | pocinhos do rio verde | 26/jan/80 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | ES | São Jose de Petropolis | out/98 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | ES | São Jose de Petropolis | out/98 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | ES | Pedregulho cerrado | 23/abr/94 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | SP | Pedregulho cerrado | 23/abr/94 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | SP | Cajurú | 20/out/80 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | SP | Cassia dos Coqueiros | 16/abr/86 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | MG | Ouro Preto. Pico Itacolomí | jun/92 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | GO | Silvania | 18/abr/94 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | GO | Silvania | 18/abr/94 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | GO | Silvania | 18/abr/94 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | GO | Silvania | 18/abr/94 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | SP | Ribeirão Preto | 01/out/76 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | SP | Ribeirão Preto | 14/jul/86 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | SP | Ribeirão Preto | 14/jul/86 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | SP | Campos de jordão | 21/dez/86 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | SP | Campos de jordão | 21/dez/86 |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | SP | Martinopolis | |
| *Melipona quadrifasciata anthidioides* | MG | Mandaçaia | 18/jul/90 |
| *Meliponula bocandei* | Cameroon | Cameroon. Mabua Western province 850m | 10/ago/08 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Meliponula bocandei* | | Angola. Auicalunga | 18/jul/57 |
| *Meliponula bocandei* | | Africa. Mozambique. Lourenzo Marque | 28/out/56 |
| *Meliponula bocandei* | | Kenya. Kakamega. Malava | 11/fev/04 |
| *Meliponula bocandei* | | Kenya. Kakamega. Kaimosi | 17/fev/04 |
| *Meliponula bocandei* | | Angola. Dande | 19/dez/57 |
| *Meliponula bocandei* | | Belgian Congo. Irangi Kivu | out/56 |
| *Meliponula bocandei* | | Uganda Bwindi Forest National park | ago/84 |
| *Meliponula bocandei* | | Uganda Bwindi Forest National park | ago/84 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | GO | Silvania | 18/abr/94 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | GO | Silvania | 18/abr/94 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | GO | Silvania | 18/abr/94 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | GO | Silvania | 18/abr/94 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | MG | Conceição das Alagoas | 20/set/73 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | MG | Conceição das Alagoas | 20/set/73 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | MG | Conceição das Alagoas | 25/mar/73 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | MG | Juiz de Fora | .1977 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | MG | Juiz de Fora | .1977 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Nannotrigona testaceicornis* | MG | Juiz de Fora | .1977 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | MG | Juiz de Fora | .1977 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | MG | Juiz de Fora | .1977 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | SP | Santa Rosa de Viterbo | 17/abr/66 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | SP | Santa Rosa de Viterbo | 17/abr/66 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | SP | Santa Rosa de Viterbo | 17/abr/66 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | SP | Rbeirão Preto | 09/nov/94 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | SP | Rbeirão Preto | 09/nov/94 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | SP | Rbeirão Preto | 09/nov/94 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | SP | Cajurú | 28/ago/86 |
| *Nannotrigona testaceicornis* | SP | Cajurú | 28/ago/86 |
| *Oxytrigona tataira* | SP | Ribeirão Preto | 22/ago/78 |
| *Oxytrigona tataira* | SP | Ribeirão Preto | 22/ago/78 |
| *Oxytrigona tataira* | SP | Ribeirão Preto | 22/ago/78 |
| *Oxytrigona tataira* | SP | Cajurú | abr/89 |
| *Oxytrigona tataira* | SP | Cajurú | abr/89 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | C das Lagoas | 05/fev/73 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Oxytrigona tataira* | MG | C das Lagoas | 05/fev/73 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | C das Lagoas | 05/fev/73 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | C das Lagoas | 05/fev/73 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | C das Lagoas | 05/fev/73 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Conego Marinho | 20/ago/90 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Conego Marinho | 20/ago/90 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Conego Marinho | 20/ago/90 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Conego Marinho | 20/ago/90 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Conego Marinho | 20/ago/90 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Mandaçaia | 18/ago/90 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Mandaçaia | 18/ago/90 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Mandaçaia | 18/ago/90 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Mandaçaia | 18/ago/90 |
| *Oxytrigona tataira* | MG | Mandaçaia | 18/ago/90 |
| *Paratrigona lineata* | BA | Serra Geral, 110Km N de Dianopolis | 10/jul/95 |
| *Paratrigona lineata* | BA | Serra Geral, 110Km N de Dianopolis | 10/jul/95 |
| *Paratrigona lineata* | TO | Mateiros | 10-12/jul/1995 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Paratrigona lineata* | TO | Mateiros | 10-12/jul/1995 |
| *Paratrigona lineata* | TO | Mateiros | 10-12/jul/1995 |
| *Paratrigona lineata* | TO | Mateiros | 10-12/jul/1995 |
| *Paratrigona lineata* | TO | Taguaruçú | 24/jul/94 |
| *Paratrigona lineata* | TO | Taguaruçú | 24/jul/94 |
| *Paratrigona lineata* | SP | Cassia dos Coqueiros | 08/mar/97 |
| *Paratrigona lineata* | SP | Cassia dos Coqueiros | 08/mar/97 |
| *Paratrigona lineata* | SP | Cassia dos Coqueiros | 08/mar/97 |
| *Paratrigona lineata* | SP | Cassia dos Coqueiros | 08/mar/97 |
| *Paratrigona lineata* | GO | Monte Alegre de Goias | 07/jul/95 |
| *Paratrigona lineata* | GO | Monte Alegre de Goias | 07/jul/95 |
| *Paratrigona lineata* | GO | Monte Alegre de Goias | 07/jul/95 |
| *Paratrigona lineata* | GO | Monte Alegre de Goias | 07/jul/95 |
| *Paratrigona lineata* | GO | Monte Alegre de Goias | 07/jul/95 |
| *Paratrigona lineata* | PA | Gorotire | 20/ago-8/nov/1983 |
| *Paratrigona lineata* | PA | Gorotire | 20/ago-8/nov/1983 |
| *Paratrigona lineata* | PA | Gorotire | 20/ago-8/nov/1983 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Plebeia droryana* | MG | Po. De Rio Verde | 28/mai/65 |
| *Plebeia droryana* | MG | Po. De Rio Verde | 28/mai/65 |
| *Plebeia droryana* | MG | Po. De Rio Verde | 28/mai/65 |
| *Plebeia droryana* | MG | Po. De Rio Verde | 28/mai/65 |
| *Plebeia droryana* | MG | Po. De Rio Verde | 28/mai/65 |
| *Plebeia droryana* | SP | São Sebastião | 12-13/nov/65 |
| *Plebeia droryana* | SP | São Sebastião | 12-13/nov/65 |
| *Plebeia droryana* | SP | Serrana | 14/nov/74 |
| *Plebeia droryana* | SP | Serrana | 14/nov/74 |
| *Plebeia droryana* | SP | Serrana | 14/nov/74 |
| *Plebeia droryana* | SP | Faz. Sta Carlota. Cajurú | 06/out/88 |
| *Plebeia droryana* | SP | Faz. Sta Carlota. Cajurú | 06/out/88 |
| *Plebeia droryana* | SP | Faz. Sta Carlota. Cajurú | 06/out/88 |
| *Plebeia droryana* | SP | Cunha | 11/mai/93 |
| *Plebeia droryana* | SP | Cunha | 11/mai/93 |
| *Plebeia droryana* | SP | Cunha | 11/mai/93 |
| *Plebeia droryana* | SP | Ribeirão Preto | 08/jul/86 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Plebeia droryana* | SP | Ribeirão Preto | 08/jul/86 |
| *Plebeia droryana* | SP | Ribeirão Preto | 08/jul/86 |
| *Plebeia droryana* | SP | Ribeirão Preto | 08/jul/86 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | PA | Porto Cabral | 1-25/abr/1944 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | PA | Porto Cabral | 1-25/abr/1944 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | PA | Porto Cabral | 1-25/abr/1944 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | PA | Colombo | 08/ago/55 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | RJ | Bala de Guanabara | abr/60 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Posses | 17/jul/94 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Posses | 17/jul/94 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Posses | 17/jul/94 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Posses | 17/jul/94 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Posses | 17/jul/94 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Januária | 17/fev/97 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Januária | 17/fev/97 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Januária | 17/fev/97 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Januária | 17/fev/97 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Januária | 17/fev/97 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Santa fe de Minas | 21/dez/98 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Santa fe de Minas | 21/dez/98 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Santa fe de Minas | 21/dez/98 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Santa fe de Minas | 21/dez/98 |
| *Scaptotrigona bipunctata* | MG | Santa fe de Minas | 21/dez/98 |
| *Trigona intermedia* | MG | P de Ma da Cruz | 22/jul/88 |
| *Trigona intermedia* | MG | Londra | 19/mar/88 |
| *Trigona intermedia* | MG | Londra | 19/mar/88 |
| *Trigona intermedia* | MG | Londra | 19/mar/88 |
| *Trigona intermedia* | MG | Conego Marinho | 13-15/mar/1988 |
| *Trigona intermedia* | MG | Turmalina | 19-20/jul/1988 |
| *Trigona intermedia* | MG | Mandaçaia | 22-23/jul/1989 |
| *Trigona intermedia* | MG | P. de Ma da cruz | 22/jul/88 |
| *Trigona intermedia* | MG | P. de Ma da cruz | 22/jul/88 |
| *Trigona intermedia* | MG | Londra | 23/jul/88 |
| *Trigona intermedia* | MG | Londra | 23/jul/88 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Trigona intermedia* | MG | Londra | 23/jul/88 |
| *Trigona intermedia* | MT | Barra de Garças | 21/jan/71 |
| *Trigona intermedia* | MT | Barra de Garças | 21/jan/71 |
| *Trigona intermedia* | MT | Barra de Garças | 21/jan/71 |
| *Trigona intermedia* | MT | Barra de Garças | 21/jan/71 |
| *Trigona intermedia* | MG | Paraopeba | 05/nov/86 |
| *Trigona spinipes* | SP | Faz. Baguaçu. Pedregulho | 26-27/ jan/2005 |
| *Trigona spinipes* | SP | Faz. Baguaçu. Pedregulho | 13/nov/05 |
| *Trigona spinipes* | SP | Faz. Baguaçu. Pedregulho | 13/nov/05 |
| *Trigona spinipes* | SP | Faz. Baguaçu. Pedregulho | 13/nov/05 |
| *Trigona spinipes* | SP | Faz. Baguaçu. Pedregulho | 13/nov/05 |
| *Trigona spinipes* | SP | Cajuru | 24/jul/05 |
| *Trigona spinipes* | SP | Cajuru | 24/jul/05 |
| *Trigona spinipes* | SP | Cajuru | 24/jul/05 |
| *Trigona spinipes* | MG | Faz. Boa Esperança. Bonfinopolis | 10/mar/06 |
| *Trigona spinipes* | MG | Faz. Boa Esperança. Bonfinopolis | 10/mar/06 |
| *Trigona spinipes* | MG | Faz. Boa Esperança. Bonfinopolis | 10/mar/06 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Trigona spinipes* | BA | Salvador | 20/mar/00 |
| *Trigona spinipes* | BA | Salvador | 20/mar/00 |
| *Trigona spinipes* | BA | Salvador | 20/mar/00 |
| *Trigona spinipes* | BA | Salvador | 20/mar/00 |
| *Trigona spinipes* | BA | Salvador | 20/mar/00 |
| *Trigona spinipes* | MG | Uberlandia | .2005 |
| *Trigona spinipes* | MG | Uberlandia | .2005 |
| *Trigona spinipes* | MG | Faz. Boa Esperança. Bonfinopolis | 10/mar/06 |
| *Trigona spinipes* | MG | Faz. Boa Esperança. Bonfinopolis | 11/mar/06 |

## 6.4 ANEXO 4: Matriz de caracteres morfológicos e comportamentais para 26 espécies no formato TNT

```
xread
180 26
Centris_tarsata     100110100000000000000000000000000100000001000101110001010000100010101022000001000000110010001011011000001?000100000000000000000000000000000000000000000?0?000000000?0000000?0?00
Ephicharis_rustica  100110100000000000000000000000001100010011001012101000100011211022100???000010000001101102111010110000100000000000000000000000000000000000000000?0?000000000?0000000?0?00
Apis_dorsata        0110111202100111111111111102000000000011010000?10202001100001??111010111110100111111000001001011011011001011021?110121101101111202100003110110020332121001122221022123222100011201 20
Apis_mellifera      0110111202200111111111111102000000000011010000?10202001100001??111010111110100111111000001001011101101001011021?11012110110111120210000311011202033212100112222102212322210001120120
Bombus_atratus      10111011100011000000000111111000000001001000001101110011001101101110101000010110200010012011000011000111121101101000010000100001100001102110111011231010110?1111111111211100010010010
Bombus_morio        10111011100011000000000111111000000001001000001101110011001101101110101000010110200010012011000011000111121101101000010000100001100001102110111011231010110?0211111111211100010010010
Bombus_nevadensis           1011101110001100000000011111100000000100100000110111001100110110111010100001011020001001201100001100011112110110100000000010000110000110211011101123101001 0???1111111121110001 0010010
Bombus_robustus     10111011100011000000000111111000000001001000001101110011001101101110101000010110200010012011000011000111121101101000010000100001100001102110111011231010110?1111111111211100010010010
Bombus_rubicundos           1011101110001100000000011111100000000100100000110111001100110110111010100001011020001001201100001100011112110110100001000010000110000110211011101123101011 0?0211111111211100010010010
Bombus_terrestris   10111011100011000000000111111000000001001000001101110011001101101110101000010110200010012011000011000111121101101000010000100001100001102110111011231010110?1111101111211100010010010
Eufriesea_euriceps  1002101020001100000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000001000010000101011001001001100000110000000?00000000100000??000?0?00
Eufriesea_violacea  1002101020001100000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000001000010000101011001001001100000110000000?00000000100000??000?0?00
Euglossa_chordata   1002101020001100000000000000000000111110010111001011111011011111111101000010000100101112011000101010111120000000001000010000101011001001101111000121020000?1010000010100001100000000
Eulaema_nigrita     100210102000110000000000000000000011111 0?1011100101111101101111111?101000010000100101112011000101010111120000000001000010000101011001001001111000111020000?0000000010100001100000000
Frieseomelitta_varia 01100102033100111111111111021111000001101000010212001110110 0??1111001020111011 0?11100101000 1?1?101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???0112120231011001122200021113222011 1110121
Geotrigona_mombuca          0110010203310011111111111102000000000110100001021200111011 00??1111001020111011011111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???01121212320110011232000211132220111111121
Leurotrigona_muelleri       011001023310011111111111110201110000001101000010212001110110 0??1111001020111011 0?11100101000 1?1?101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???01111202310110011222000211132220111110121
Melipona_quadrifasciata     0110010203310011111111111102000000000110100001021200111011 00??1111001020111011011111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???01121212320110010232000211132220111111121
Meliponula_bocandei         0110010203310011111111111102000000000110100001021200111011 00??1111001020111011011111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???01121212320110011232000211132220111111121
Nannotrigona_testaceicornis 01100102033100111111111111020111000001101000010212001110110 0??1111001020111011 0?11100101000 1?1?101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???01111212320110011232000211132220111111121
Oxytrigona_tataira  0110010203310011111111111102000000000110100001021200111011 00??1111001020111011011111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???01121212320110011232000211132220111111121
Paratrigona_lineata 0110010203310011111111111102000000000110100001021200111011 00??1111001020111011011111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???01121212320110011232000211132220111111121
Plebeia_droryana    01100102033100111111111111020111000001101000010212001110110 0??1111001020111011 0?11100101000 1?1?101000101012 002?11013100 1?121?100??1??1???01111202310110011232000211132220111111121
Scaptotrigona_bipunctata    0110010203310011111111111102000000000110100001021200111011 00??1111001020111011011111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???01121212320110011232000211132220111111121
Trigona_intermedia  01100102033100111111111111021111000001101000010212001110110 0??1111001020111011001110010100010101010001010122?2?11013100 1?121?100??1??1???01121212320110011232000211132220111111121
Trigona_spinipes    01100102033100111111111111021111000001101000010212001110110 0??1111001020111011001110010100010101010001010122?2?11013100 1?121?100??1??1???01121212320110011232000211132220111111121
;


proc /;
comments 0
;
```

## 6.5 ANEXO 5: Matriz de caracteres morfológicos e comportamentais para 28 espécies no formato TNT

```
xread
180 28
Xylocopa_virginica 100110100000000000000000000000000100000110011000111000000100000001010111110010100101101001110001100100010000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000
Exoneura_bicolor 000000000000000000000000000??00000????????????????????????????????????????????????????????????????0000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000
Centris_tarsata 100110100000000000000000000000000100000001000101110001010000100010101022000001000000110010001011011000001?00010000000000000000000000000000000000000000000?0?000000000?0000000?0?00
Ephicharis_rustica 10011010000000000000000000000000011000100110010121010001000112110221007??00001000000110110211101011000010000000000000000000000000000000000000000000000?0?000000000?0000000?0?00
Apis_dorsata 0110111202100111111111111110200000000011010007?1020200110000001??1110101111101001111110000010010110110110010110217110121101101111202100003110110020332121001122221022123222100011201 20
Apis_mellifera 011011120220011111111111111020000000001101000?1020200110000001??111010111110100111111000001001011101101001011021?11012110110111120210000311011202033212100112222102212322210001120120
Bombus_atratus 10111011100011000000000111111000000001001000001101110011001101101110101000010110200010012011000011000111121101101000010000100001100001102110111011231010110?111111111121110001001001 0
Bombus_morio 1011101110001100000000011111100000000100100000110111001100110110111010100001011020001001201100001100011112110110100001000010000110000110211011101123101011 0?021111111121110001001001 0
Bombus_nevadensis 1011101110001100000000011111100000000100100000110111001100110110111010100001011020001001201100001100011112110110100000000010000110000110211011101123101001 0???1111111121110001001001 0
Bombus_robustus 101110111000110000000001111110000000010010000011011100110011011011101010000101102000100120110000110001111211011010000100001000011000011021101110112310101 10?111111111121110001001001 0
Bombus_rubicundos 101110111000110000000001111110000000010010000011011100110011011011101010000101102000100120110000110001111211011010000100001000011000011021101110112310101 10?0211111111211100010010010
Bombus_terrestris 101110111000110000000001111110000000010010000011011100110011011011101010000101102000100120110000110001111211011010000100001000011000011021101110112310101 10?111110111121110001001001 0
Eufriesea_euriceps 10021010200011000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000010000100001010110010010011000001100000000?000000001000000??000?0?00
Eufriesea_violacea 10021010200011000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000000010000100001010110010010011000001100000000?000000001000000??000?0?00
Euglossa_chordata 100210102000110000000000000000000011111001011100101111110110111111111010000100001001011120110001010101111200000000010000100001010110010011011110001210200000?1010000001010000110000000 0
Eulaema_nigrita 1002101020001100000000000000000000111110?1011100101111110110111111?10100001000010010111201100010101011112000000000100001000010101100100100111100011102000 0?00000000101000011000000000
Frieseomelitta_varia 0110010203310011111111111111021111000001101000010212001110110 0??1111001020111011 0?11100101000 1?1?101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???011212023101100112220002111322201111110121
Geotrigona_mombuca 01100102033100111111111111110200000000011010000102120011101100??111100102011101101111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???011212123201100112320002111322201111111121
Leurotrigona_muelleri 0110010233100111111111111110201110000001101000010212001110110 0??1111001020111011 0?11100101000 1?1?101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???011112023101100112220002111322201111110121
Melipona_quadrifasciata 01100102033100111111111111110200000000011010000102120011101100??1111001020111011011110010100011111010001010122?2?11013100 1?121?100??1??1???011212123201100102320002111322201111111121
Meliponula_bocandei 01100102033100111111111111110200000000011010000102120011101100??1111001020111011011110010100011111010001010122?2?11013100 1?121?100??1??1???011212123201100112320002111322201111111121
Nannotrigona_testaceicornis 011001020331001111111111111102011100000110100001021200111011 00??11110010201110110?11100101000 1?1?10100010101 22?2?11013100 1?121?100??1??1???011112123201100112320002111322201111111121
Oxytrigona_tataira 01100102033100111111111111110200000000011010000102120011101100??111100102011101101111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???011212123201100112320002111322201111111121
Paratrigona_lineata 01100102033100111111111111110200000000011010000102120011101100??111100102011101101111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???011212123201100112320002111322201111111121
Plebeia_droryana 0110010203310011111111111111020111000001101000010212001110110 0??1111001020111011 0?11100101000 1?1?101000101012002?11013100 1?121?100??1??1???011112023101100112320002111322201111111121
Scaptotrigona_bipunctata 01100102033100111111111111110200000000011010000102120011101100??111100102011101101111001010001111101000101012 2?2?11013100 1?121?100??1??1???011212123201100112320002111322201111111121
Trigona_intermedia 011001020331001111111111111102111100000110100001021200111011 00??11110010201110110011100101000101010100010101 22?2?11013100 1?121?100??1??1???011212123201100112320002111322201111111121
Trigona_spinipes 011001020331001111111111111102111100000110100001021200111011 00??11110010201110110011100101000101010100010101 22?2?11013100 1?121?100??1??1???011212123201100112320002111322201111111121
;


proc /;
comments 0
;
```

## 6.6 ANEXO 6: Matrizes de caracteres da morfometria tradicional

### 6.6.1 Matriz de dados em milímetros no formato TNT

```
nstates cont;
xread
'MEDIDAS MM 26SP 14\11\2012'
11 26
&[cont]
Centris_tarsata 4.471 3.270 3.286 4.631 3.554 2.456 2.160 0.938 2.219 9.436 3.077
Ephicharis_rustica_flava 5.829 4.637 5.117 7.381 6.010 4.463 3.573 1.288 2.953 17.123 5.745
Apis_dorsata 4.195 3.965 2.977 5.298 4.475 4.245 2.813 1.319 2.225 12.504 4.113
Apis_mellifera 3.549 3.157 5.783 4.117 3.253 2.969 2.132 1.003 1.766 8.452 2.813
Bombus_atratus 4.043 3.907 4.179 5.446 4.224 4.508 3.418 1.274 2.591 12.652 4.467
Bombus_morio 5.129 5.421 5.635 8.247 6.034 6.071 4.713 1.741 3.553 17.852 6.482
Bombus_nevadensis 5.045 4.853 5.649 6.663 6.581 5.786 4.360 1.828 3.457 16.782 6.142
Bombus_robustus 2.317 1.985 2.436 4.375 3.908 3.331 2.560 0.279 0.592 12.344 4.139
Bombus_rubicundos 2.235 1.915 2.715 4.236 3.635 3.366 2.406 0.292 0.634 12.130 4.092
Bombus_terrestris 5.059 4.771 5.882 8.309 7.075 5.511 3.167 1.788 3.060 15.219 5.265
Eufriesea_euriceps 6.319 5.167 5.399 6.992 6.685 5.781 3.664 2.655 2.970 14.269 4.726
Eufriesea_violacea 5.470 4.493 4.596 5.707 5.069 4.483 2.879 1.987 2.568 11.003 11.003
Euglossa_chordata 4.339 3.630 3.270 4.267 3.486 2.946 2.086 1.704 1.712 7.619 2.437
Eulaema_nigrita 6.424 5.528 5.921 7.951 7.223 6.718 3.954 2.428 2.768 16.692 5.505
Frieseomelitta_varia 2.271 1.766 1.709 2.148 1.902 3.092 1.902 1.096 1.082 6.207 2.040
Geotrigona_mombuca 2.384 1.993 1.534 2.120 1.886 2.162 1.385 0.863 1.141 5.339 1.876
Leurotrigona_muelleri 1.118 0.915 0.812 1.088 0.781 0.878 0.591 0.323 0.498 2.376 0.930
Melipona_quadrifasciata 3.862 2.994 3.072 4.241 3.188 2.912 2.155 1.073 1.937 7.593 2.739
Meliponula_bocandei 3.268 2.707 2.526 3.245 2.808 2.627 1.753 1.125 1.606 6.709 2.532
Nannotrigona_testaceicornis 1.834 1.601 1.368 1.729 1.616 1.306 0.871 0.516 0.798 4.166 1.518
Oxytrigona_tataira 2.325 1.812 1.486 1.864 1.764 1.776 1.256 0.632 1.047 4.849 1.727
Paratrigona_lineata 1.628 1.568 1.316 1.800 1.488 1.293 0.856 0.485 0.760 3.455 1.264
Plebeia_droryana 1.621 1.347 1.153 1.597 1.320 1.260 0.859 0.477 0.728 3.589 1.377
Scaptotrigona_bipunctata 2.724 2.186 1.880 2.402 2.043 1.898 1.375 0.826 1.219 5.849 2.102
Trigona_intermedia 1.105 1.003 0.936 1.091 0.902 0.933 0.650 0.313 0.504 2.193 0.870
Trigona_spinipes 2.706 2.233 2.106 2.520 2.418 2.615 1.703 0.898 1.343 6.665 2.342
;
cn {0 largura_cabeça;
{1 comprimento_cabeça;
{2 comprimento_mesosoma;
{3 largura_mesosoma;
{4 altura_mesosoma;
{5 tibia_posterior;
{6 comprimento_femur_posterior;
{7 largura_maxima_corbicula;
{8 tibia_anterior;
{9 largura_maxima_asa;
{10 comprimento_maximo_asa;
```

### 6.6.2 Matriz de dados corrigidos usando razões proporcionais no formato TNT

```
nstates cont;
xread
'Matriz rações 24sp 14\11\2012'
6 26
&[cont]
Centris_tarsata 0.731 1.005 0.767 2.619 1.028 3.067
Ephicharis_rustica_flava 0.796 1.104 0.814 3.464 0.826 2.980
Apis_dorsata 0.945 0.751 0.845 3.218 0.791 3.040
Apis_mellifera 0.890 1.832 0.790 2.958 0.829 3.004
Bombus_atratus 0.966 1.069 0.776 3.539 0.758 2.832
Bombus_morio 1.057 1.039 0.732 3.488 0.754 2.754
Bombus_nevadensis 0.962 1.164 0.988 3.165 0.793 2.732
Bombus_robustus 0.857 1.227 0.893 11.925 0.231 2.982
Bombus_rubicundos 0.857 1.418 0.858 11.545 0.263 2.964
Bombus_terrestris 0.943 1.233 0.851 3.082 0.966 2.891
Eufriesea_euriceps 0.818 1.045 0.956 2.177 0.810 3.019
Eufriesea_violacea 0.821 1.023 0.888 2.256 0.892 1.000
Euglossa_chordata 0.836 0.901 0.817 1.728 0.820 3.127
Eulaema_nigrita 0.860 1.071 0.908 2.768 0.700 3.032
Frieseomelitta_varia 0.778 0.967 0.885 2.820 0.569 3.042
Geotrigona_mombuca 0.836 0.770 0.889 2.505 0.824 2.846
Leurotrigona_muelleri 0.818 0.888 0.718 2.719 0.843 2.556
Melipona_quadrifasciata 0.775 1.026 0.752 2.714 0.899 2.772
Meliponula_bocandei 0.828 0.933 0.865 2.335 0.916 2.650
Nannotrigona_testaceicornis 0.873 0.855 0.934 2.529 0.916 2.745
Oxytrigona_tataira 0.779 0.820 0.947 2.811 0.833 2.807
Paratrigona_lineata 0.963 0.839 0.827 2.663 0.888 2.734
Plebeia_droryana 0.831 0.856 0.826 2.639 0.847 2.606
Scaptotrigona_bipunctata 0.802 0.860 0.850 2.297 0.887 2.783
Trigona_intermedia 0.908 0.933 0.827 2.981 0.776 2.522
Trigona_spinipes 0.825 0.943 0.960 2.912 0.788 2.845
;
cn {0 Comprimento_Cabeça/Largura_Cabeça;
{1 Comprimento_mesosoma/Comprimento_Cabeça;
{2 Altura_Mesosoma/Largura_Mesosoma;
{3 Tibia_Posterior/Largura_Max_Corbicula;
{4 Tibia_Anetrios/Femur_Posterior;
{5 Largura_Max_Asa/Comprimento_Max_Asa;
```

### 6.6.3 Matriz de dados corrigidos usando o método de residuais no formato TNT

```
nstates cont;
xread
'MATRIZ RESIDUAIS F1PCAVSCADAVARIAVEL 26 sp 14\11\2012'
11 26
Centris_tarsata 10.892 10.175 10.030 10.320 9.877 9.099 9.831 9.791 10.419 9.880 9.481
Ephicharis_rustica_flava 10.520 9.937 9.984 10.524 10.127 9.253 9.982 9.495 10.115 12.345 10.036
Apis_dorsata 10.002 10.299 9.054 10.082 10.014 10.229 10.036 9.942 10.057 11.093 9.766
Apis_mellifera 9.972 10.064 12.529 9.810 9.580 9.614 9.805 9.858 9.968 8.904 9.220
Bombus_atratus 9.605 10.015 9.991 9.871 9.452 10.231 10.463 9.806 10.276 10.504 9.822
Bombus_morio 9.157 10.105 9.783 10.415 9.305 10.151 10.639 9.699 10.317 11.072 9.963
Bombus_nevadensis 9.323 9.769 10.067 9.198 10.170 10.133 10.467 9.880 10.372 10.756 9.928
Bombus_robustus 9.244 9.359 9.727 10.809 10.876 10.515 10.600 9.322 9.095 14.315 11.161
Bombus_rubicundos 9.200 9.325 10.049 10.726 10.653 10.592 10.475 9.348 9.160 14.218 11.161
Bombus_terrestris 9.523 9.859 10.502 11.117 10.901 10.058 9.410 9.910 10.086 9.754 9.278
Eufriesea_euriceps 10.584 10.071 9.804 9.509 10.259 10.115 9.763 10.703 9.876 8.205 8.497
Eufriesea_violacea 10.318 9.938 9.633 9.081 9.386 9.441 9.402 10.252 9.824 6.697 15.485
Euglossa_chordata 10.739 10.515 9.990 9.925 9.782 9.565 9.742 10.549 9.899 7.999 8.815
Eulaema_nigrita 10.332 10.100 9.938 9.941 10.340 10.669 9.791 10.341 9.460 9.548 8.838
Frieseomelitta_varia 9.755 9.658 9.605 9.401 9.580 10.872 10.349 10.347 9.920 9.860 9.742
Geotrigona_mombuca 10.077 10.078 9.656 9.680 9.831 10.166 9.984 10.192 10.104 9.622 9.833
Leurotrigona_muelleri 9.830 9.945 10.040 10.148 10.026 9.973 9.934 10.032 10.072 9.736 10.132
Melipona_quadrifasciata 10.491 10.091 10.041 10.235 9.775 9.777 9.978 10.004 10.262 8.663 9.396
Meliponula_bocandei 10.279 10.159 9.909 9.803 9.884 9.902 9.855 10.199 10.160 8.935 9.657
Nannotrigona_testaceicornis 10.004 10.128 10.009 9.992 10.169 9.821 9.819 10.023 10.048 9.891 10.058
Oxytrigona_tataira 10.210 10.075 9.817 9.707 9.955 9.986 9.996 10.032 10.125 9.713 9.920
Paratrigona_lineata 9.881 10.173 10.047 10.186 10.149 9.898 9.865 10.024 10.060 9.432 9.906
Plebeia_droryana 9.937 10.010 9.953 10.075 10.061 9.932 9.914 10.039 10.065 9.756 10.097
Scaptotrigona_bipunctata 10.297 10.159 9.872 9.786 9.835 9.774 9.887 10.110 10.110 9.771 9.913
Trigona_intermedia 9.786 10.005 10.131 10.105 10.108 9.996 9.971 10.011 10.060 9.461 10.035
Trigona_spinipes 10.041 9.986 9.841 9.553 9.907 10.236 10.041 10.093 10.091 9.869 9.863
;
cn {0 Res_largura_cabeça;
{1 Res_comprimento_cabeça;
{2 Res_comprimento_mesosoma;
{3 Res_largura_mesosoma;
{4 Res_altura_mesosoma;
{5 Res_tibia_posterior;
{6 Res_comprimento_femur_posterior;
{7 Res_largura_maxima_corbicula;
{8 Res_tibia_anterior;
{9 Res_largura_maxima_asa;
{10 Res_comprimento_maximo_asa;
```