

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

Ecologia e análises morfométricas de abelhas Euglossini (Hymenoptera, Apidae) provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio - SP e Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí - SP.

“Versão corrigida”

Clycie Aparecida da Silva Machado

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências, obtido no Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

Ribeirão Preto - SP

2020



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

Ecologia e análises morfométricas de abelhas Euglossini (Hymenoptera, Apidae) provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio-SP e Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí-SP.

Clycie Aparecida da Silva Machado

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências, obtido no Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

Orientador: Prof. Dr. Tiago Mauricio Franco

Ribeirão Preto - SP

2020

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.

FICHA CATALOGRÁFICA

Machado, Clycie Aparecida da Silva

Ecologia e análises morfométricas de abelhas Euglossini (Hymenoptera, Apidae) provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio-SP e Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí-SP. Ribeirão Preto, 2020.

164 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Entomologia.

Orientador: Francoy, Tiago Mauricio

1. Assimetria flutuante. 2. *Euglossa pleosticta* e *Eulaema nigrita*. 3. Modularidade. 4. Morfometria geométrica. 5. Tribo Euglossini.

Apoio financeiro:

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Programa de Pós-graduação em Entomologia FFCLRP-USP e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processos: 2011/07857-9.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CLYCIE APARECIDA DA SILVA MACHADO

Título do trabalho: “Ecologia e análises morfométricas de abelhas Euglossini (Hymenoptera, Apidae) provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio-SP e Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí-SP.”

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

Área de Concentração: Entomologia

Aprovado em/...../.....

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a).: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Ribeirão Preto, ____ de _____ de 2020.

Aos que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos:

Ao amor da minha vida, meu esposo, meu amigo, meu companheiro, Paulo Vitor...

Com você sempre encontrei um apoio para prosseguir em frente;

Ao meu sorriso de todos os dias, ao meu filho amado, Arthur...

Com você descobri um amor inigualável, um amor infinito, a quem daria minha vida;

Aos meus queridos e tão amados pais, Maria do Carmo e Adalton...

Com vocês sendo meus grandes exemplos de vida me tornei quem eu sou;

Dedico.

Agradecimentos

À Deus por ter me concedido a vida;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Tiago Mauricio Franco, muito obrigada pela oportunidade, por todo apoio concedido ao longo desses anos, ensinamentos, confiança em meu trabalho, orientação, paciência, amizade. MUITÍSSIMO obrigada por tudo! Serei sempre muito grata!!!

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo FAPESP: 2011/07857-9.) pelo auxílio financeiro concedido para realização das coletas de campo;

Aos meus companheiros de coleta de campo: meu esposo Paulo Vitor, minha irmã Clyciane e meu cunhado Henrique, sem vocês seria impossível viajar os aproximadamente 20.000 km ao longo de um ano para realizar as amostragens das abelhas. Muito Obrigada!!!

À administração de 2014/2015 do Parque Ecológico PEMD, por disponibilizar as estadias nas casas de apoio ao pesquisador e aos guardas do parque por sempre se preocuparem com nossa segurança;

Ao prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo pelos valiosos ensinamentos, amizade, conselhos nos estudos científicos e por abrir as portas de seu laboratório em todos momentos necessários, inclusive todas as fotos capturadas das asas utilizadas nesse trabalho, foram graças à lupa disponibilizada em seu laboratório;

Ao técnico José Carlos Serrano e a amiga Patrícia dos Santos Vilhena pelos ensinamentos e instruções na identificação das abelhas Euglossini;

Ao Léo Correia da Rocha Filho por me ensinar a utilizar o programa com a lupa e assim poder registrar as fotografias das asas das abelhas;

Às Professoras Doutoras Márcia Maria Gentile Bitondi e Zilá Luz Paulino Simões, por sempre deixarem as portas do laboratório abertas;

Ao Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (CAPES) e aos Professores Doutor Carlos Alberto Garófalo, Prof. Dr. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira, Prof. Dr. Danilo Boscolo e Prof. Dr. Tomas Ferreira Domingues, pela oportunidade de estágio PAE, uma valiosa experiência para minha vida acadêmica;

Aos mestres do Departamento de Biologia e Genética da FFCLRP-USP e FMRP-USP, pelos valiosos ensinamentos durante as disciplinas que cursei;

Aos que foram essenciais durante o período de redação do meu trabalho, meu esposo Paulo Vitor e minha mãe Maria do Carmo, com vocês cuidando do nosso querido e tão amado Arthur, pude me dedicar a finalização desta tese;

À todos funcionários do Bloco A e do Apilab do Departamento de Genética da FMRP-USP, em especial à Vera Lúcia C. Figueiredo e ao Rogério Pereira, por serem tão importantes para o funcionamento dos laboratórios, a Dona Maria, pela amizade, carinho e descontração, ao Jairo, Luiz e Robertinho pela amizade;

À toda a família APILAB, pelo maravilhoso convívio, pelas sugestões nas pesquisas, por todo apoio nos momentos difíceis e pelos bons momentos de descontração. Cada um de vocês que estão aqui hoje e os que já passaram por aqui estarão para sempre em meu coração, cada um sabe o quanto é especial para mim: Aline P. Turcatto, Caroline Moretti, Claudinéia Pereira, Daiana A. de Souza, Elisa Cimitan Mendes, Hipólito F. Paulino Neto, Jaqueline Koser, Joyce Mayra V. de Almeida, Juliana G. Teixeira, Marcia Issa, Marina Grassi, Michelle Manfrini, Patricia Pinhal, Priscila Cardoso, Rofela Combey, Rogério A. Pereira, Vanessa Bonatti;

Em especial as minhas queridas amigas Clau e Ma, pela amizade e parceria nos trabalhos com Euglossini. E a Clau por toda a paciência em me ensinar um pouco do extenso mundo molecular;

À minha querida amiga Elisa, até hoje não havia conhecido alguém com um coração tão puro! obrigada pela linda amizade, pelo apoio e por rezar sempre comigo, me ajudando a buscar paz celestial;

Às minhas tão queridas irmãs do coração que me acompanharam durante o mestrado, o doutorado e me acompanham até hoje. Graças à tecnologia, não existe distância que impeça o grande apoio que tenho recebido de vocês: Van, Ma e Dai;

À minha querida amiga Joyce, pela amizade e companheirismo durante a longa caminhada de mestrado e doutorado, durante as disciplinas, apresentações e muitas outras atividades acadêmicas;

À minha amiga Pri por toda a alegria e descontração! Pela luta e companheirismo durante a preparação para nosso ingresso ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia;

À minha querida amiga Helena, que em tão pouco tempo, tivemos a oportunidade de construir uma amizade tão pura e verdadeira;

À todos os meus amigos do Bloco A do Departamento de Genética, pela amizade e pela agradável convivência durante todo esse tempo;

À todos os meus amigos do Departamento de Biologia pela agradável convivência, em especial a Aninha e a Nanda;

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Biologia Comparada, Renata Andrade Cavallari e Vera Cassia Cicilini de Lucca, pela amizade, auxílios e inúmeras dúvidas burocráticas esclarecidas;

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Genética, Sílvia e Suzi, pela amizade;

À minha amiga da minha segunda casa em Ribs, Taninha, que se tornou uma grande irmã, durante todo o tempo em que dividimos apartamento em Ribeirão, obrigada por toda amizade, paciência e compreensão durante essa caminhada;

Ao meu esposo Paulo Vitor, meu filho Arthur, meus pais Adalton e Maria do Carmo, irmãos Clyciane e Cesar, meus cunhados Henrique e Jenifer, minhas sobrinhas Heloísa e Natália, por fazerem parte da minha vida! Em especial, ao meu esposo Paulo Vitor por toda ajuda inclusive quanto ao designer visual realizado na capa da minha tese. Aos meus sogros D. Neiva e Sr. Nelson que se tornaram verdadeiros pais para mim, aos meus cunhados Victor Gabriel, Vitor Cesar e Bruna, aos meus padrinhos Noel (*in memoriam*) e Marcia e a todos os familiares. Agradeço a todos vocês por todos os momentos que estiveram ao meu lado, me apoiando e incentivando em toda a minha jornada. Amo vocês!

Ao CNPq e FAPESP, pelo suporte financeiro;

Ao Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto;

Ao Departamento de Genética, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto;

À todos que direta ou indiretamente, colaboraram para o êxito deste trabalho. Muito obrigada!

Muito obrigada!

Trem bala

Composição: Ana Vilela

Não é sobre ter
Todas as pessoas do mundo pra si
É sobre saber que em algum lugar
Alguém zela por ti
É sobre cantar e poder escutar
Mais do que a própria voz
É sobre dançar na chuva de vida
Que cai sobre nós

É saber se sentir infinito
Num universo tão vasto e bonito
É saber sonhar
E, então, fazer valer a pena cada verso
Daquele poema sobre acreditar

Não é sobre chegar no topo do mundo
E saber que venceu
É sobre escalar e sentir
Que o caminho te fortaleceu
É sobre ser abrigo
E também ter morada em outros corações
E assim ter amigos contigo
Em todas as situações

A gente não pode ter tudo
Qual seria a graça do mundo se fosse assim?
Por isso, eu prefiro sorrisos
E os presentes que a vida trouxe
Pra perto de mim

Não é sobre tudo que o seu dinheiro
É capaz de comprar
E sim sobre cada momento
Sorriso a se compartilhar
Também não é sobre correr
Contra o tempo pra ter sempre mais
Porque quando menos se espera
A vida já ficou pra trás

Segura teu filho no colo
Sorria e abraça Seus pais
Enquanto estão aqui
Que a vida é trem-bala, parceiro
E a gente é só passageiro prestes a partir
Laiá, laiá, laiá, laiá, laiá
Laiá, laiá, laiá, laiá, laiá
Segura teu filho no colo
Sorria e abraça teus pais
Enquanto estão aqui
Que a vida é trem-bala, parceiro
E a gente é só passageiro prestes a partir

RESUMO

MACHADO, Clycie Aparecida da Silva. **Ecologia e análises morfométricas de abelhas Euglossini (Hymenoptera, Apidae) provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio-SP e Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí-SP.** 2020. 164 f. Tese (Doutorado em Ciências, Área de Concentração: Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

As abelhas da tribo Euglossini estão distribuídas exclusivamente na região Neotropical e são consideradas polinizadores importantes em florestas tropicais e subtropicais, principalmente por possuírem alta capacidade de sobrevoar longas distâncias. Visto que as abelhas são os principais responsáveis pela polinização das angiospermas, é imprescindível sua preservação. No entanto, uma grande preocupação atual é com a perda da diversidade de abelhas, a qual pode ser contabilizada em espécies utilizadas na Apicultura e Meliponicultura, sendo assim, é provável que a diversidade de abelhas nativas não reconhecida possa estar sendo dizimada antes mesmo de serem catalogadas. Diante disso, para realização do nosso trabalho foram escolhidas duas unidades de conservação, o Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD) e o Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), ambos representados por Mata Atlântica, os quais até o momento não haviam sido amostrados sobre a diversidade da fauna de abelhas Euglossini. Além disso, propomos um estudo geral sobre a ecologia e a avaliação da variabilidade morfológica de abelhas, tendo como objetivos: estimar a abundância e a riqueza das abelhas Euglossini; Realizar uma avaliação morfológica das populações de *Eulaema nigrita* amostradas em ambos os parques e de *Euglossa pleosticta* proveniente do PEMD, utilizando ferramentas de morfometria geométrica, assimetria flutuante e o teste de hipótese de modularidade. Amostragens mensais foram realizadas durante 1 ano em ambos os parques. Em laboratório, os indivíduos foram identificados e assim análises ecológicas e morfométricas foram realizadas. Para as análises morfométricas, o padrão de venação das asas foi utilizado como subsídio para diferenciação de grupos e avaliação de diversidade morfológica. Foram coletados 747 indivíduos, sendo 719 do PEMD, representados por 12 espécies, pertencentes a 4 gêneros e apenas 28 indivíduos do PETAR, principalmente devido a interferências climáticas durante as amostragens, sendo representados por 5 espécies, pertencentes a 3 gêneros. Quanto a avaliação morfológica das asas da espécie *Euglossa pleosticta*, 350 espécimes foram avaliados e encontramos presença significativa de variação individual, assimetria direcional (AD) e assimetria flutuante (AF). Com relação a modularidade nas asas, verificamos a presença de módulos de desenvolvimento separados para o nível de variação individual. Além disso, através do estudo populacional utilizando a análise de morfometria geométrica obtivemos uma tendência a separação dos indivíduos em dois grupos, os quais eram condizentes com as estações climáticas em que passaram por seu período de ontogenia. Nas análises com a espécie *Eulaema nigrita* não encontramos diferenciação morfológica entre as populações das duas localidades, diante disso, é provável que o fluxo gênico dessas abelhas entre diversos ambientes seja mantido. Porém, houve presença significativa de variação individual, AD e AF nas populações de ambos os parques, no entanto, as maiores taxas foram apresentadas na população do PETAR, provavelmente devido estarem expostas a temperaturas mais baixas durante seu período de ontogênese, provocando maiores instabilidades de desenvolvimento. As ferramentas

morfométricas utilizadas foram eficientes para realizar as análises de variabilidade populacional, modularidade e para diagnosticar diferenças bilaterais nas asas das espécies analisadas. Concluimos também que o estudo da forma realizado em nosso trabalho pode colaborar em pesquisas futuras sobre a suscetibilidade dessas espécies perante possíveis mudanças na qualidade ambiental desses locais, além de poder colaborar com os programas de conservação dos polinizadores.

Palavras-chave: 1. Assimetria flutuante. 2. *Euglossa pleosticta* e *Eulaema nigrita*. 3. Modularidade. 4. Morfometria geométrica. 5. Tribo Euglossini.

ABSTRACT

MACHADO, Clycie Aparecida da Silva. **Ecology and morphometric analysis of Euglossini bees (Hymenoptera, Apidae) from Morro do Diabo State Park, Teodoro Sampaio-SP and Alto Ribeira Tourist State Park, Apiaí-SP.** 2020. 164 f. Thesis (Doutorado em Ciências, Área de Concentração: Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

The bees of the Euglossini tribe are distributed exclusively in the Neotropical region and are considered important pollinators in tropical and subtropical forests, mainly because they have a high capacity to fly over long distances. Since bees are primarily responsible for the pollination of angiosperms, their preservation is essential. However, a major current concern is the loss of bee diversity, which can be accounted for in species used in Apiculture and Meliponiculture, so it is likely that the diversity of unrecognized native bees may be decimated before they are even cataloged. Therefore, to carry out our work, two conservation units were chosen, the Morro do Diabo State Park (PEMD) and the Alto Ribeira Tourist State Park (PETAR), both represented by the Atlantic Forest, which until now had not been sampled on the diversity of Euglossini bee fauna. In addition, we propose a general study on the ecology and evaluation of the morphological variability of bees, with the following objectives: estimating the diversity and specific richness of Euglossini bees; Perform a morphological evaluation of the populations of *Eulaema nigrita* sampled in both parks and of *Euglossa pleosticta* from PEMD, using tools of geometric morphometry, fluctuation asymmetry and the modularity hypothesis test. Monthly sampling was carried out for 1 year in both parks. In the laboratory, individuals were identified and thus ecological and morphometric analyzes were performed. For morphometric analysis, the wing venation pattern was used as a subsidy for differentiating groups and evaluating morphological diversity. 747 individuals were collected, 719 from PEMD, represented by 12 species, belonging to 4 genera and only 28 individuals from PETAR, mainly due to climatic interference during the sampling, being represented by 5 species, belonging to 3 genera. As for the morphological evaluation of the wings of the species *Euglossa pleosticta*, 350 specimens were evaluated and we found a significant presence of individual variation, directional asymmetry (AD) and fluctuation asymmetry (AF). Regarding modularity in the wings, we verified the presence of separate development modules for the level of individual variation. In addition, through the population study using the analysis of geometric morphometry, we obtained a tendency to separate individuals into two groups, which were consistent with the climatic seasons in which they went through their ontogeny period. In the analyzes with the species *Eulaema nigrita*, we did not find any morphological differentiation between the populations of the two locations, given that, it is likely that the gene flow of these bees between different environments will be maintained. However, there was a significant presence of individual variation, AD and AF in the populations of both parks, however, the highest rates were presented in the PETAR population, probably due to being exposed to lower temperatures during their ontogenesis period, causing greater instability of development. The morphometric tools used were efficient to carry out the analyzes of population variability, modularity and to diagnose bilateral differences in the wings of the analyzed species. We also

concluded that the study of the form carried out in our work can collaborate in future research on the susceptibility of these species to possible changes in the environmental quality of these places, in addition to being able to collaborate with pollinator conservation programs.

Key words: 1. Fluctuation asymmetry. 2. *Euglossa pleosticta* and *Eulaema nigrita*. 3. Modularity. 4. Geometric morphometry. 5. Euglossini Tribe.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1:** CINCO GÊNEROS DAS ABELHAS EUGLOSSINI. **(A)** *EUGLOSSA HEMICHLORA* (MACHO). FOTO: RODERIC B. MARTINES. **(B)** *EUFRIESEA PURPURATA* (MACHO). FOTO: RODERIC B. MARTINES. **(C)** *EULAEMA NIGRITA* (MACHO). FOTO: MIRIAM ARRUETA. **(D)** *EXAERETE SMARAGDINA* (MACHO). FOTO: RODERIC B. MARTINES. **(E)** *AGLAE CAERULEA* (MACHO). FOTO: ENTOMO SERVICE©..... 27
- FIGURA 2.** DISTRIBUIÇÕES DE FREQUÊNCIA DAS DIFERENÇAS ENTRE OS LADOS ESQUERDO-DIREITO PARA TRÊS TIPOS PRINCIPAIS DE ASSIMETRIA. 41
- FIGURA 3.** NOMES ESPECÍFICOS DESIGNADOS AS CÉLULAS E VEIAS ALARES. FONTE: SILVEIRA ET AL., 2002A... 47
- FIGURA 4.** MAPA DE LOCALIZAÇÃO DO PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA - PETAR E PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO - PEMD. (QGIS SOFTWARE 2.18.9). 52
- FIGURA 5.** MAPA DE LOCALIZAÇÃO DOS QUATRO PONTOS DE AMOSTRAGEM DENTRO DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO – PEMD: TRILHA DAS PEROBEIRAS (22°37,204' S / 52°10,550' W); TRILHA FERROVIA (22°35,037' S / 52°12,618' W); TRILHA ANGELIM (22°36,313' S/ 52°18,039' W); TRILHA TAQUARA (22°35,000' S / 52°13,223' W). (QGIS SOFTWARE 2.18.9). 55
- FIGURA 6.** VISTA DOS PONTOS DE AMOSTRAGEM DENTRO DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO - PEMD. **(A)** TRILHA DAS PEROBEIRAS (22°37,204' S / 52°10,550' W); **(B)** TRILHA FERROVIA (22°35,037' S / 52°12,618' W); **(C)** TRILHA ANGELIM (22°36,313' S/ 52°18,039' W); **(D)** TRILHA TAQUARA (22°35,000' S / 52°13,223' W). (FOTOS: CLYCIE APARECIDA DA SILVA MACHADO). 56
- FIGURA 7.** MAPA DE LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA AMOSTRADOS DENTRO DO PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA – PETAR: LOCAL PRÓXIMO A ÁREA DE CAMPING (24°26,124' S / 48°35,190' W); TRILHA DO CHAPÉU (24°26,096' S / 48°35,323' W); LOCAL PRÓXIMO A BASE TEMIMINA (24°24,006' S / 48°36,192' W); ESTRADA DE ACESSO AO NÚCLEO CABOCLOS (24°23,727' S / 48°37,558' W). (QGIS SOFTWARE 2.18.9). 57
- FIGURA 8.** VISTA DOS PONTOS DE AMOSTRAGEM DENTRO PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA – PETAR. **(A)** TRILHA DO CHAPÉU (24°26,096' S / 48°35,323' W); **(B)** ESTRADA PRÓXIMO A BASE TEMIMINA (24°24,006' S / 48°36,192' W); **(C)** ESTRADA DE ACESSO AO NÚCLEO CABOCLOS (24°23,727' S / 48°37,558' W). (FOTOS: CLYCIE APARECIDA DA SILVA MACHADO). 58
- FIGURA 9.** IMAGEM DE UMA ASA ANTERIOR DIREITA DE *EUGLOSSA PLEOSTICTA* COM 18 PONTOS ANATÔMICOS MARCADOS NAS JUNÇÕES DE NERVURAS DAS CÉLULAS DAS ASAS UTILIZADOS NAS ANÁLISES MORFOMÉTRICAS. 63
- FIGURA 10.** HIPÓTESE DE MODULARIDADE TESTADAS NA ASA ANTERIOR DIREITA DE *EUGLOSSA PLEOSTICTA*. FIGURA A: HIPÓTESE DA DIVISÃO DA ASA ANTERIOR EM DOIS COMPARTIMENTOS: ANTERIOR (ONZE MARCOS ANATÔMICOS EM AZUL) E POSTERIOR (SETE MARCOS ANATÔMICOS EM VERMELHO). FIGURA B: HIPÓTESE DA DIVISÃO DA ASA ANTERIOR EM PARTES PROXIMAL (DOZE MARCOS ANATÔMICOS EM VERMELHO) E DISTAL (SEIS MARCOS ANATÔMICOS EM AZUL)..... 70
- FIGURA 11.** AMOSTRAGEM MENSAL REALIZADA NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO, TEODORO SAMPAIO-SP, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015. ABUNDÂNCIA DE INDIVÍDUOS (FIGURA A, C, E) E RIQUEZA DE ESPÉCIES (FIGURA B, D, F) CONFRONTADOS COM OS VALORES DE: TEMPERATURA MÉDIA (°C) APRESENTADA NO DIA DA COLETA (FIGURA A, B); UMIDADE RELATIVA MÉDIA (%) APRESENTADA NO DIA DA COLETA (FIGURA C, D); PRECIPITAÇÃO MENSAL (MM) (FIGURA E, F). 75
- FIGURA 12.** ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS: **FIG. A:** TEMPERATURA X ABUNDÂNCIA DOS INDIVÍDUOS ($r = 0,3623$; $p = 0,2472$); **FIG. B:** TEMPERATURA X RIQUEZA DE ESPÉCIES ($r = 0,6865$; $p = 0,0137$), APRESENTADAS NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO, TEODORO SAMPAIO-SP, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015. 76
- FIGURA 13.** TEMPERATURA MÉDIA CONFRONTADA COM ABUNDÂNCIA DE INDIVÍDUOS (TODAS AS ESPÉCIES COLETADAS), APENAS DE *EUGLOSSA PLEOSTICTA* E COM OUTRAS ESPÉCIES (TODAS AS ESPÉCIES EXCETO *EG. PLEOSTICTA*), AMOSTRADAS NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015. 77
- FIGURA 14.** ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE A TEMPERATURA MÉDIA CONFRONTADA COM A ABUNDÂNCIA DE TODAS AS ESPÉCIES, EXCETO *EG. PLEOSTICTA* ($r = 0,5768$; $p = 0,0496$), APRESENTADAS NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO, TEODORO SAMPAIO-SP, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015. 77

FIGURA 15. ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS: FIG. A: UMIDADE RELATIVA X ABUNDÂNCIA DE INDIVÍDUOS ($r = -0,4698$; $p = 0,1233$); FIG. B: UMIDADE RELATIVA X RIQUEZA DE ESPÉCIES ($r = -0,5073$; $p = 0,0923$); FIG. C: PRECIPITAÇÃO MENSAL X ABUNDÂNCIA DE INDIVÍDUOS ($r = 0,1447$; $p = 0,6537$); FIG. D: PRECIPITAÇÃO MENSAL X RIQUEZA DE ESPÉCIES ($r = 0,0866$; $p = 0,7891$), APRESENTADAS NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO, TEODORO SAMPAIO-SP, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015....	78
FIGURA 16. PREFERÊNCIA DOS MACHOS DE ABELHAS EUGLOSSINE POR COMPOSTOS AROMÁTICOS, AMOSTRADOS NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO, TEODORO SAMPAIO – SP, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015.....	80
FIGURA 17. AMOSTRAGEM MENSAL REALIZADA NO PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA, APIAÍ-SP, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015. ABUNDÂNCIA DE INDIVÍDUOS (FIGURA A, C, E) E RIQUEZA DE ESPÉCIES (FIGURA B, D, F) CONFRONTADOS COM OS VALORES DE TEMPERATURA MÉDIA (°C) APRESENTADA NO DIA DA COLETA (FIGURA A, B); UMIDADE RELATIVA MÉDIA (%) APRESENTADA NO DIA DA COLETA (FIGURA C, D); PRECIPITAÇÃO MENSAL (MM) (FIGURA E, F).....	82
FIGURA 18. ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS: FIG. A: TEMPERATURA X ABUNDÂNCIA DE INDIVÍDUOS ($r = 0,7981$; $p = 0,0019$); FIG. B: TEMPERATURA X RIQUEZA DE ESPÉCIES ($r = 0,8213$; $p = 0,0011$), APRESENTADAS NO PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA, APIAÍ-SP, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015.....	83
FIGURA 19. ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS: FIG. A: UMIDADE RELATIVA X ABUNDÂNCIA DE INDIVÍDUOS ($r = -0,1959$; $p = 0,5417$); FIG. B: UMIDADE RELATIVA X RIQUEZA DE ESPÉCIES ($r = -0,1661$; $p = 0,6059$); FIG. C: PRECIPITAÇÃO MENSAL X ABUNDÂNCIA DE INDIVÍDUOS ($r = 0,2773$; $p = 0,3830$); FIG. D: PRECIPITAÇÃO MENSAL X RIQUEZA DE ESPÉCIES ($r = 0,0619$; $p = 0,8484$), APRESENTADAS NO PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA, APIAÍ-SP, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015.....	84
FIGURA 20. PREFERÊNCIA DOS MACHOS DE ABELHAS EUGLOSSINI POR COMPOSTOS AROMÁTICOS, AMOSTRADOS NO PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA, APIAÍ – SP, NO PERÍODO DE MAIO DE 2014 A ABRIL DE 2015.....	85
FIGURA 21. PADRÕES DE VARIAÇÃO INDIVIDUAL E ASSIMETRIA FLUTUANTE DAS ASAS ANTERIORES DE EG. PLEOSTICTA REPRESENTADOS PELOS COMPONENTES PRINCIPAIS OBTIDOS A PARTIR DAS MATRIZES DE COVARIÂNCIA DOS COMPONENTES SIMÉTRICOS (VARIAÇÃO INDIVIDUAL) E ASSIMÉTRICOS (ASSIMETRIA FLUTUANTE).....	87
FIGURA 22. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ANÁLISE DE COMPONENTE PRINCIPAL COM OS INDIVÍDUOS CLASSIFICADOS DE ACORDO COM SEU PERÍODO DE DESENVOLVIMENTO, OBTIDA ATRAVÉS DA AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS ASAS ANTERIORES DOS ESPÉCIMES DE <i>EUGLOSSA PLEOSTICTA</i> , PROVENIENTES DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO – SP, COLETADAS NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE JUNHO/2014 A ABRIL/2015.....	90
FIGURA 23. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ANÁLISE DE VARIÁVEIS CANÔNICAS COM OS INDIVÍDUOS CLASSIFICADOS DE ACORDO COM SEU PERÍODO DE DESENVOLVIMENTO, OBTIDA ATRAVÉS DA AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS ASAS ANTERIORES DOS ESPÉCIMES DE <i>EUGLOSSA PLEOSTICTA</i> , PROVENIENTES DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO – SP, COLETADAS NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE JUNHO/2014 A ABRIL/2015.....	92
FIGURA 24. DISCRIMINAÇÃO PAR A PAR DOS GRUPOS ESTUDADOS PELA ANÁLISE DE FUNÇÃO DISCRIMINANTE E PELO TESTE DE VALIDAÇÃO CRUZADA, COM AS TAXAS DE ACERTO NA CLASSIFICAÇÃO DENTRO DE SUAS RESPECTIVAS LOCALIDADES PARA AMOSTRAS DE ABELHAS DA ESPÉCIE <i>EUGLOSSA PLEOSTICTA</i>	94
FIGURA 25. CONFIGURAÇÃO CONSENSO DOS 18 MARCOS ANATÔMICOS MARCADOS NAS INTERSEÇÕES DAS NERVURAS DAS ASAS DOS MACHOS DE <i>EULAEMA NIGRITA</i> . OS PONTOS PRETOS REPRESENTAM OS RESÍDUOS DE PROCRUSTES E OS PONTOS AZUIS REPRESENTAM A MÉDIA DOS RESÍDUOS DE CADA MARCO ANATÔMICO.....	99
FIGURA 26. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA PORCENTAGEM DA VARIÂNCIA DAS 32 MEDIDAS DE DEFORMAÇÕES RELATIVAS DOS COMPONENTES PRINCIPAIS.....	101
FIGURA 27. MUDANÇA DA FORMA OBSERVADA EM ASAS DA ESPÉCIE <i>EULAEMA NIGRITA</i> ATRAVÉS DAS GRADES DE DEFORMAÇÃO (THIN-PLATE SPLINE), REPRESENTADA PELO COMPONENTE PRINCIPAL 1 (PC1) E 2 (PC2). OS MARCOS ANATÔMICOS DA FORMA CONSENSO ESTÃO REPRESENTADOS PELOS PONTOS, JÁ O COMPRIMENTO E A DIREÇÃO DA RETA INDICAM O MOVIMENTO DA FORMA INICIAL PARA A CORRESPONDENTE MODIFICAÇÃO ENCONTRADA.....	102

FIGURA 28. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ANÁLISE DE COMPONENTE PRINCIPAL DAS AMOSTRAS DE <i>EULAEMA NIGRITA</i> PROVENIENTES DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO – SP E PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA (PETAR), APIAÍ -SP, OBTIDA A PARTIR DAS ANÁLISES DOS 18 PONTOS ANATÔMICOS MARCADOS NAS JUNÇÕES DE NERVURAS DAS ASAS.	103
FIGURA 29. REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ANÁLISE DE VARIÁVEIS CANÔNICAS DAS AMOSTRAS DE <i>EULAEMA NIGRITA</i> PROVENIENTES DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO – SP E PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA (PETAR), APIAÍ -SP, OBTIDA A PARTIR DAS ANÁLISES DOS 18 PONTOS ANATÔMICOS MARCADOS NAS JUNÇÕES DE NERVURAS DAS ASAS.	103
FIGURA 30. DISCRIMINAÇÃO PAR A PAR DOS GRUPOS ESTUDADOS PELA ANÁLISE DE FUNÇÃO DISCRIMINANTE E PELO TESTE DE VALIDAÇÃO CRUZADA, COM AS TAXAS DE ACERTO NA CLASSIFICAÇÃO DENTRO DE SUAS RESPECTIVAS LOCALIDADES PARA AMOSTRAS DE ABELHAS DA ESPÉCIE <i>EULAEMA NIGRITA</i>	104
FIGURA 31. PADRÕES DE VARIAÇÃO INDIVIDUAL E ASSIMETRIA FLUTUANTE DAS ASAS ANTERIORES DE <i>EULAEMA NIGRITA</i> , REPRESENTADOS PELOS COMPONENTES PRINCIPAIS OBTIDOS A PARTIR DAS MATRIZES DE COVARIÂNCIA DOS COMPONENTES SIMÉTRICOS E ASSIMÉTRICOS.	107

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. FREQUÊNCIA RELATIVA E FLUTUAÇÃO SAZONAL DAS ESPÉCIES DE ABELHAS EUGLOSSINI AMOSTRADAS EM ÁREAS DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO - SP, NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE MAIO/2014 A ABRIL/2015.	73
TABELA 2. ESPÉCIES DE ABELHAS EUGLOSSINI AMOSTRADAS EM ÁREAS DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO - SP, NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE MAIO/2014 A ABRIL/2015, UTILIZANDO OS COMPOSTOS AROMÁTICOS: EUCALIPTOL (EUC), VANILINA (V), EUGENOL (EUG.), ACETATO DE BENZILA (AB), SALICILATO DE METILA (SM).	79
TABELA 3. FREQUÊNCIA RELATIVA E FLUTUAÇÃO SAZONAL DAS ESPÉCIES DE ABELHAS EUGLOSSINI AMOSTRADAS EM ÁREAS DO PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA (PETAR), APIAÍ -SP, NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE MAIO/2014 A ABRIL/2015.	81
TABELA 4. PROCRUSTRES ANOVA REALIZADA ENTRE INDIVÍDUOS PARA AS COORDENADAS DE FORMA E PARA O TAMANHO DO CENTRÓIDE DAS ASAS ANTERIORES DE ESPÉCIMES DE EUGLOSSA PLEOSTICTA COLETADAS NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO – SP, NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE JUNHO/2014 A ABRIL/2015.	86
TABELA 5. HIPÓTESES DE MODULARIDADE, UTILIZANDO PADRÕES DE VARIAÇÃO NO NÍVEL DE VARIAÇÃO INDIVIDUAL, TESTADAS NA FORMA DAS ASAS ANTERIORES DE ESPÉCIMES DE EUGLOSSA PLEOSTICTA COLETADAS NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO – SP, NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE JUNHO/2014 A ABRIL/2015.	88
TABELA 6. VARIAÇÃO DOS DOIS EIXOS DAS VARIÁVEIS CANÔNICAS.	91
TABELA 7. DISTÂNCIAS DE MAHALANOBIS (DIAGONAL INFERIOR DA TABELA) E SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA (DIAGONAL SUPERIOR DA TABELA), GERADAS A PARTIR DA ANÁLISE DE VARIÁVEIS CANÔNICAS COM OS INDIVÍDUOS CLASSIFICADOS DE ACORDO COM SEU PERÍODO DE DESENVOLVIMENTO, OBTIDA ATRAVÉS DA AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS ASAS ANTERIORES DOS ESPÉCIMES DE EUGLOSSA PLEOSTICTA, PROVENIENTES DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO – SP, COLETADAS NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE JUNHO/2014 A ABRIL/2015.	91
TABELA 8. DISTÂNCIAS DE PROCRUSTES (DIAGONAL INFERIOR DA TABELA) E SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA (DIAGONAL SUPERIOR DA TABELA), GERADAS A PARTIR DA ANÁLISE DE VARIÁVEIS CANÔNICAS COM OS INDIVÍDUOS CLASSIFICADOS DE ACORDO COM SEU PERÍODO DE DESENVOLVIMENTO, OBTIDA ATRAVÉS DA AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DAS ASAS ANTERIORES DOS ESPÉCIMES DE EUGLOSSA PLEOSTICTA, PROVENIENTES DO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO – SP, COLETADAS NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE JUNHO/2014 A ABRIL/2015.	92
TABELA 9. PROCRUSTRES ANOVA REALIZADA COM OS INDIVÍDUOS AGRUPADOS DE ACORDO COM SEU PERÍODO DE DESENVOLVIMENTO PARA AS COORDENADAS DE FORMA E PARA O TAMANHO DO CENTRÓIDE DAS ASAS ANTERIORES DE ESPÉCIMES DE EUGLOSSA PLEOSTICTA COLETADAS NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO – SP, NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE JUNHO/2014 A ABRIL/2015.	97
TABELA 10. CONTRIBUIÇÃO RELATIVA DE CADA MARCO ANATÔMICO, MARCADOS NAS JUNÇÕES DAS NERVURAS DAS ASAS DOS MACHOS DE EULAEMA NIGRITA.	100
TABELA 11. PROCRUSTRES ANOVA PARA AS COORDENADAS DE FORMA E PARA O TAMANHO DO CENTRÓIDE DAS ASAS ANTERIORES DE ESPÉCIMES DE EULAEMA NIGRITA COLETADAS NO PARQUE ESTADUAL MORRO DO DIABO (PEMD), TEODORO SAMPAIO - SP E PARQUE ESTADUAL TURÍSTICO DO ALTO RIBEIRA, APIAÍ - SP, NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE JUNHO/2014 A ABRIL/2015.	105

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AD: Assimetria Direcional

AF: Assimetria Flutuante

CVA: Análise de Variáveis Canônicas

DFA: Análise da Função Discriminante

Ef.: Eufriesea

Eg.: Euglossa

El.: Eulaema

Ex.: Exaerete

El. nigrita: Eulaema nigrita

Eg. pleosticta: Euglossa pleosticta

GL: Graus de liberdade

GPA: Análise generalizada de Procrustes

MS: Média quadrada

PC: Componente principal

PCA: Análise de Componente Principal

PEMD: Parque Estadual Morro do Diabo

PETAR: Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira

RV: Coeficiente que avalia o teste de hipótese de modularidade.

Sumário

INTRODUÇÃO.....	22
1.1 Introdução geral	22
1.2 Tribo Euglossini.....	27
1.3 Técnicas morfométricas	32
1.3.1 Morfometria geométrica.....	32
1.3.2 Assimetria flutuante	40
1.3.3 Modularidade e integração morfológica	44
1.4 Estrutura utilizada para as análises	46
2. OBJETIVOS.....	50
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
3.1 Áreas de estudo.....	52
3.2 Amostragem.....	54
3.3 Dados meteorológicos.....	59
3.4 Ecologia das abelhas da tribo Euglossini.....	60
3.5 Análises morfométricas	60
3.5.1 Preparação das asas	62
3.5.2 Aquisição de dados.....	62
3.5.3 Obtenção das variáveis de forma e tamanho	64
3.5.4 Análises dos dados morfométricos.....	66
4. RESULTADOS	72
4.1 Ecologia das abelhas da tribo Euglossini.....	72
4.1.1 PEMD.....	72
4.1.2 PETAR	80
4.2 Avaliação morfométrica de asas da espécie <i>Euglossa pleosticta</i>	85
4.2.1 Avaliação da assimetria das asas entre indivíduos.....	85
4.2.2 Covarição entre conjuntos de caracteres morfológicos identificados na asa	88
4.2.3 Avaliação das asas dos indivíduos quando classificados por períodos de desenvolvimento.....	89
4.3 Avaliação morfométrica de asas da espécie <i>Eulaema nigrita</i>	98
4.3.1 Análise da variação morfológica entre as amostras do PEMD e PETAR.....	98
4.3.2 Avaliação da assimetria.....	104
5. DISCUSSÃO	110

5.1 Ecologia das abelhas da tribo Euglossini.....	110
5.2 Avaliação morfométrica de asas da espécie <i>Euglossa pleosticta</i>	119
5.3 Avaliação morfométrica de asas da espécie <i>Eulaema nigrata</i>	126
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	136
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	141

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

1.1 Introdução geral

Estima-se que existem cerca de 20.000 espécies de abelhas, distribuídas por praticamente todo o globo terrestre (MICHENER, 2007). Destas, a grande maioria possui hábito de vida solitário e cerca de 1000 espécies são sociais (IMPERATRIZ-FONSECA e NUNES-SILVA, 2010). O Brasil, devido às suas proporções continentais e riqueza de ecossistemas, abriga cerca de 3.000 espécies (SILVEIRA *et al.*, 2002a, 2002b), sendo 1.678 espécies descritas com nomes válidos, distribuídas em cinco famílias de abelhas: Colletidae, Halictidae, Andrenidae, Megachilidae e Apidae, ou seja, pouco mais de 30% da riqueza atualmente catalogada para a região neotropical (5.016 spp.) (SILVEIRA *et al.*, 2002a; MOURE *et al.*, 2007; 2013; FREITAS *et al.*, 2009).

Dentro da família Apidae existe um grupo conhecido por abelhas corbiculadas, devido ao fato de as fêmeas possuírem as tíbias posteriores dilatadas (corbículas), que são utilizadas para transportar pólen e materiais para construção de ninhos (MICHENER, 2000). O grupo das abelhas corbiculadas é formado pelas tribos viventes Apini, Bombini, Meliponini e Euglossini, sendo esta última conhecida como abelhas das orquídeas, devido ao comportamento apresentado pelos machos na coleta de fragrâncias das flores, principalmente, da família Orchidaceae (ROUBIK e HANSON, 2004).

A importância das abelhas foi reconhecida pela Convenção da Diversidade Biológica e seus países signatários, através da aprovação, em 2000, da Iniciativa Internacional de Polinizadores. Esses insetos são considerados os principais polinizadores de plantas silvestres e cultivadas nos ecossistemas terrestres (KLEIN *et al.*, 2007).

A grande relevância dos agentes polinizadores na produtividade agrícola, associada a constatações da baixa diversidade e quantidade destes nos agroecossistemas mundiais, vem gerando preocupações entre governos, ONGs, pesquisadores e produtores (FAO, 2004; WINFREE *et al.*, 2007). Essa diminuição de polinizadores vem sendo notada em muitas partes do mundo e tem sido atribuída principalmente à expansão das atividades humanas (BROWN e PAXTON, 2009). De acordo com Newbold *et al.* (2015), as atividades humanas, especialmente a conversão e degradação de habitats, estão causando declínios na biodiversidade global. Sendo que a perda, a fragmentação e a degradação dos habitats naturais podem ser prejudiciais para as comunidades de abelhas, sendo apontados como os principais fatores associados ao declínio das populações silvestres de polinizadores (CANE *et al.*, 2006; POTTS *et al.*, 2010). A principal causa resultante é a perda ou a dissociação de recursos importantes para alimentação e nidificação (POTTS *et al.*, 2005). Além disso, o uso indiscriminado de agrotóxicos nas plantações agrícolas resulta na morte de muitas abelhas, isso é devido ao contato ocorrido no momento da coleta de néctar e pólen de flores contaminadas (MULLIN *et al.*, 2010; PETTIS *et al.*, 2013; PACÍFICO-DA-SILVA *et al.*, 2015; CHAM *et al.*, 2017; HEARD *et al.*, 2017), além de outras vias de contaminação, como a ingestão larval, ingestão de adultos, contato e transmissão transovariana (KOPIT *et al.*, 2018). Esse acontecimento é presenciado frequentemente por apicultores e meliponicultores em todo o mundo, sendo que esse efeito devastador dos agrotóxicos sob os polinizadores foi comprovado através de diversas pesquisas científicas. Vale ressaltar que as mortes contabilizadas são apenas de abelhas sociais que são utilizadas no manejo para fins de produção apícola, comércio de colônias e aluguel de colônias para polinização agrícola, ou seja, todas as outras abelhas nativas, tanto sociais quanto solitárias, podem estar sendo dizimadas sem o conhecimento humano, isso por estarem em seus habitats naturais (COSTA *et al.*, 2015; PACÍFICO-DA-SILVA *et al.*, 2016; IBAMA, 2017; ARAGAKI, 2019), no entanto, estudos recentes demonstraram os efeitos maléficos também

causados em abelhas solitárias (SGOLASTRA, *et al.*, 2019). Além disso, outro estudo sugere que o declínio dos polinizadores em todo o mundo está associado a uma combinação fatores, entre eles a fragmentação habitats, perda de locais de nidificação, patógenos, uso indiscriminado de pesticidas (HOLLAND *et al.*, 2015).

Cerca de 75% das 240.000 espécies de plantas existentes no mundo dependem da polinização realizada pelo vento, pela água, por animais, como algumas aves, morcegos, insetos e outros. Entretanto, as abelhas são consideradas os principais polinizadores e os principais responsáveis pela polinização de aproximadamente 73% das espécies cultivadas no mundo (FAO, 2004). Sendo assim, as abelhas apresentam grande importância ecológica e econômica, tanto para a conservação das espécies vegetais nativas, quanto para a utilização em programas de polinização aplicada aos cultivos agrícolas (MESQUITA, 2009). Neste contexto, as abelhas são organismos de interesse devido seu papel central na polinização, são altamente dependentes de seu habitat e são sensivelmente afetadas por mau uso da terra como a fragmentação e a perda de habitat (BROSI *et al.*, 2008). Diante desse cenário, várias pesquisas e iniciativas estão sendo tratadas para conservação e uso sustentável dos polinizadores, como por exemplo, a Iniciativa Internacional dos Polinizadores da CBD, sendo que nestes programas, uma das grandes preocupações está relacionada com a identificação e o reconhecimento de espécies (BYRNE e FITZPATRICK, 2009).

A região Neotropical apresenta uma rica fauna de abelhas (MOURE *et al.*, 2007). Estima-se que menos de um terço de toda sua riqueza de espécies seja conhecida, isso devido à existência de uma série de deficiências de informações sobre diversidade, distribuição, além de ameaças relacionadas a atividades humanas, tais como fragmentação e perda de habitat, carência de informações precisas sobre os nomes válidos, sinônimos, homônimos e também a existência de regiões com coletas deficientes ou inexistentes (FREITAS *et al.*, 2009). Em diversos estudos com abelhas nativas, uma das grandes dificuldades enfrentadas hoje é a falta

de dados consistentes sobre a distribuição e a abundância de espécies (BROWN e PAXTON, 2009), desconhecimento de grande parte de sua fauna (EARDLEY *et al.*, 2009), além do impedimento taxonômico que é um dos grandes problemas para a avaliação da diversidade de abelhas (SILVEIRA *et al.*, 2002b). Infelizmente, o estado atual da taxonomia desses polinizadores limita a capacidade de avaliar e monitorar seu declínio e, conseqüentemente, o desenvolvimento de estratégias de conservação e manejo sustentável (BONATTI, 2012).

Neste contexto, o papel dos parques ecológicos se torna de grande importância para a conservação da biodiversidade. De acordo com Nogueira-Neto (1997), para sua efetiva proteção, é necessário que sejam criadas e implantadas Unidades de Conservação, de acordo com a experiência brasileira e internacional. Essas áreas de preservação são constituídas por exemplares individuais da biota, as quais possuem ecossistemas protegidos em larga escala, com áreas representativas de vários geobiomas climáticos, além de poderem ser caracterizadas como bancos genéticos *in situ*.

No Brasil, os remanescentes de vegetação nativa que ainda restam da Mata Atlântica estão reduzidos a cerca de 26,97% de sua cobertura original e encontram-se em diferentes estágios de regeneração, sendo apenas cerca de 7% que estão bem conservados em fragmentos acima de 100 hectares. Atualmente apenas cerca de 6% da área da Mata Atlântica estão protegidos através de Unidades de Conservação (UC), dos quais apenas 2% são Unidades de Conservação de proteção integral e 4% de uso sustentável (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2016). A análise da distribuição de espécies vegetais nas diferentes formações da Mata Atlântica evidenciou que nas áreas ocupadas pela Floresta Ombrófila Densa, são encontrados mais da metade da riqueza (60%) e a maior parte dos endemismos (80%). A maior concentração de espécies (9.661) ocorre nas Florestas Ombrófilas Densa/Aberta, seguidas pela Floresta Estacional Semidecidual (3.841), pelas Formações Campestres (3.740), Floresta

Ombrófila Mista (2.776), Restinga (1.808), Floresta Estacional Decidual (1.113), Afloramentos Rochosos (1.004), Formações Aquáticas (178) e o Manguezal (65) (STEHMANN *et al.*, 2009).

Contudo, falta conhecimento sobre a distribuição e diversidade da fauna de abelhas presentes na Mata Atlântica. Assim, para a realização deste trabalho, foram escolhidas duas unidades de conservação, o Parque Estadual Morro do Diabo e Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, ambos representados por Mata Atlântica, os quais até o momento não haviam sido amostrados sobre a diversidade da fauna de abelhas Euglossini.

As reservas estaduais do Morro do Diabo e do Pontal do Paranapanema em Teodoro Sampaio - SP foram criadas em 1941/1942 para proteger 247 mil hectares de Mata Atlântica. A Reserva do Morro do Diabo totalizava cerca de 37 mil hectares, porém o Parque passou por um grande processo de fragmentação florestal associado a conflitos fundiários e ocupações de terras por grandes fazendeiros, alguns anos posteriores ao processo de criação. Com isso a área foi reduzida a 33 mil hectares, sendo que, foram eliminados em quase sua totalidade a Reserva do Pontal. O Parque Estadual faz parte de uma reserva possuidora dos últimos remanescentes de Mata Atlântica de interior (Floresta Estacional Semidecidual) (DESHLER, 1975). Em 1986 a reserva “Morro do Diabo” foi transformada em Parque Estadual Morro do Diabo- PEMD (SISTEMA AMBIENTAL PAULISTA, 2016a).

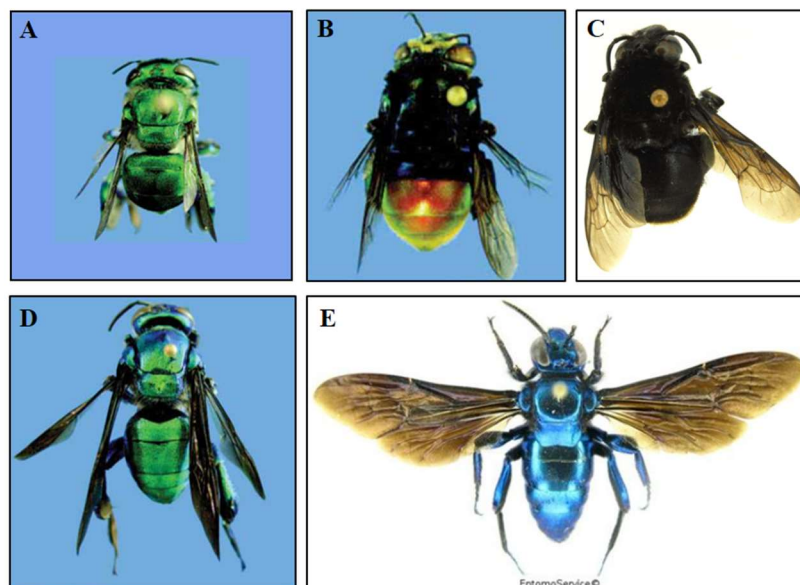
Somente no sudeste do estado de São Paulo e nordeste do Paraná, na região do Vale do Ribeira e Alto Paranapanema são encontradas áreas de Floresta Ombrófila Densa sobre regiões cársticas, com destaque para o Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), o Parque Estadual Intervales e o Parque Estadual Caverna do Diabo (IVANAUSKAS *et al.*, 2012). Essas áreas, ocupadas principalmente por Floresta Ombrófila Densa, merecem atenção especial para a conservação da biodiversidade brasileira, pela riqueza e a maior parte dos endemismos encontrados na Mata Atlântica (STEHMANN *et al.*, 2009). A presença de áreas contíguas com vegetação conservada no contínuo ecológico de Paranapiacaba se deve à dificuldade de

ocupação humana em decorrência de condições físico-climáticas desfavoráveis na região, como relevo montanhoso com declividades acentuadas, solos pobres em nutrientes e clima superúmido (AIDAR, 2000).

1.2 Tribo Euglossini

A tribo Euglossini (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) atualmente está representada por mais de 220 espécies (NEMÉSIO, 2009), distribuídas em cinco gêneros (Figura 1), sendo três com espécies de vida livre: *Euglossa* Latreille, 1802; *Eufriesea* Cockerell, 1908; *Eulaema* Lepeletier, 1841 e dois com espécies cleptoparasitas: *Exaerete* Hoffmannsegg, 1817 e *Aglae* Lepeletier e Serville, 1825, sendo esse último com apenas uma espécie conhecida (KIMSEY, 1987).

Figura 1: Cinco gêneros das abelhas Euglossini. **(A)** *Euglossa hemichlora* (macho). Foto: Roderic B. Martines. **(B)** *Eufriesea purpurata* (macho). Foto: Roderic B. Martines. **(C)** *Eulaema nigrata* (macho). Foto: Miriam Arrueta. **(D)** *Exaerete smaragdina* (macho). Foto: Roderic B. Martines. **(E)** *Aglae caerulea* (macho). Foto: EntomoService©.



Essas abelhas formam um grupo distinto e homogêneo entre as abelhas corbiculadas, por possuírem tegumento metálico, língua extremamente longa (característica relacionada ao nome designado ao grupo: Euglossina, Eu = verdadeiro (a), glossa = língua) e sociabilidade pouco desenvolvida, sendo que a maioria das espécies apresenta hábito de nidificação solitário (VAN DER PIJL e DODSON, 1966; GARÓFALO, 1985; GARÓFALO, 1994; GARÓFALO *et al.*, 1998a; ROUBIK e HANSON, 2004). Algumas espécies de *Euglossa* e, aparentemente, todas as *Eulaema* possuem comportamento comunal (MICHENER, 2000), comportamento no qual, duas ou mais fêmeas da mesma geração dividem um ninho, sem divisão de trabalho (MICHENER, 1974; ROUBIK, 1989).

O gênero *Euglossa*, é o gênero com maior riqueza de espécies, com as menores e mais coloridas abelhas da tribo. Possuem tamanho pequeno a médio (8-18 mm). Estas possuem pelos relativamente escassos, expondo assim, um tegumento metálico e brilhante, que variam entre tons de verdes e azuis brilhantes a violetas e acobreadas. Os machos possuem marcas brancas conspícuas visíveis no aparelho bucal, já as fêmeas possuem marcas similares, porém menores e menos conspícuas. Também possuem a língua de comprimento caracteristicamente maior que o dobro do tamanho corporal, em especial no subgênero *Glossura* Cockerell, 1917 ou ainda abelhas com língua menor que metade do corpo, em especial no subgênero *Euglossa s. str.* (MOURE, 1944; DRESSLER, 1982). O segundo maior grupo em número de espécies é o gênero *Eufriesea*, embora seja o menos conhecido (CAMERON, 2004). Os machos apresentam face com coloração verde metálica ou azulada e em geral tamanho corporal entre 13-27 mm (KIMSEY, 1982). Muitas espécies de *Eufriesea* são altamente sazonais, ou seja, os adultos aparecem apenas durante dois ou três meses do ano (geralmente na estação chuvosa), sendo assim mais difíceis de serem amostrados e por esse motivo são menos conhecidos (DRESSLER, 1982). O gênero *Eulaema* inclui as maiores espécies da tribo Euglossini (MOURE, 2000), cujo tamanho pode variar de 20 a 30 mm, com pilosidade relativamente densa e com o tegumento

desprovido de brilho metálico na cabeça e no mesossoma (OLIVEIRA, 2000). As abelhas do gênero *Exaerete* possuem tegumento brilhante, de coloração verde, azul esverdeado ou azul. Possuem escutelo tuberculado e tamanho corporal de 15-28 mm de comprimento. As fêmeas são cleptoparasitas dos ninhos de *Eufriesea* e *Eulaema* (DRESSLER, 1982). O gênero *Aglae* é representado por uma única espécie, *Aglae caerulea*. Essa espécie possui escutelo plano e liso, corpo com coloração azul escuro e tamanho de 23-25 mm de comprimento (DRESSLER, 1982). As fêmeas cleptoparasitam ninhos de *Eulaema*, em particular os ninho de *El. nigrita* (MYERS, 1935). Até pouco tempo atrás era considerada endêmica da floresta Amazônica entre Brasil, Bolívia, Guiana Francesa, Guiana, Peru Colômbia, Venezuela e Suriname (DRESSLER, 1982; KIMSEY, 1987; RAMÍREZ *et al.*, 2002; OTERO e SANDINO, 2003; CAMERON, 2004), contudo, foram registrados nos últimos anos, machos em regiões de transições entre floresta e cerrado (ANJOS-SILVA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2013; MARTINS *et al.*, 2016). Muito pouco é conhecido sobre a biologia das espécies cleptoparasitas, incluindo a relação parasita-hospedeiro e o comportamento reprodutivo (GARÓFALO e ROZEN, 2001).

As abelhas dessa tribo estão distribuídas exclusivamente na região Neotropical, podendo ser encontradas entre 30° de latitude norte e 32° de latitude sul, com algumas espécies ocorrendo além dos trópicos (REBÊLO, 2001). Além disso, há relatos de sua presença no sul dos Estados Unidos (MINCKLEY e REYES, 1996; SKOV e WILEY, 2005; GRISWOLD *et al.*, 2015). Possuem maior diversidade em florestas úmidas e apenas poucas espécies ocorrem em savanas e florestas de galeria (DRESSLER, 1982). São encontradas em regiões com baixas altitudes e latitudes (ROUBIK e HANSON, 2004; SKOV e WILEY, 2005), com algumas exceções, onde foram observadas algumas espécies a uma altitude de 2640 m (PERGER, 2015). Essas abelhas são consideradas polinizadores chave em florestas tropicais e subtropicais da América do Sul e América Central (TONHASCA *et al.*, 2003), sendo o Brasil e a Colômbia os países que possuem a maior riqueza de Euglossini (MOURE, 2000; MOURE *et al.*, 2001; MOURE e

SCHLINDWEIN, 2002; RAMÍREZ *et al.*, 2002; OLIVEIRA e NEMÉSIO, 2003; RAMIREZ, 2005; ANJOS-SILVA e REBÊLO, 2006; OLIVEIRA, 2006; PARRA-H *et al.*, 2006; MOURE *et al.*, 2007; NEMÉSIO, 2007; 2011; 2012; OLIVEIRA, 2011; FARIA Jr e MELO, 2011; FARIA Jr e MELO, 2012; NEMÉSIO e ENGEL, 2012; HINOJOSA-DÍAZ *et al.*, 2012; MOURE *et al.*, 2013; NEMÉSIO *et al.*, 2013).

É importante ressaltar que para algumas espécies de orquídeas neotropicais, os machos de Euglossini são os únicos visitantes florais, assim sendo, sua reprodução é completamente dependente desses insetos (DRESSLER, 1968; KROODSMA, 1975; WILLIAMS e WHITTEN, 1983; TOREZAN-SILINGARDI e DEL CLARO, 1998). Assim, apresentam uma elevada importância ecológica, visto que aproximadamente 10% das espécies de orquídeas são polinizadas por machos dessas abelhas (ROUBIK e HANSON, 2004). Essa estreita relação dos machos de abelhas Euglossini com plantas da família Orchidaceae levou ao conhecimento mundial desse grupo como “abelhas das orquídeas”.

Esta tribo inclui espécies de abelhas capazes de voar longas distâncias em florestas tropicais contínuas, existindo relatos de abelhas que percorreram distâncias de até 23 km, por isso são consideradas importantes polinizadores neotropicais de espécies de plantas com distribuição esparsa, entre outras (JANZEN, 1971). Ainda de acordo com um estudo mais recente, algumas espécies foram capazes de alcançar distâncias de voo de mais de 50 km em terrenos uniformes (POKORNY *et al.*, 2015), além disso, vale destacar sua imensa capacidade quanto a possibilidade de voo contínuo, “non-stop flight” termo usado em inglês, por mais de 11 km, como observado no estudo de genética de populações realizado entre o continente e ilhas no estado de São Paulo (BOFF *et al.*, 2014). Essas grandes distâncias de voo são percorridas em busca de recursos, que podem incluir, no caso das fêmeas, pólen e néctar para a alimentação, e resina para a construção de células (AUGUSTO, 1999). Os machos, após sua emergência, não retornam mais ao ninho de origem e podem voar grandes distâncias de acordo

com a variabilidade e distribuição dos recursos no ambiente, como néctar e compostos aromáticos (ROUBIK e HANSON, 2004). Coletam fragrâncias de uma variedade de recursos florais, inclusive flores de orquídeas, onde são encontrados frequentemente (ZUCCHI *et al.*, 1969; DRESSLER, 1982) e recursos não-florais, como frutos, substratos de árvores, raízes expostas e fungos (ACKERMAN, 1983b; WHITTEN *et al.*, 1993). O papel dos compostos aromáticos coletados e armazenados internamente nas tíbias das pernas posteriores ainda é investigado. As hipóteses existentes relacionam esse comportamento a aspectos da atividade sexual dos machos, como comportamento de corte e exibição territorial para as fêmeas (CAMERON, 2004). De acordo com Kimsey (1980) os compostos armazenados são utilizados na atração de machos coespecíficos para formação de agregações ou *leks* (termo utilizado em inglês) atrativas às fêmeas. Para Dressler (1982a) e Williams e Whitten (1983) eles são modificados para a produção de precursores de feromônios sexuais. Já para Eltz *et al.* (1999), Eltz *et al.* (2003) e Eltz *et al.* (2005) cada espécie utiliza um conjunto ou buquê de fragrâncias específico, que auxilia no reconhecimento do macho pela fêmea da mesma espécie, além de refletir sua qualidade em termos de fitness.

De acordo com Brosi *et al.* (2008) e Brosi (2009) as abelhas da tribo Euglossini podem ser consideradas como modelos potenciais de estudo devido ao extenso conhecimento taxonômico, a grande importância na polinização de plantas florestais, a existência de espécies sensíveis a alterações do habitat e a alta dependência de ambientes florestais.

Devido ao fato de os machos de Euglossini apresentarem o comportamento típico de serem atraídos por compostos químicos, podem ser usadas iscas aromáticas artificiais para captura-los, constituindo uma importante ferramenta para a realização de censos e levantamentos faunísticos desse grupo, de modo que constituem interessantes modelos para estudos futuros a respeito da qualidade ambiental e da preservação de áreas naturais e unidades de conservação (BROWN, 1991).

1.3 Técnicas morfométricas

Quanto ao estudo da variabilidade populacional, nos últimos anos, diferentes metodologias têm sido aplicadas para se determinar os padrões populacionais de diversas espécies de abelhas, gerando dessa forma inúmeras informações importantes a respeito dos parâmetros necessários para a conservação de populações (PACKER *et al.*, 2008; SHEFFIELD *et al.*, 2009; FRANCOY *et al.*, 2011). Dentre estes métodos de análise podemos citar técnicas morfométricas, como a morfometria geométrica e a assimetria flutuante.

1.3.1 Morfometria geométrica

As pesquisas científicas realizadas sobre o estudo da forma em organismos são de grande importância para o entendimento de caracteres evolutivos e ecológicos das espécies. De acordo com a literatura, esse interesse científico sobre a quantificação da forma dos seres vivos é bastante antigo. Segundo Moraes (2003), desde o início do desenvolvimento da História Natural e sobretudo depois da organização das ideias de evolução por seleção natural de Darwin e Wallace, um dos principais objetivos da pesquisa científica está relacionado às variações de forma e tamanho observadas nos organismos na Natureza.

O conceito de espaço surgiu naturalmente, como um conceito de lugar, ou seja, a terra. Começou com um desenvolvimento que os egípcios e os babilônios chamaram de "medida da terra" (MLODINOW, 2001). Através de uma visão histórica, essa necessidade de definição de unidades de medida está relacionada às cheias do rio Nilo que ocorria anualmente. Naquela época, em torno do rio existiam terras muito ricas em nutrientes, até então as terras mais férteis e lavráveis conhecidas do mundo. No entanto, os marcos de delimitação das propriedades eram

destruídos conforme ocorriam as tais cheias e devido a isso, constantes conflitos eram gerados entre os indivíduos e as comunidades que ali viviam e faziam o uso das terras não delimitadas (RODRIGUES, 2013). A palavra grega para a expressão “medida da terra” é geometria (*geo*= terra, *metrein*= medição), termo estabelecido pelo filósofo grego Tales de Mileto (~624-548 a.C), sendo os gregos os primeiros a perceber que a natureza poderia ser entendida empregando a matemática e que a geometria poderia ser aplicada para revelar, não apenas para descrever (MLODINOW, 2001). O trabalho de sistematização em geometria iniciado por Tales de Mileto tem continuidade nos séculos posteriores por meio dos pitagóricos (FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DE LISBOA, 2019). Mais tarde, no Egito, por volta de 300 a.C. Euclides de Alexandria (325-265 a.C.) descreve sobre a natureza do espaço bidimensional em sua obra “Os elementos”, utilizando o método dedutivo e o raciocínio lógico (MLODINOW, 2005). Logo, a Geometria Euclidiana, nome designado em homenagem ao trabalho de Euclides, organizou o conhecimento geométrico até então existente, sistematizando-o a partir de princípios e definições e procedendo com seu desenvolvimento de forma dedutiva (FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DE LISBOA, 2019). Coube a René Descartes (1596-1650), no século XVI, estabelecer a fusão entre a Geometria Euclidiana e a Álgebra, o que originou mais um campo da Geometria, a Analítica (EVES, 2007), assim ele descreve a geometria em termos de álgebra e permite o surgimento do cálculo diferencial e integral e a ideia de espaço curvo (MLODINOW, 2005). Assim, esta geometria e a sua descrição matemática convieram mais tarde como base teórica para a morfometria geométrica (FORNEL e CORDEIRO, 2012).

A ciência que se dedica ao estudo da forma e da estrutura dos organismos é chamada de “Morfologia”. Vale ressaltar que o conceito biológico do termo “Morfologia” foi desenvolvido pelo escritor alemão Johann Wolfgang von Goethe, em 1790, e confirmado pelo anatomista e fisiologista alemão Karl Friedrich Burdach, em 1800 (FIOCRUZ, 2019). No final do século

XIX, Francis Galton, W.F.R Weldon e Karl Person, estudaram a variação na forma dos organismos através de correlações entre as medidas de distâncias em estruturas biológicas, com isso deu-se início aos estudos de morfometria. Outros pesquisadores também colaboraram com avanços na morfometria, nos anos 30 do século XX, Georges Teissier criou a análise de componentes principais e R.A Fischer desenvolveu a análise da variância uni e multivariada, bem como a análise discriminante. Em 1965, foi criado o termo “morfometria”, proposto por R. Blackith, com base em seus estudos que avaliavam de maneira quantitativa a variação da forma dos organismos, relacionando tanto a forma como ao tamanho (MARCUS *et al.*, 1996; MONTEIRO e REIS, 1999).

Essa clara necessidade de quantificação da variação da forma biológica, apesar de antiga, somente no final dos anos 80 foi solucionada com a elaboração de uma metodologia relevante capaz de sintetizar as descrições geométricas através de análises estatísticas (MONTEIRO e REIS, 1999). A partir da publicação dos trabalhos de Colin R. Goodall em 1983 (GOODALL, 1991), do matemático e estatístico inglês David G. Kendall em 1984 (KENDALL, 1984) e do zoólogo e estatístico Fred L. Bookstein (BOOKSTEIN, 1984) ocorreu o surgimento do campo de pesquisa denominado *morfometria geométrica* ou análise estatística de formas (FORNEL e CORDEIRO, 2012), reflexo do resultado da busca dos pesquisadores em morfologia quantitativa por metodologias que compreendessem o caráter geométrico das formas biológicas e a possibilidade de um tratamento estatístico da variação (ZELDITCH *et al.*, 2004), iniciando-se uma nova área de estudo situada entre a biologia, a estatística e a geometria (MONTEIRO e REIS, 1999).

A morfometria pode ter duas diferentes abordagens: a morfometria tradicional, a qual analisa a variação e a covariação entre a distância de pares de pontos lineares ou ângulos e a morfometria geométrica, que consiste na análise multivariada das coordenadas Cartesianas de pontos anatômicos (*landmarks*) ou contornos marcados em estruturas homólogas, sendo mais

abrangente e possibilitando a análise de regiões específicas onde há diferença de forma entre organismos (REIS, 1988; ROHLF e MARCUS, 1993). A vantagem do uso das coordenadas Cartesianas em relação a medidas lineares, é que estas incluem informação sobre as posições relativas dos marcos anatômicos, permitindo assim a reconstrução da forma estudada (ROHLF e MARCUS, 1993), além disso, detectam variações morfológicas que frequentemente são indetectáveis por estudos de morfometria tradicional (VILLEMANT *et al.*, 2007).

A Morfometria Geométrica é um conjunto de teorias e técnicas no estudo da forma de estruturas biológicas em que são utilizados marcos anatômicos (ROHLF e MARCUS, 1993). De acordo com Monteiro e Reis (1999), pode ser conceituada como o estudo estatístico das mudanças e variações na forma e no tamanho ou a análise e mensuração de um componente complexo e multidimensional como a forma. Esta técnica pode ser utilizada para diferenciar as fases de desenvolvimento entre organismos e se há ou não dimorfismo sexual (REIS, 1988), além disso, tem se mostrado eficiente na identificação e separação de espécies, subespécies e ecotipos (FRANCOY *et al.*, 2008; 2009; 2016; FRANCOY e IMPERATRIZ-FONSECA, 2010; COMBEY *et al.*, 2013; BONATTI *et al.*, 2014; RATTANAWANNEE *et al.*, 2015; HALCROFT *et al.*, 2016; DOS SANTOS *et al.*, 2019). Dentre as atuais técnicas existentes, a de análises de posições relativas de marcos anatômicos vem se mostrando muito eficiente na diferenciação de grupos e nas avaliações de diversidade genética populacional. Este teste é baseado nas variações das coordenadas Cartesianas dos marcos anatômicos, o qual nos permite analisar e identificar as variações de forma entre estruturas morfológicas homólogas nos diferentes exemplares em estudo (ROHLF e MARCUS, 1993). Os marcos anatômicos são inseridos de acordo com a homologia da estrutura biológica a ser estudada, podendo ser classificados em três tipos: tipo 1, chamado de “Justaposição de tecidos”, o qual inclui pontos no espaço onde três estruturas se encontram, esses são altamente confiáveis; tipo 2, chamado de “Pontos de máxima curvatura ou outros processos morfogenéticos locais”, esses incluem

extremidades de processos e vales de invaginações, esses são mediamente confiáveis; tipo 3, chamado de “Pontos extremos”, os quais estão relacionados à maior distância que pode ser medida em uma estrutura, como diâmetros, extremidades de centróides e intersecção de segmentos entre marcos, porém esses são considerados deficientes quanto à homologia, portanto possuem baixa confiabilidade (BOOKSTEIN, 1991; MONTEIRO e REIS, 1999).

Para analisar as variações de forma entre duas ou mais configurações é necessário a aplicação de métodos que permitam avaliar a diferença entre as formas. Para isso diferentes métodos de sobreposição ou superposição das configurações de marcos anatômicos são utilizados, os quais normalmente tem como finalidade remover os efeitos de posição (translação), tamanho (proporcionalização) e orientação (rotação) (BOOKSTEIN, 1982; MONTEIRO e REIS, 1999). Entre eles podemos destacar a análise generalizada de Procrustes (*Generalized Procrustes Analysis - GPA*), na qual o ajuste generalizado é realizado pela superposição de cada espécime da amostra a uma configuração média ou “Configuração de Consenso” (que corresponde à média de todas as formas). O cálculo da configuração de consenso é realizado da seguinte maneira: uma configuração da amostra é escolhida aleatoriamente para inicialmente ser a configuração de referência. Logo após, todas as configurações da amostra são sobrepostas com base nos seus centroides (as coordenadas do centroide é dada pela média das coordenadas X e Y de cada marco anatômico nesta primeira configuração de referência e são movidas para a origem comum (0,0), através da translação, retirando assim o efeito de posição. Em seguida todas as configurações são redimensionadas para um tamanho uniforme (tamanhos de centróides iguais) e por último são rotacionadas para minimizar as diferenças entre marcos anatômicos correspondentes (distâncias de Procrustes minimizadas). Então, é calculado uma média para as coordenadas resultantes desta primeira superposição e o mesmo processo é repetido utilizando-se a média como referência, ou seja, sobrepondo todas as configurações a esta média. Uma nova média é calculada e o processo é

repetido até que não seja encontrada uma diminuição significativa nas distâncias de Procrustes entre as configurações, resultando em um alinhamento ideal (BOOKSTEIN, 1982; ROHLF e MARCUS, 1993; MONTEIRO e REIS, 1999; ADAMS *et al.*, 2004). Este alinhamento ocorre de forma em que a somatória das distâncias entre os marcos anatômicos homólogos correspondentes seja a menor possível (ROHLF, 1999).

Assim sendo, após esse processo as configurações ficam na mesma posição, no mesmo tamanho e são rotacionadas de maneira a diminuir a distância entre pontos homólogos. Essa distância é dada pela soma dos quadrados das distâncias entre pontos homólogos correspondentes e é chamada distância de Procrustes, a qual constitui a métrica do “espaço de forma de Kendall” (MONTEIRO e REIS, 1999). Portanto, a análise generalizada de Procrustes gera esse espaço de forma, o qual é um espaço curvo e não Euclidiano (KENDALL, 1984; DRYDEN e MARDIA, 1998; ROHLF, 1999; MONTEIRO *et al.*, 2000). Todos os métodos de morfometria geométrica baseiam-se no espaço de forma de Kendall, sendo este um espaço multidimensional curvo no qual cada forma representa um ponto (ROHLF, 1996). Neste espaço as distâncias são distâncias geodésicas, geralmente medidas em radianos (distância de Procrustes). Os métodos de estatística tradicionais pressupõem um espaço linear (i.e., distâncias Euclidianas), sendo assim, não podem ser aplicados às distâncias de Procrustes, ou seja, em um espaço curvo, não é possível utilizar métodos de análise estatística multivariada com os dados. Uma forma para analisar os dados é se fazer uma aproximação do espaço de forma por meio de uma projeção da forma num espaço tangente Euclidiano (espaço linear), de modo que as distâncias lineares entre pontos correspondam a projeções das distâncias de Procrustes originais, podendo-se assim aplicar a análise estatística linear (ROHLF, 1999; MONTEIRO e REIS, 1999). Após a GPA, para cada marco anatômico é gerado um resíduo de Procrustes, que seria a diferença entre a posição dos marcos anatômicos dos exemplares e a posição dos marcos anatômicos homólogos correspondentes da configuração de consenso (RODRIGUES e

SANTOS, 2003), gerando as variáveis de forma (resíduos de Procrustes) e uma variável de tamanho (tamanho de centroide) que são independentes do tamanho das estruturas, sendo assim possível analisar as diferenças de forma entre duas ou mais configurações. O tamanho de centroide é a raiz quadrada da soma das distâncias ao quadrado entre cada marco anatômico e o centroide ou centro de gravidade da forma (BOOKSTEIN, 1991).

De forma alternativa, a Análise de Deformações (*thin-plate splines*), ou seja, a deformação de placas finas é usada para mapear as deformações em uma grade de forma de uma configuração em outra. Com a utilização das grades de deformação é possível identificar a região da imagem que mais contribuiu para a discriminação da população (TOFILSKY, 2009). A função “*thin-plate splines*” modela o comportamento de uma placa de metal fina, de proporções lineares infinitas, na qual ocorre um processo de transformação, onde tem de ser deformada, com conseqüente gasto de energia, para ajustar uma configuração de marcos anatômicos da amostra que estão fixados sobre essa placa numa configuração referência de marcos que esteja abaixo dela, de maneira que essa configuração da amostra esteja superposta sobre a configuração de referência. Esse processo envolve apenas movimentos de inclinação e mudanças de direção da placa, resultando em energias de deformação iguais a zero. Como em uma placa real, a energia necessária para deformar uma configuração de marcos anatômicos depende da distância que esses se encontram uns dos outros, quanto mais próximos os marcos, mais energia é necessária para a deformação da placa (BOOKSTEIN, 1989; MONTEIRO e REIS, 1999). O termo “energia de deformação” refere-se à energia necessária para deformar uma certa região da placa de metal e não à energia utilizada para transformar a configuração da amostra numa configuração média (MONTEIRO e REIS, 1999). A força realizada para deformar a placa é uma quantificação das diferenças entre as formas, a partir disso é construída uma matriz com todas as distâncias entre os pares de pontos de referência utilizados (MORAES, 2003). A análise de deformação inicia-se com a decomposição da matriz de energia de

deformação, permitindo a criação de uma base vetorial (autovetores e autovalores) que descreve um subespaço linear localizado tangente ao espaço de forma. Os autovetores ortogonais desta matriz são denominados de deformações principais (“*Principal Warps*”) (BOOKSTEIN, 1989; MONTEIRO e REIS, 1999). A geometria dos *Principal Warps* é definida exclusivamente a partir das coordenadas da configuração de referência e descreve as direções possíveis de transformação no Espaço Tangente, ou seja, definem os principais eixos de deformações possíveis na Configuração de Referência (MORAES, 2003; RODRIGUES e SANTOS, 2003).

A modificação da forma estudada é dada pelas projeções das coordenadas de cada indivíduo nas deformações principais, gerando vetores de escores que indicam quanto de cada deformação principal é necessária para realizar a deformação desejada. Esses escores são denominados de *pesos* (ROHLF, 1993; 1996), pois ponderam as mudanças de forma em cada deformação principal (MONTEIRO e REIS, 1999), ou seja, descrevem o peso de cada deformação principal para transformar a configuração de referência na configuração dos indivíduos, sendo que o conjunto destes escores formam a matriz de pesos, **W** (ROHLF, 1993; MORAES, 2003). Esses vetores de escores são chamados de Deformações Parciais (*Partial Warps*) (BOOKSTEIN, 1991), que são uma característica de cada indivíduo, assim como as Deformações Principais eram características da referência. Assim, os componentes na matriz **W** descrevem cada exemplar como uma combinação linear das Deformações Principais. Quanto a análise das Deformações Relativas, estas correspondem ao mesmo que realizar uma Análise de Componentes Principais sobre a matriz **W**. Consequentemente são gerados novos autovetores, os quais são denominados Deformações Relativas (*Relative Warps*) que descrevem os eixos ortogonais de maior variação da forma a partir das Deformações Parciais. Desse modo, ao longo de alguns poucos eixos é possível capturar e representar a maior parte da variação, havendo uma redução no número de dimensões sem que ocorra perda da maior parte da informação (MORAES, 2003; ROHLF, 2017c).

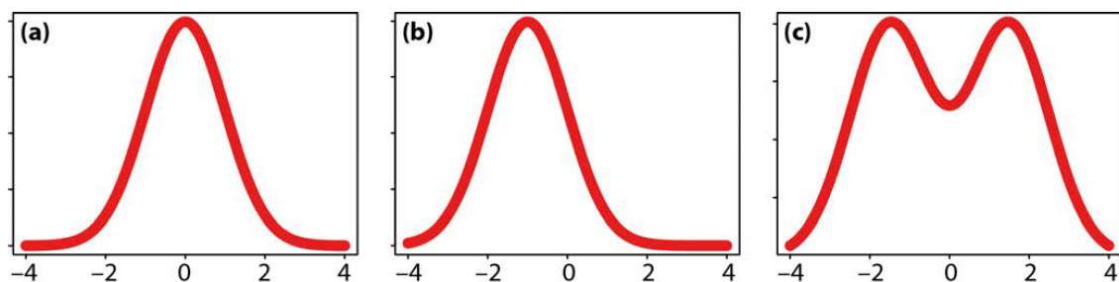
1.3.2 Assimetria flutuante

O conceito de assimetria flutuante (AF) foi introduzido em 1932 pelo biólogo alemão Wilhelm Ludwig que registrou em seu trabalho diversos exemplos e tipos de assimetrias em animais: grandes, pequenas, bilateral, helicoidal, morfológico e comportamental (PALMER, 2009). Apesar disso, apenas na década de 90 é que a AF chegou em seu auge nas pesquisas científicas, sendo publicados vários artigos no referente período sobre as manifestações e as causas da AF em vegetais, animais e seres humanos (MØLLER e SWADDLE, 1997; PALMER, 2000; KOWNER, 2001; KLINGENBERG, 2015).

Os insetos possuem um eixo mais longo que normalmente segue da cabeça à extremidade do abdômen, chamado de eixo anteroposterior, o qual divide o inseto em duas metades idênticas (ou quase idênticas), já que são organismos bilateralmente simétricos (RAFAEL *et al.*, 2012). Em organismos com simetria bilateral ocorre uma correlação das características pares entre os lados do indivíduo (DEL LAMA *et al.*, 2002). Visto que essas características estão diante do controle dos mesmos mecanismos genéticos e estão expostas às mesmas condições ambientais, presume-se que o estado normal de desenvolvimento garanta a perfeita simetria entre eles (VAN VALEN, 1962). Então, essa simetria pode ser alterada em decorrência do desvio na programação genética do organismo, o qual pode ocorrer em função de variações da qualidade ambiental, o que causa estresse durante o desenvolvimento (LEARY e ALLENDORF, 1989). Sendo assim, a assimetria de um indivíduo serve para mensurar quanto ele conseguiu tamponar seu desenvolvimento contra condições estressantes. Esta ausência ou alteração de uma ou mais características em um dos lados do indivíduo é chamada de assimetria flutuante, AF, a qual é frequentemente utilizada para se estimar a estabilidade do desenvolvimento (VAN VALEN, 1962; DEL LAMA *et al.*, 2002).

Tradicionalmente, a assimetria pode ser distinguida em três tipos (Figura 2) de acordo com a distribuição das diferenças entre os lados esquerdo-direito em uma população: assimetria flutuante (AF), assimetria direcional (AD) e antisimetria (AT) (VAN VALEN, 1962; PALMER e STROBECK, 1986; KLINGENBERG, 2015), sendo que esses tipos de assimetria existentes na natureza não são categorias exclusivas, podendo se sobrepor, por isso, para a distinção das mesmas dentro da população é necessário a análise de muitos indivíduos (VAN VALEN, 1962; KLINGENBERG, 2003, 2015).

Figura 2. Distribuições de frequência das diferenças entre os lados esquerdo-direito para três tipos principais de assimetria.



(a) Assimetria flutuante "pura". As diferenças esquerda-direita seguem uma distribuição em forma de sino com uma média de zero (sem assimetria direcional); (b) Assimetria direcional e flutuante. As diferenças esquerda-direita são distribuídas em torno de uma média que é diferente de zero, indicando assimetria direcional. A dispersão das diferenças individuais esquerda-direita em torno desta média é a assimetria flutuante; (c) Antisimetria. A distribuição das diferenças esquerda-direita é bimodal, indicando que a maioria dos indivíduos é claramente assimétrica, mas pode ser orientada para a esquerda ou para a direita. As unidades nos eixos das parcelas são arbitrárias. Fonte: Klingenberg (2015).

De acordo com Palmer (1994), a assimetria flutuante pode ser definida por pequenas variações aleatórias entre os lados direito e esquerdo nos organismos com simetria bilateral. O ruído ou erro de desenvolvimento compreende as alterações nos padrões normais durante o desenvolvimento devido a distúrbios de natureza genética ou ambiental (SCHEINER, *et al.*, 1991; MARKOW, 1995). Assim, devido a esses distúrbios serem aleatórios, a assimetria flutuante em uma população apresenta uma distribuição normal da diferença entre os lados com

média igual a zero ($D - E = 0$) (PALMER, 1996). Os indivíduos com assimetrias próximas de zero são mais comuns e os indivíduos muito assimétricos são raros (PALMER, 1994).

A assimetria direcional é um padrão de variação bilateral em uma amostra de indivíduos, onde existe uma diferença estatisticamente significativa entre os lados, mas o lado que é maior geralmente é o mesmo nos indivíduos da população (PALMER, 1994). Na assimetria direcional a distribuição da frequência dos resultados da subtração dos valores dos lados direito e esquerdo de determinado caráter possui uma distribuição normal com a média diferente de zero (VAN VALLEN, 1962; PALMER e STROBECK, 1992; PALMER, 1994). Temos como exemplo de assimetria direcional o coração dos mamíferos, onde o lado esquerdo é maior que o lado direito.

A antissimetria é um padrão de variação bilateral em uma amostra de indivíduos, onde existe uma diferença estatisticamente significativa entre os lados, sendo que o lado maior varia aleatoriamente entre os indivíduos (PALMER, 1994). Assim, a antissimetria é definida pela distribuição da frequência bimodal ou platicúrtica com média igual a zero entre os resultados da subtração dos valores dos lados direito e esquerdo de determinada estrutura (VAN VALLEN, 1962; PALMER e STROBECK, 1992; PALMER, 1994). Como exemplo temos os caranguejos do gênero *Uca*, os quais possuem às quelas sinalizadoras com um dos lados sempre maior que o outro, sendo que esta característica apresenta frequências semelhantes entre os lados direito e esquerdo numa população (PALMER, 2005).

Vale ressaltar que a assimetria direcional e a antissimetria surgem de um desenvolvimento normal do organismo para a formação do fenótipo assimétrico (PALMER e STROBECK, 1992; GRAHAM *et al.*, 1998; LEARY e ALLENDORF, 1989). Elas não retratam totalmente a estabilidade do desenvolvimento devido terem uma parte da origem de base genética e outra parte de um componente relacionado ao ambiente, impedindo de serem utilizadas como indicadores ambientais (PALMER e STROBECK, 1992; PALMER e STROBECK, 2003; VAN DONGEN *et al.*, 1999). Assim, a assimetria flutuante é a forma mais

utilizada para se medir a estabilidade do desenvolvimento, pois revela a ausência ou alteração de um ou mais caracteres em um dos lados da estrutura morfológica de um indivíduo (VAN VALLEN, 1962), que em seu estado normal deveria possuir simetria bilateral (HALLGRIMSSON *et al.*, 2002).

Os níveis de assimetria numa população podem ser avaliados através de ferramentas de morfometria tradicional (PALMER e STROBECK, 1986; PALMER, 1994; NUNES *et al.*, 2015) ou geométrica (KLINGENBERG, 2015; SAVRIAMA e KLINGENBERG, 2011; DE ANNA *et al.*, 2013; FERREIRA, 2016). No entanto, como a forma tem características multidimensionais e a morfometria geométrica considera todos os aspectos da variação da forma em uma estrutura e não apenas traços particulares, então os resultados das análises de assimetria de formas se tornam mais complexos do que os resultados de uma análise de assimetria utilizando medidas lineares feitas por morfometria tradicional (KLINGENBERG, 2015).

Durante as análises para avaliação dos níveis de assimetria é necessário evitar possíveis variações que podem ser provocadas por erros de medida, impedindo assim que sejam confundidas com algum tipo de assimetria. De acordo com Palmer e Strobeck (2003), essa dificuldade pode ser contornada colocando em prática alguns critérios, tais como a escolha adequada de caracteres, do tamanho amostral e a repetibilidade de medições.

Atualmente a perda da diversidade de abelhas tem sido um dos temas de estudo mais preocupantes para os pesquisadores da área. Visto que esses organismos são os principais responsáveis pela polinização das angiospermas, a busca por alternativas que possam auxiliar nesse problema é constante, sendo de grande importância as pesquisas voltadas para a conservação de espécies. De acordo com Wayne *et al.* (1986), Leary e Allendorf (1989) e Palmer (1996), a utilização da assimetria flutuante como índice de monitoramento biológico é uma ferramenta importante para estudos de biologia da conservação, pois revela possíveis

distúrbios que podem ter ocorrido durante o desenvolvimento de organismos. Sendo assim, através desta técnica foi possível analisar o perfil morfológico de asas direita e esquerda de espécies de abelhas Euglossini provenientes de ambas Unidades de Conservação, citadas anteriormente.

1.3.3 Modularidade e integração morfológica

A maioria dos organismos consiste em um conjunto de partes reconhecíveis que são coerentes de acordo com seu desenvolvimento, estrutura e função. O fato de que partes do corpo são facilmente identificáveis como entidades separadas reflete sua individualidade e uma certa independência umas das outras. Porém, essa independência está longe de ser completa, devido as partes dos organismos serem coordenadas entre si e integradas em todo o organismo. Essa relação entre coordenação e relativa independência foi utilizada nos conceitos de integração e modularidade (KLINGENBERG, 2008).

A modularidade e a integração morfológica surgiram como conceitos complementares (MITTEROECKER e BOOKSTEIN, 2007). O termo “integração morfológica” foi cunhado em 1958 em uma obra escrita por Olson e Miller, referindo-se às relações e conexões entre elementos morfológicos dos organismos. De modo empírico, nessa obra constatam que ao se estudar as relações entre vários caracteres quantitativos de um organismo, há grupos de caracteres altamente correlacionados entre si do que com outros caracteres, sendo assim, a integração morfológica é reconhecida pela detecção de grupos discretos de caracteres altamente correlacionados, denominados de “módulos” (CHERNOFF e MAGWENE, 1999; PIGLIUCCI e PRESTON, 2004; WAGNER *et al.*, 2007; PORTO *et al.*, 2009), sendo que no passado esses grupos eram chamados “plêiades de correlação” (BERG, 1960). Em organismos que apresentam uma organização modular, pressupõem-se um padrão de correlações altas entre

caracteres dentro dos módulos e correlações relativamente baixas entre os módulos (CHEVERUD, 1982, 1984; OLSON e MILLER, 1958).

Embora os módulos de desenvolvimento possam interagir um com o outro até certo nível, cada um é distinto em seu desenvolvimento e controle genético, exibindo um considerável grau de autonomia, a qual fornece a flexibilidade evolutiva necessária para alterações adaptativas de algumas partes de um organismo em relação a outras (RAFF, 1996; WAGNER, 1996; WAGNER e ALTENBERG, 1996; KIRSCHNER e GERHART, 1998; VON DASSOW e MUNRO, 1999; KLINGENBERG *et al.*, 2001). Olson e Miller (1958) estavam cientes da importância da integração morfológica como uma propriedade de variação das populações, com relação a capacidade dos caracteres evoluírem independentemente uns dos outros, além disso, também merecem crédito por fornecerem os primeiros métodos quantitativos, principalmente baseados em correlação estatística, para identificar empiricamente grupos de características fenotípicas que são fortemente integrados com base em fatores de desenvolvimento e/ou funcionais compartilhados (ROLIAN e WILLMORE, 2009).

Diante das condições ambientais atuais, as quais as abelhas e outros organismos podem estar sendo afetados, é interessante utilizar ferramentas que nos demonstram o estado atual das populações. Visto que a integração morfológica é um importante atributo para estudos de variação das populações, onde através da avaliação de caracteres dos organismos é possível verificar o quão estes estão relacionados e conseqüentemente sua capacidade de evolução (mudanças adaptativas) independente uns dos outros (OLSON e MILLER, 1958), é interessante a realização de um estudo sobre a covariação de possíveis conjuntos de caracteres morfológicos encontrados na asa anterior das abelhas, através de testes de hipótese de modularidade.

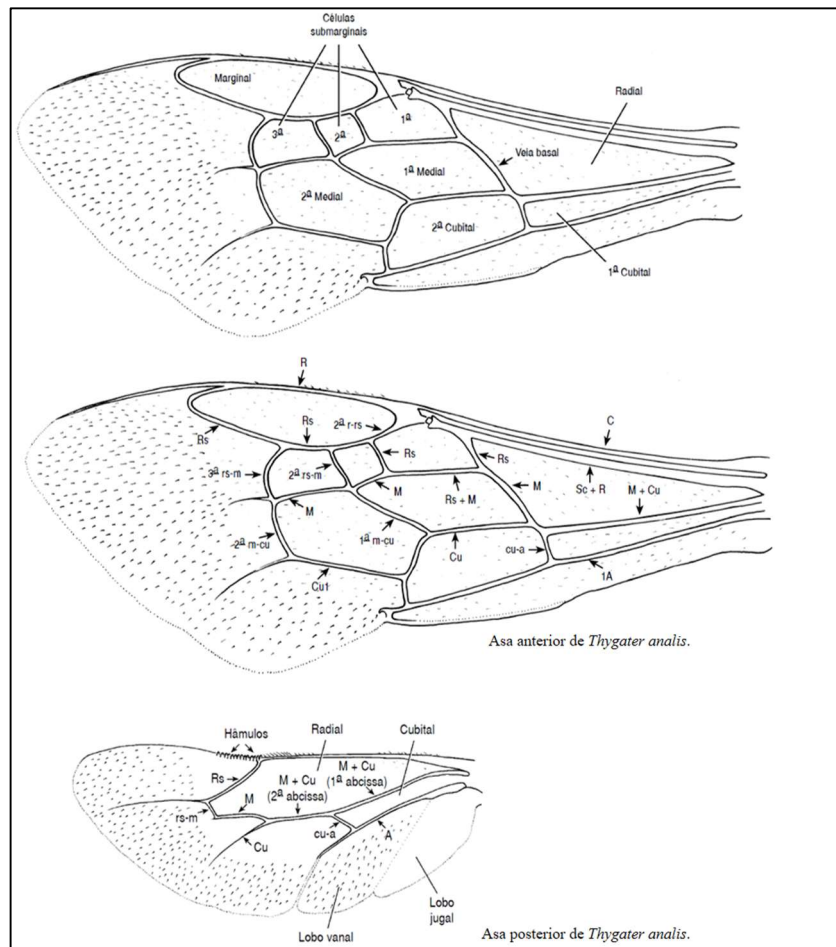
Nos insetos, as asas têm sido a principal estrutura utilizada em estudos que visam avaliar a covariância entre compartimentos com base nos processos funcionais e de desenvolvimento

(KLINGENBERG e ZAKLAN, 2000; KLINGENBERG *et al.*, 2001; BREUKER *et al.*, 2007; BENITÉZ *et al.*, 2014; FERREIRA, 2016).

1.4 Estrutura utilizada para as análises

As abelhas possuem dois pares de asas, um par inserido no mesotórax e outro, menor, no metatórax. Dorso-lateralmente, protegendo a inserção das asas, encontra-se um pequeno esclerito chamado tégula (SILVEIRA *et al.*, 2002a). As asas dos insetos são expansões do integumento da parede do corpo, por isso possuem a mesma constituição: cutícula, epiderme e membrana basal. Esses componentes aparecem em camada dupla, bem compactada, formando uma membrana, tendo a cutícula como revestimento da superfície da membrana ventral e dorsal. Dependendo da espécie, as duas camadas de integumento ficam separadas em locais específicos, os quais possuem a cutícula mais espessa e mais dura, formando as veias. Portanto, a asa é constituída por áreas membranosas, delimitadas por veias (RAFAEL *et al.*, 2012). O sistema de veias alares forma as “células” na superfície das asas, as quais recebem nomes específicos que estão discriminados na figura 3, essas podem estar ausentes ou apresentar diferentes tamanhos e/ou formas em diferentes grupos de abelhas. As asas posteriores possuem em sua margem anterior pequenos ganchos que são chamados de “hâmulos”. Esses se prendem a uma bainha existente na margem posterior das asas anteriores, possibilitando assim que ambas as asas se movimentem como uma estrutura única durante o voo (SILVEIRA *et al.*, 2002a).

Figura 3. Nomes específicos designados as células e veias alares. Fonte: SILVEIRA *et al.*, 2002a.



Os genes da rede de padronização de asas são conservados em grande parte dos grupos de insetos holometábolos (CARROLL *et al.*, 1994) por 300 milhões de anos (LEBANDEIRA, 1998), como verificado em estudos com *Drosophila melanogaster* e formiga (HELD, 2002; ABOUHEIF e WRAY, 2002). Nos holometábolos, as asas se desenvolvem dentro do corpo a partir de um conjunto especializado de células chamado discos imaginais (HELD, 2002; CRUZ-LANDIM, 2009). Através da expressão do gene *dpp* (*decapentaplegic*) no disco imaginal da asa, ocorre a ativação ou desativação do gene *engrailed*, o qual determina o desenvolvimento do compartimento posterior e anterior, respectivamente (HELD, 2002). É provável que haja módulos de desenvolvimento que se interajam para formar a estrutura final da asa, visto que os compartimentos anterior e posterior da asa anterior e as asas anteriores e posteriores possuem

origem a partir de células sujeitas a diferentes expressões gênicas (KLINGENBERG *et al.*, 2001; KLINGENBERG, 2003; 2004; 2008).

Mountcastle e Combes (2013) realizaram testes de rigidez à flexão de asas de *Bombus impatiens* e seus resultados demonstram que uma única articulação com a proteína resilina na asa da abelha contribui significativamente à flexibilidade geral da asa. A proteína resilina possui propriedades conhecidas como baixa rigidez, alta tensão e alta eficiência elástica (WEIS-FOGH, 1961), além de estar frequentemente associada a flexibilidade das articulações das asas (HAAS *et al.*, 2000a; HAAS *et al.*, 2000b; DONOUGHE *et al.*, 2011; GORB, 1999), sendo assim a resilina tem um papel importante na determinação da rigidez geral da asa, visto que, essa proteína está mais concentrada na parte mediana da asa, dividindo-a em partes proximal e distal (MOUNTCASTLE e COMBES, 2013).

As asas de abelhas são estruturas bastante apropriadas para realização de estudos morfométricos. Isso devido às suas características que corroboram para a aplicação das técnicas morfométricas, tais como, sua forma praticamente bidimensional e o grande número de marcos anatômicos do tipo 1 (marcos que se caracterizam por serem inseridos em estruturas caracterizadas como justaposição de tecidos) possíveis de serem inseridos nas nervuras alares (BOOKSTEIN, 1991; MONTEIRO e REIS, 1999), além de ser uma estrutura facilmente mensurada. Oldroyd *et al.* (1991) em análises utilizando abelhas africanizadas e europeias, verificou que os caracteres morfológicos da asa, são bastante satisfatórios para discriminar ecótipos, pois são altamente hereditários e possuem um alto nível de variabilidade genética entre os ecótipos. Visto que a asa possui características que colaboram para as análises morfométricas, podemos destacar sua extrema importância para avaliação das populações de abelhas do presente estudo.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Com base nas informações mencionadas acima e a fim de conhecer mais sobre a biodiversidade de abelhas da Mata Atlântica, foram escolhidos dois parques ecológicos do estado de São Paulo, onde propusemos um estudo geral sobre a ecologia de comunidades, a variabilidade morfológica de populações de abelhas da tribo Euglossini e aspectos de covariação entre possíveis conjuntos de caracteres morfológicos (módulos) identificados na asa, através de análises dos padrões de venação das asas, utilizando ferramentas de morfometria geométrica, assimetria flutuante e o teste de hipótese de modularidade.

Assim, temos como objetivos específicos:

- Estimar a diversidade (riqueza e abundância) e a sazonalidade de abelhas da tribo Euglossini em ambos os parques;
- Conhecer os fatores ambientais que influenciam na riqueza e abundância das espécies;
- Conhecer o efeito de diferentes iscas com compostos aromáticos na atratividade das espécies;
- Avaliar os níveis de assimetrias (assimetria flutuante, assimetria direcional e variação individual) entre as asas direita e esquerda dos indivíduos amostrados da espécie *Euglossa pleosticta*;
- Utilizar o método de morfometria geométrica a fim de entender aspectos de covariação da forma das asas (compartimentos anterior e posterior e das partes proximal e distal da asa anterior) dos indivíduos amostrados da espécie *Euglossa pleosticta*;
- Investigar a variação no padrão morfométrico das asas anteriores entre as populações da espécie *Eulaema nigrita* provenientes de ambos os parques;
- Investigar os níveis de assimetrias entre as asas direita e esquerda dos indivíduos da espécie *Eulaema nigrita* e compará-los entre as localidades onde foram amostrados.

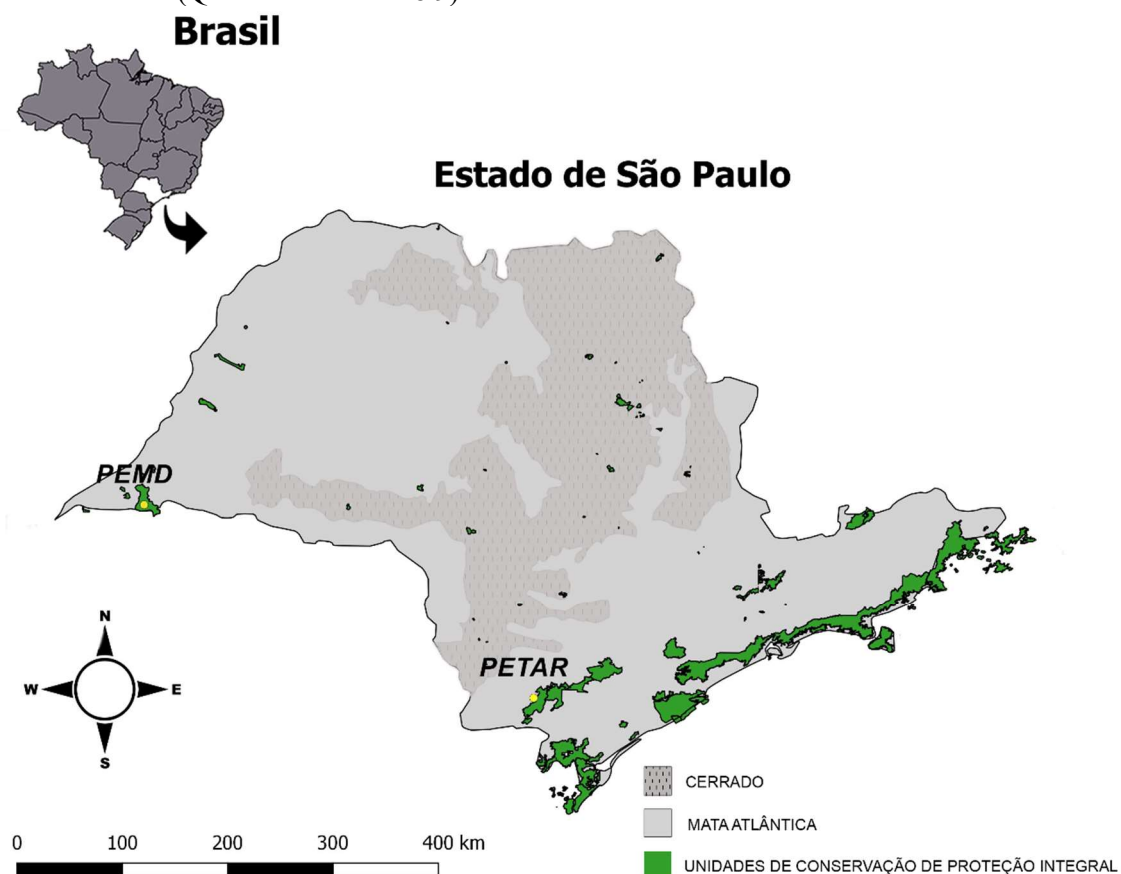
MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Áreas de estudo

Para realização do estudo, foram realizadas amostragens em dois parques ecológicos do estado de São Paulo: Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira – PETAR e Parque Estadual Morro do Diabo – PEMD (Figura 4), localizados em extremos diferentes do estado de São Paulo, um ao extremo sul, outro ao extremo oeste, respectivamente, sendo a distância geográfica, em linha reta, entre os pontos de coleta de cada um dos locais, de aproximadamente 428 quilômetros.

Figura 4. Mapa de localização do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira - PETAR e Parque Estadual Morro do Diabo - PEMD. (QGIS Software 2.18.9).



O PETAR, possui localização geográfica compreendida entre as coordenadas 24° 27' 36" S e 48° 36' 0" W, situado na extremidade sul do estado de São Paulo, nas escarpas da Serra de Paranapiacaba, na transição entre a Baixada do Ribeira e o Planalto Atlântico entre os municípios de Apiaí e Iporanga. Possui uma área de 35.712 ha, abrigando as mais extensas áreas contínuas de remanescentes de Mata Atlântica (Floresta Ombrófila Densa) no Brasil e, conseqüentemente, as maiores concentrações de unidades de conservação da Mata Atlântica, protegendo as florestas, as cavernas e seus habitantes (SISTEMA AMBIENTAL PAULISTA, 2016b). Localizado em uma região de confluência de vários sistemas de circulação atmosférica (atlântico, polar, tropical), tem seu clima classificado como Cfb-Subtropical úmido sem estação seca e com verão fresco, segundo o sistema de Köppen (1948). Os dados de precipitação para a região de Iporanga indicam uma média anual que varia de 1.500 mm a 2.000 mm, com a maior precipitação média mensal ocorrendo no mês de janeiro e a menor em agosto (LEPSCH *et al.*, 1990). De acordo com Karmann e Ferrari (2002), para o período de 1970 à 1996, a média anual de precipitação foi de 1963,3 mm, sendo que a estação chuvosa (outubro a março) concentra 1281,5 mm e a estação mais seca (abril a setembro), 681,8 mm, com médias térmicas anuais normalmente entre 20° a 22° C e amplitudes térmicas anuais relativamente baixas, em grande parte devido à presença da vizinhança oceânica.

O segundo Parque Ecológico, PEMD, possui localização geográfica compreendida entre as coordenadas 22°27' 0" S e 52°10' 0" W, o qual situa-se no Pontal do Paranapanema, município de Teodoro Sampaio, extremo oeste do estado de São Paulo. O PEMD possui uma área de aproximadamente 33.845 ha de floresta tropical estacional semidecidual (mata atlântica de interior) com grande diversidade de espécies, além de preservar uma das últimas áreas de floresta de planalto do país, com ecossistemas ainda originais da região. O clima da região é do tipo fundamental CWA, ou seja, clima seco, verão quente e úmido e macro térmico subtropical (KÖPPEN, 1948). O regime de chuvas da região é influenciado pelo relevo e pelas massas de

ar. No verão, aflui a massa equatorial continental quente, úmida e muito instável, que acarreta chuvas intensas e frequentes. No inverno, a região é invadida pelas massas tropicais atlânticas e equatoriais atlântica, secas e instáveis, produzindo um período seco bem definido. A pluviosidade apresenta valores entre 1.100 mm e 1.300 mm anuais. De acordo com dados climáticos coletados, em termos médios anuais, durante um período contínuo de 26 anos de observação, de 1977 a 2002, a temperatura mínima oscila entre 11,1°C à 13,6°C (maio a agosto) e a temperatura máxima entre 27,6°C a 32,8°C (setembro a abril). A temperatura média anual da região é de 21°C (SÃO PAULO, 2006).

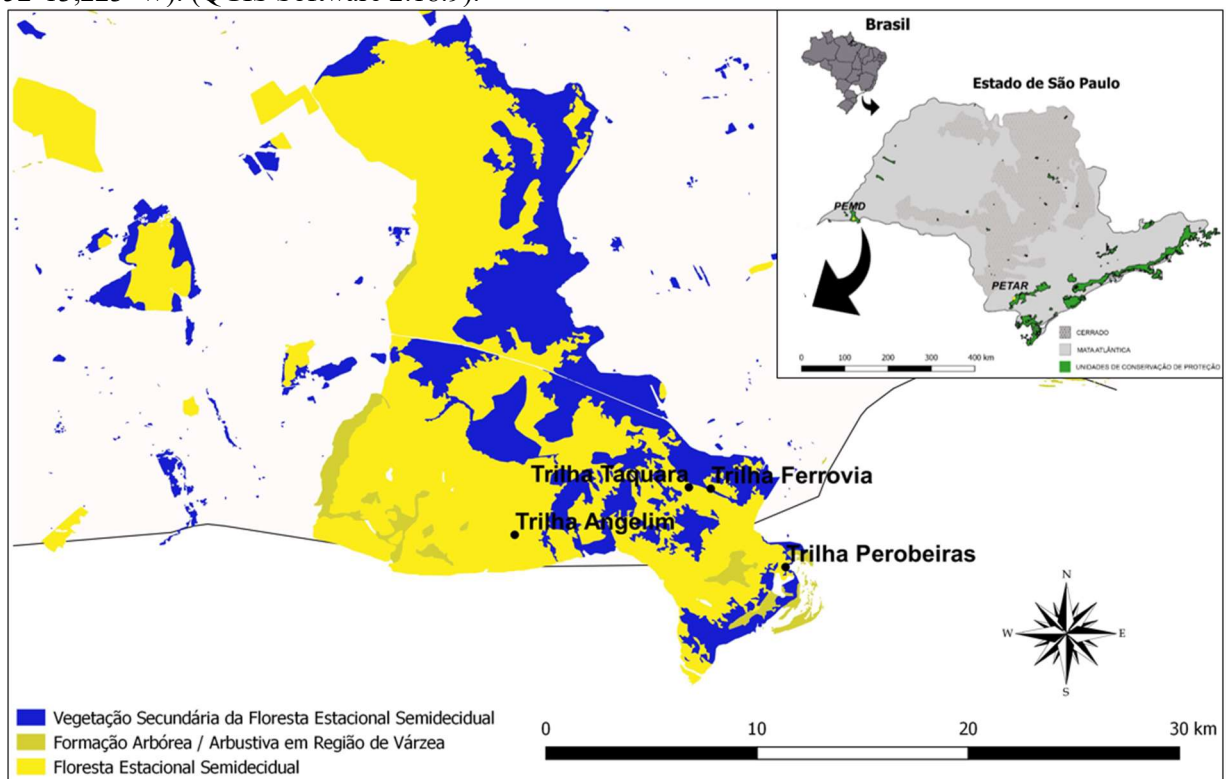
3.2 Amostragem

Amostragens mensais foram realizadas entre maio/2014 e abril/2015, sendo um dia de coleta para cada um dos parques ecológicos do estado de São Paulo. Os pontos de coleta amostrados dentro do PEMD podem ser visualizados nas figura 5 e 6 e no PETAR nas figuras 7 e 8.

No PEMD, a primeira coleta (maio/2014) foi realizada na trilha das Perobeiras (22°37,204' S e 52°10,550' W), localizada próximo a sede receptiva do parque, devido o acesso a outras trilhas localizadas no interior da mata estar fechado, impedindo a passagem de veículos, além disso, não havia disponibilidade de guia para instrução sobre a localização das trilhas. Já na segunda coleta (junho/2014) foi possível o acesso ao interior da mata, porém como não havia disponibilidade de guia, escolhemos a trilha Ferrovia (22°35,037' S e 52°12,618' W) como ponto de coleta, devido ser um local de fácil localização e acesso. Na terceira coleta (julho/2014) com a presença de um guia, escolhemos a trilha Angelim (22°36,313' S e 52°18,039' W). Na quarta coleta (agosto/2014) havia um tronco de árvore impedindo a passagem para a trilha Angelim, assim optamos pela trilha Taquara (22°35,000' S

e 52°13,223' W) e assim sucessivamente até a décima coleta. Devido a um outro tronco de árvore bloqueando a passagem para a trilha Taquara, a décima primeira e a décima segunda coletas foram realizadas na trilha Angelim. Portanto, no total obtivemos quatro pontos de amostragem dentro do PEMD (Figura 5 e 6).

Figura 5. Mapa de localização dos quatro pontos de amostragem dentro do Parque Estadual Morro do Diabo – PEMD: Trilha das Perobeiras (22°37,204' S / 52°10,550' W); Trilha Ferrovia (22°35,037' S / 52°12,618' W); Trilha Angelim (22°36,313' S / 52°18,039' W); Trilha Taquara (22°35,000' S / 52°13,223' W). (QGIS Software 2.18.9).



A seguir, na figura 6, podemos observar a vista das trilhas onde foram realizadas as amostragem das abelhas da tribo Euglossini no PEMD.

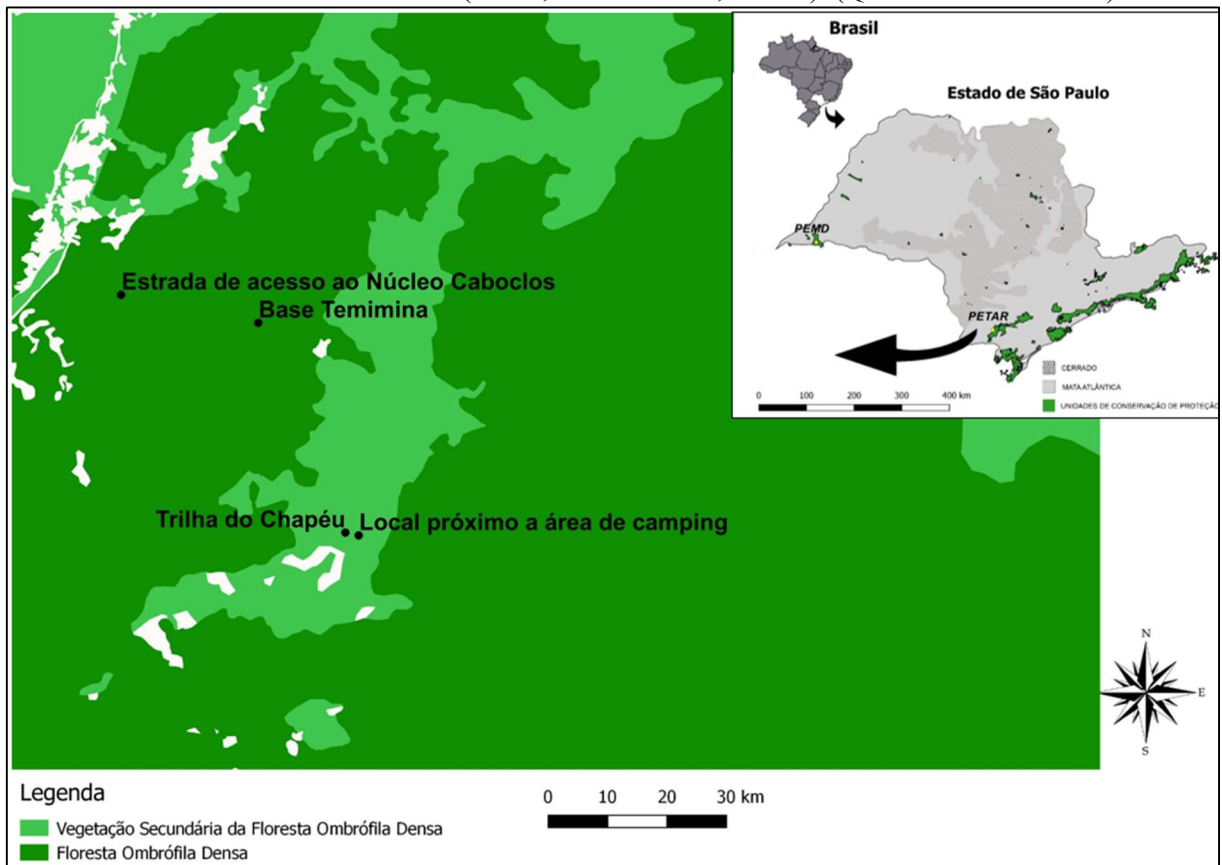
Figura 6. Vista dos pontos de amostragem dentro do Parque Estadual Morro do Diabo - PEMD. **(A)** Trilha das Perobeiras ($22^{\circ}37,204' \text{ S} / 52^{\circ}10,550' \text{ W}$); **(B)** Trilha Ferrovia ($22^{\circ}35,037' \text{ S} / 52^{\circ}12,618' \text{ W}$); **(C)** Trilha Angelim ($22^{\circ}36,313' \text{ S} / 52^{\circ}18,039' \text{ W}$); **(D)** Trilha Taquara ($22^{\circ}35,000' \text{ S} / 52^{\circ}13,223' \text{ W}$). (Fotos: Clycie Aparecida da Silva Machado).



No PETAR as coletas foram realizadas em quatro pontos (Figura 7), sendo que a escolha dos pontos de amostragem foi realizada de acordo com as condições apresentadas na estrada de acesso em cada um dos meses de coleta. A primeira coleta (maio/2014) foi realizada próximo a área de camping do Núcleo Caboclos ($24^{\circ}26,124' \text{ S}$ e $48^{\circ}35,190' \text{ W}$). Já na segunda coleta (junho/2014) não foi possível o acesso ao mesmo ponto escolhido inicialmente devido a uma abertura ocorrida na estrada devido a grande quantidade de chuva, assim, escolhemos um local próximo a base Temimina (posto de controle de vigias) ($24^{\circ}24,006' \text{ S}$ e $48^{\circ}36,192' \text{ W}$). A terceira e quarta coletas foram realizadas na trilha do Chapéu, localizada próximo a área de camping do Núcleo Caboclos ($24^{\circ}26,096' \text{ S}$ e $48^{\circ}35,323' \text{ W}$). Na quinta coleta (setembro/2014), devido a um tronco de árvore no meio do percurso, foi necessário realizar a

coleta próximo a estrada de acesso ao Núcleo Caboclos (24°23,727' S e 48°37,558' W), sendo assim, esse ponto foi escolhido durante as coletas subsequentes (outubro/ 2014 a março/2015), exceto a última coleta, a qual foi realizada próximo a base Temimina.

Figura 7. Mapa de localização dos pontos de coleta amostrados dentro do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira – PETAR: Local próximo a área de camping (24°26,124' S / 48°35,190' W); Trilha do Chapéu (24°26,096' S / 48°35,323' W); Local próximo a base Temimina (24°24,006' S / 48°36,192' W); Estrada de acesso ao Núcleo Caboclos (24°23,727' S / 48°37,558' W). (QGIS Software 2.18.9).



A seguir, na figura 8, podemos observar a vista dos locais referentes aos pontos de coleta dentro do PETAR.

Figura 8. Vista dos pontos de amostragem dentro Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira – PETAR. **(A)** Trilha do Chapéu ($24^{\circ}26,096' S / 48^{\circ}35,323' W$); **(B)** Estrada próximo a base Temimina ($24^{\circ}24,006' S / 48^{\circ}36,192' W$); **(C)** Estrada de acesso ao Núcleo Caboclos ($24^{\circ}23,727' S / 48^{\circ}37,558' W$). (Fotos: Clycie Aparecida da Silva Machado).



Devido ao comportamento de coleta de fragrâncias voláteis pelas abelhas da tribo Euglossini, é possível a utilização de fragrâncias análogas às aquelas presentes em flores para atraí-las. Por isso, para a atração dessas abelhas, foram utilizadas iscas odoríferas com os seguintes compostos químicos: acetato de benzila, eucaliptol, eugenol, salicilato de metila e vanilina. As cinco iscas foram confeccionadas a partir de um chumaço de papel absorvente amarrado com barbante, o qual foi fixado nas ramagens das árvores a uma altura de 1,5 m do solo, a uma distância de 5 m entre si, sendo que a reposição de cada fragrância em cada um dos chumaços de papel foi realizada a cada noventa minutos, segundo a metodologia utilizada por Rebêlo e Garófalo (1991). As coletas foram realizadas dentro de um período de quatro horas por dia, entre as 9h e 13h. As abelhas foram capturadas com auxílio de uma rede entomológica e posteriormente colocadas em frascos individuais contendo informações sobre a data, local,

isca, horário de coleta e número do indivíduo (numeração dada ao indivíduo de forma sequencial, no momento da coleta, ao longo de todo o ano de amostragem em ambas localidades). Além dos indivíduos coletados nas iscas aromáticas, também foram coletados os indivíduos (machos ou fêmeas) que ficavam sobrevoando as proximidades dos pontos de coletas. Todos os indivíduos capturados foram mortos em álcool etílico 96%.

Posteriormente, todos os indivíduos amostrados foram trazidos para o laboratório e armazenados em freezer. Em seguida foi realizada a identificação dos espécimes até o nível de espécie através do uso de chaves de identificação publicadas por Kimsey (1979, 1982), Dressler (1982b), Rebêlo e Moure (1995), Oliveira (2006), Anjos-Silva e Rebêlo (2006) e Nemésio (2009), seguindo os critérios de distribuição das espécies apresentadas em Moure's Bee Catalogue (Moure *et al.*, 2008). Todas as dúvidas surgidas durante o processo de identificação foram esclarecidas com o auxílio do técnico especializado José Carlos Serrano, pertencente ao Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

3.3 Dados meteorológicos

Os dados referentes a precipitação e temperatura média mensal dos municípios de Teodoro Sampaio-SP e Apiaí-SP para o mesmo período de amostragem, foram obtidos através da consulta no banco de dados pertencente ao Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas (CIIAGRO) do estado de São Paulo. Já os dados referentes a temperatura e umidade relativa média local dentre às 9h e 13h dos dias em que foram realizadas as coletas foram obtidos a partir de um relógio termo higrômetro digital, instalado no dia da coleta em cada um dos locais amostrados.

3.4 Ecologia das abelhas da tribo Euglossini

As abelhas foram caracterizadas qualitativa e quantitativamente, em número de indivíduos (abundância) e número de espécies (riqueza). As análises ecológicas descritas a seguir foram realizadas apenas para os indivíduos coletados no PEMD, pois a amostragem realizada no PETAR ficou comprometida devido a interferência de condições ambientais apresentadas durante as coletas. Os índices de diversidade de espécies foram calculados pela função de Shannon-Wiener (Pielou, 1975), dada pela fórmula: $H' = -\sum p_i \ln p_i$, onde: $p_i = n_i/N$ (n_i = número de indivíduos da espécie i ; N = número de indivíduos total da amostra) e \ln = logaritmo neperiano. A dominância foi obtida pelo índice de Berger-Parker (d) (Magurran, 2003), sendo o valor desse índice obtido por: $d = N_{\text{máx}}/N$, onde: $N_{\text{máx}}$ é o número de indivíduos da espécie mais abundante e N o número total de indivíduos amostrados na área. A uniformidade da distribuição de abundância entre as espécies foi calculada pelo índice de equabilidade (Pielou, 1966) segundo a fórmula: $J' = H' / H_{\text{max}}$, onde: H' , é o índice de Shannon-Wiener e H_{max} , é o logaritmo neperiano (\ln) do número total de espécies na amostra, sendo a variação deste índice entre 0 e 1.

Foram realizadas análises de correlação entre as variáveis: abundância dos indivíduos e riqueza de espécies relacionados com a temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação, dos indivíduos amostrados em ambos os parques, utilizando o programa de estatística STATISTICA 8.0 (STATSOFT, 2007).

3.5 Análises morfométricas

Para as análises morfométricas, as espécies mais abundantes em cada parque foram avaliadas sob o ponto de vista morfométrico, visando determinar os padrões de venação de asas

como subsídio para a identificação e diferenciação de grupos e na avaliação de diversidade morfológica das populações. No PETAR foi escolhida a espécie *Eulaema nigrata* e no PEMD foram escolhidas duas espécies: *Euglossa pleosticta* e *Eulaema nigrata*.

Para realização da análise que envolve a classificação dos indivíduos da espécie *Euglossa pleosticta* por período de desenvolvimento, assumimos que todos os espécimes emergiram no mesmo mês em que foram coletados, além disso consideramos que o tempo de duração do desenvolvimento embriológico dos indivíduos foi de quatro meses, baseando-se em trabalhos realizados com observações sobre o comportamento de nidificação, iniciando com a ovoposição até a emergência do adulto, sendo as espécies: *Euglossa cordata*, de 46 à 83 dias (n=120) com a média de $59,3 \pm 10,3$ dias para fêmeas (n=65) e em média $61,3 \pm 9,8$ dias para machos (n=55) (GARÓFALO, 1985) e *Euglossa annectans*, de 75 a 87 dias ($\bar{x}=80,6 \pm 3,8$ dias; n = 13) (GARÓFALO *et al.*, 1998b). No entanto, a duração deste período pode ser afetada por condições climáticas, de modo que diferentes valores foram obtidos para diferentes estações para a espécie *Euglossa townsendi*, sendo que na estação quente e úmida o período de desenvolvimento de ovo para adulto entre os machos (foi de 54 - 74 dias; $\bar{x} = 58,5 \pm 4,1$ dias; n = 26) e fêmeas (foi de 52 - 75 dias; $\bar{x} = 61,9 \pm 6,8$ dias; n = 35) e na estação fria e seca, machos (64 - 127 dias; $\bar{x} = 86,2 \pm 27,9$ dias; n = 4) e fêmeas (61 - 127; $\bar{x} = 93,5 \pm 23,8$ dias; n = 14) (AUGUSTO e GARÓFALO, 2004).

Deste modo, os indivíduos da espécie *Euglossa pleosticta* foram classificados em grupos de acordo com seu período de desenvolvimento. Sendo a estação quente/úmida representada de setembro à março e a estação fria/seca de abril à agosto e considerando que o tempo total de desenvolvimento de cada indivíduo foi de quatro meses, temos os seguintes grupos: indivíduos com desenvolvimento de fevereiro/2014 a maio/2014 (2 meses na estação quente/úmida e 2 meses na estação fria/seca); de março/2014 a junho/2014 (1 mês quente/úmida e 3 meses fria/seca); de abril/2014 a julho/2014 e de maio/2014 a agosto/2014 (4 meses na

estação fria/seca); de junho/2014 a setembro/2014 (3 meses fria/seca e 1 mês quente/úmida); de julho/2014 a outubro/2014 (2 meses fria/seca e 2 meses quente/úmida); de agosto/2014 a novembro/2014 (1 mês fria/seca e 3 meses quente/úmida); de setembro/2014 a dezembro/2014; de outubro/2014 a janeiro/2015; de novembro/2014 a fevereiro/2015; de dezembro/2014 a março/2015 (4 meses na estação quente/úmida).

3.5.1 Preparação das asas

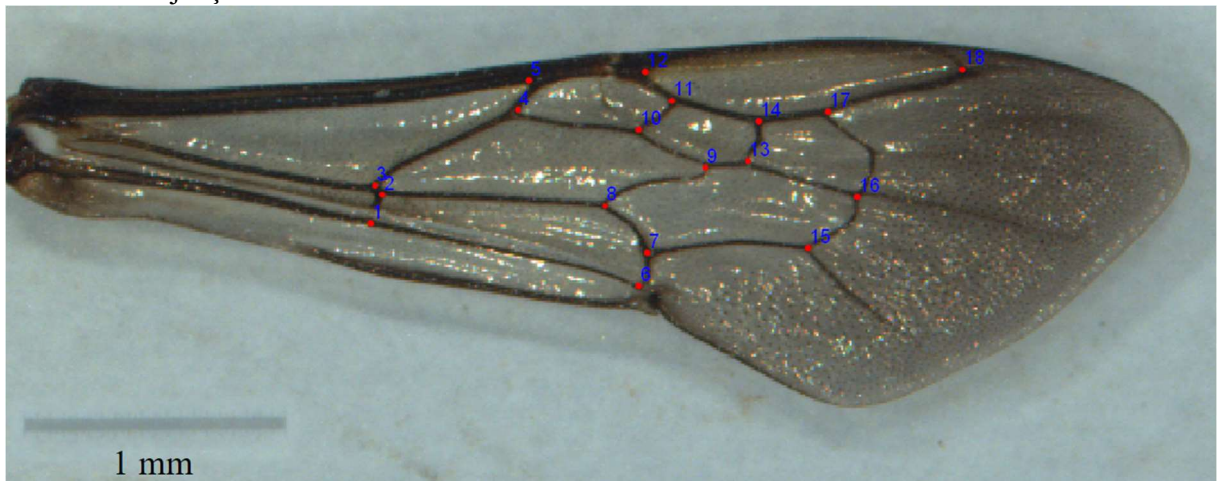
As asas anteriores direita e esquerda de todos os indivíduos foram retiradas com o auxílio de uma pinça, posicionadas em uma lâmina e posteriormente fixadas com uma lamínula, a qual foi selada com base incolor, a mesma utilizada em unhas. Em seguida a lâmina foi identificada com o nome da espécie, localidade da coleta, número da lâmina, número do indivíduo (número de tombo contido nos espécimes, o qual foi dado de forma sequencial conforme os indivíduos iam sendo coletados ao longo de todo o ano de coleta). Todas as asas tiveram suas imagens fotografadas por uma câmera digital, modelo Leica DFC 500, acoplada a um estereomicroscópio, modelo Leica MZ 16 e foram armazenadas de forma digital em um computador.

3.5.2 Aquisição de dados

Para a realização dos estudos de morfometria geométrica é necessário a aquisição de dados contendo as coordenadas Cartesianas dos pontos anatômicos homólogos presentes nas asas. Para isso utilizamos dois programas de computadores da linha TPS (Thin-Plate Spline) desenvolvidos por F. James Rohlf. Primeiramente, foi utilizado o software tpsUtil64 versão 1.74 (ROHLF, 2017a) para a construção do arquivo com extensão .tps, que serve como um

banco de dados para armazenamento das coordenadas Cartesianas dos marcos anatômicos marcados nas imagens. Posteriormente utilizamos o arquivo criado com a extensão “.tps” como entrada no software tpsDig32 versão 2.30 (ROHLF, 2017b) e em seguida foram marcados 18 pontos anatômicos homólogos nas junções das nervuras das células das asas, os quais 17 são do tipo 1 e apenas um do tipo 2 (Figura 9), seguindo a mesma ordem de marcação para todos os indivíduos, de acordo com a ordenação estabelecida por Franco *et al.* (2012), sendo que para a escolha dos pontos anatômicos seguiu-se os critérios propostos por Zelditch *et al.* (2004), os quais os marcos anatômicos: (1) devem ser homólogos, inseridos na mesma posição anatômica; (2) não alteram suas posições topológicas em relação a outros pontos de referência; (3) fornecem cobertura adequada da morfologia, onde o número de marcos deve estar bem distribuído para facilitar a avaliação das diferenças morfológicas; (4) são confiáveis e podem ser encontrados repetidamente; (5) encontram-se dentro do mesmo plano dimensional.

Figura 9. Imagem de uma asa anterior direita de *Euglossa pleosticta* com 18 pontos anatômicos marcados nas junções de nervuras das células das asas utilizados nas análises morfométricas.



Para as análises de assimetria flutuante (AF), todas as imagens das asas anteriores direita e esquerda foram duplicadas, de modo que cada indivíduo possuiu no total quatro imagens de asas (anterior direita cópia 1, anterior direita cópia 2, anterior esquerda cópia 1, anterior

esquerda cópia 2), isso para que pudéssemos calcular possíveis variações provocadas por erro de marcação, os quais se não mensurados poderiam servir de viés no cálculo da AF (PALMER, 1994; KLINGENBERG, 2015).

Logo após a marcação das imagens das asas, o arquivo gerado “. tps” continha todas as informações à respeito das coordenadas Cartesianas “x” e “y” de cada um dos 18 pontos anatômicos inseridos em cada asa, o qual serviu como banco de dados para entrada no software MorphoJ versão 1.06a (KLINGENBERG, 2011), no qual foram realizadas todas as análises exploratórias e estatísticas. Todos os softwares utilizados nesse trabalho são de livre acesso e disponíveis na internet (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/> e http://www.flywings.org.uk/morphoj_page.htm).

3.5.3 Obtenção das variáveis de forma e tamanho

O arquivo “.tps” gerado após a digitalização dos marcos anatômicos continha todas as informações originais à respeito das coordenadas Cartesianas de cada ponto, por isso antes de realizar as análises exploratórias e estatísticas é necessário realizar um alinhamento ideal de todas as configurações das imagens, afim de gerar as variáveis de forma e tamanho a serem analisadas. Para isso utilizamos um método de sobreposição, a análise generalizada de Procrustes (*Generalized Procrustes Analysis - GPA*), no qual o objetivo é remover os efeitos de posição (translação), tamanho (escalonamento) e orientação (rotação) das imagens originais. Esse método faz a otimização via método de quadrados mínimos para os parâmetros de translação e rotação (ADAMS *et al.*, 2004) e é o primeiro passo a ser realizado no software MorphoJ, onde no menu “*Preliminaries*” selecionamos a opção “*New Procrustes Fit*”, que ao ser acionada realiza automaticamente um ajuste completo de Procrustes. O ajuste generalizado é realizado pela superposição de cada espécime da amostra a uma configuração média,

“Configuração de Consenso” ou “Configuração de Referência” (que corresponde à média de todas as formas) e então o processo de translação, escalonamento e rotação é realizado, resultando em uma média de todas as formas. Em seguida, o método de superposição é repetido com cada exemplar sobreposto nesta nova média, uma nova média é obtida e o processo é efetuado mais uma vez até que não seja encontrada uma diminuição significativa nas distâncias de Procrustes entre os pontos homólogos das configurações, resultando assim em um alinhamento ideal. Após a análise, para cada marco anatômico foi gerado um resíduo de Procrustes, que seria a diferença entre a posição dos marcos anatômicos dos indivíduos e a posição do marco anatômico homólogo correspondente da configuração de consenso, gerando variáveis que são independentes do tamanho das estruturas, permitindo assim que as análises ficassem baseadas exclusivamente na variação da forma das estruturas, ou seja, apenas a forma das estruturas foi comparada. Assim, através da GPA foram obtidas as variáveis de forma (resíduos de Procrustes) e uma variável de tamanho (tamanho de centróide), para serem avaliadas através de métodos de análise estatística multivariada.

Devido a análise generalizada de Procrustes gerar um espaço de forma curvo e não Euclidiano é necessário fazer uma aproximação do espaço de forma por meio de uma projeção da forma num espaço tangente euclidiano, no qual pode-se então aplicar análise estatística linear. No software MorphoJ os dados foram projetados do espaço de forma de Kendall para o espaço tangente por projeção ortogonal (DRYDEN e MARDIA, 1998).

A modificação da forma estudada é dada pelas projeções das coordenadas de cada indivíduo nas deformações principais, gerando vetores de escores, chamados de Deformações Parciais (*Partial Warps*), que descrevem o peso de cada deformação principal para transformar a configuração de referência na configuração dos indivíduos, gerando assim as grades de deformação (ROHLF, 1993). Assim sendo, os resíduos de Procrustes seriam valores de deformações parciais, através dos quais a informação da forma foi extraída.

3.5.4 Análises dos dados morfométricos

Após a GPA, o segundo passo realizado no software MorphoJ versão 1.06a (KLINGENBERG, 2011) foi gerar uma matriz de covariância que foi utilizada como variável para as análises: Análise de Componente Principal (PCA), Análise de Variáveis Canônicas (CVA), cálculo das distâncias de Mahalanobis entre os centros dos grupos, Análise da Função Discriminante (DFA) e o teste de validação cruzada, sendo todas essas análises também realizadas no mesmo software.

A partir dos resíduos de Procrustes das coordenadas Cartesianas alinhadas dos 18 marcos anatômicos em duas dimensões (eixo X e Y), foi realizada uma PCA que gerou 32 medidas de deformações relativas (Componentes Principais), sendo $K = 2n - 4$, onde “K” representa o número de deformações relativas, “2” é o número de dimensões, “n” é o número de marcos anatômicos plotados e “4” é o número de graus de liberdade perdidos após a Análise Generalizada de Procrustes. Cada uma das medidas de deformações relativas (Componentes principais) descrevem uma porcentagem de variação da forma.

Então, a PCA é usada apenas como uma análise exploratória para caracterizar a variação da forma, determinando grupos *a posteriori*, examinando as amostras no espaço sem considerar sua origem. Os resultados da PCA podem ser visualizados em três tipos de gráficos: *PC shape change* (gráfico da mudança de forma), *Eigenvalue* (porcentagem da variância total para cada PC) e *PC scores* (gráfico de dispersão dos valores de PC) (KLINGENBERG, 2011).

A CVA foi utilizada com a finalidade de discriminar grupos em um conjunto de dados, sendo aplicada para encontrar uma estrutura característica que melhor distingue os grupos. Através de combinações lineares foi possível analisar a similaridade ou a dissimilaridade de grupos em conjuntos de dados, sendo assim um dos tipos mais comuns de análise em

morfometria (KLINGENBERG, 2011). Além disso, esta análise também fornece como resultado as distâncias quadradas de Mahalanobis e as distâncias de Procrustes entre os centroides dos grupos.

A DFA foi utilizada para se obter a probabilidade de classificação correta e incorreta entre grupos (KLINGENBERG, 2011). Essa análise realiza a validação cruzada (LACHENBRUCH, 1967) para avaliar a confiabilidade da classificação de seus resultados. O valor resultante desta análise representa a probabilidade de que um indivíduo qualquer retirado ao acaso da amostragem seja corretamente classificado dentro do seu respectivo grupo.

Para verificar a porcentagem da contribuição relativa de cada um dos marcos anatômicos foi realizado uma análise de deformação relativa utilizando outro programa da linha TPS (Thin-Plate Spline) desenvolvidos por F. James Rohlf, o software tpsRelw versão 1.69 (ROHLF, 2017c). O primeiro passo foi inserir o arquivo de dados “.tps” gerado após a digitalização dos marcos anatômicos no programa tpsDig. Em seguida, foram acionados os botões: "*Consensus*" (para calcular a configuração do consenso e para alinhar todos os espécimes), "*Partial warps*" (para calcular as deformações principais e deformações parciais) e "*Relative warps*" (para calcular as deformações relativas que resumem a variação de forma entre os espécimes. Ao final, o programa fornece um relatório, no qual consta a contribuição relativa de cada marco anatômico. Vale ressaltar que a análise de Deformação Relativa equivale a realizar uma Análise de Componentes Principais sobre os dados com as coordenadas Cartesianas de cada marco anatômico dos exemplares após serem submetidos ao ajuste generalizado de Procrustes.

3.5.4.1 Análises de assimetria

Para verificar a diferença das variáveis de forma (resíduos de Procrustes) e tamanho (tamanho do centróide) entre as asas direita e esquerda, foi realizada uma análise de Procrustes ANOVA (KLINGENBERG e MCINTYRE, 1998; SAVRIAMA e KLINGENBERG, 2011; KLINGENBERG, 2015). Através desta análise foram obtidos efeitos em três níveis: indivíduo (variação individual: variação entre as médias de ambos os lados de cada indivíduo); lado (Assimetria direcional - AD: a diferença entre os lados é indicada através da comparação da forma média das asas direita e esquerda de todos os indivíduos); indivíduo x lado (Assimetria flutuante - AF: variação das assimetrias individuais) (KLINGENBERG e MCINTYRE, 1998; SAVRIAMA e KLINGENBERG, 2011; KLINGENBERG, 2015; FERREIRA, 2016). Sendo assim a AD é quantificada como a assimetria média (média da variação da diferença entre os lados direito e esquerdo de todos os indivíduos), enquanto a AF é considerada como a variação das assimetrias individuais (SAVRIAMA e KLINGENBERG, 2011).

Sabe-se que o fator de variação de tamanho interfere na forma (KLINGENBERG, 2009; 2016), devido a isso, os efeitos alométricos das asas anteriores foram calculados através da análise de regressão multivariada, onde os componentes simétricos (variação individual) e assimétricos (assimetria flutuante) são as variáveis dependentes e o tamanho do centróide é a variável independente (KLINGENBERG e ZAKLAN, 2000; KLINGENBERG, 2009, 2016). Simultaneamente à análise de regressão multivariada, foi realizado um teste de permutação (10000 ciclos) como um teste de significância (KLINGENBERG, 2016). Logo após, matrizes de covariância foram geradas a partir dos resíduos da análise de regressão multivariada, referente aos componentes simétrico (variação individual) e assimétrico (assimetria flutuante). A partir da análise de componentes principais (PCA) das matrizes de covariância dos resíduos das análises de regressão multivariada dos componentes simétrico e assimétrico, obtivemos respectivamente, os padrões de variação individual e de assimetria flutuante das asas

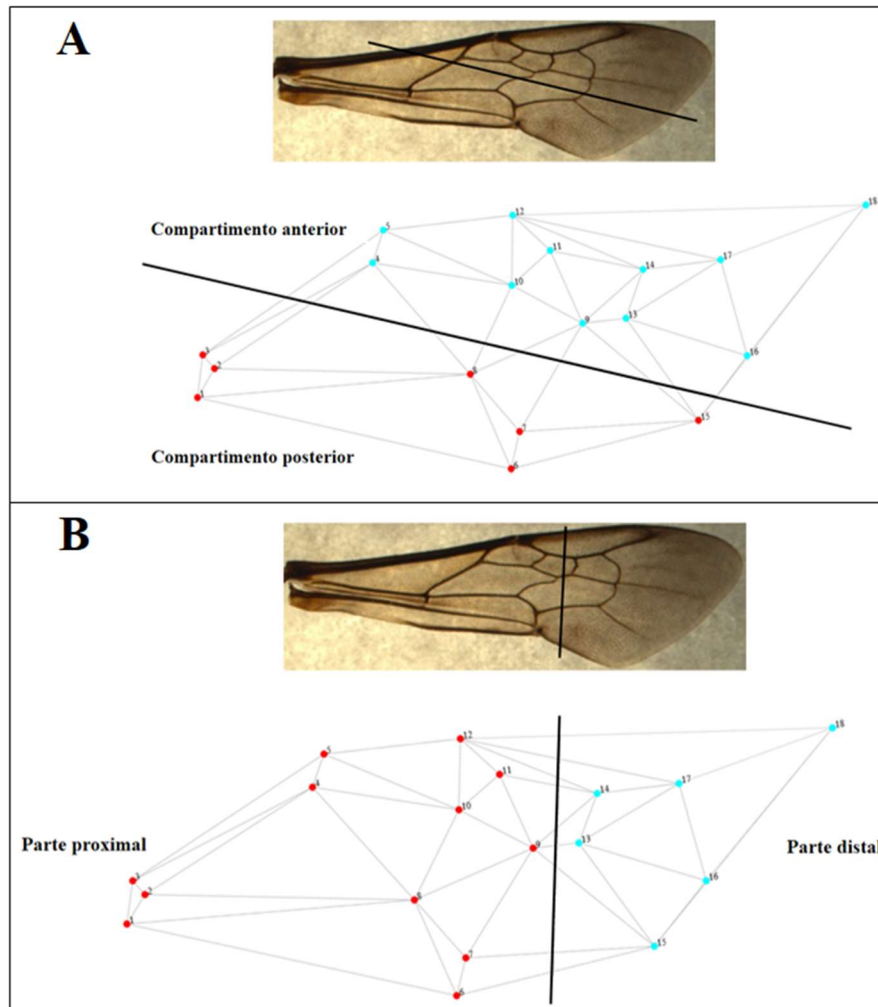
(KLINGENBERG e ZAKLAN, 2000; KLINGENBERG *et al.*, 2001; SAVRIAMA e KLINGENBERG, 2011; FERREIRA, 2016).

Nas análises com a espécie *Euglossa pleosticta*, foram utilizados dois tipos de classificadores, sendo uma avaliação entre indivíduos e outra análise dos indivíduos por períodos de desenvolvimento, sendo as amostras provenientes do PEMD. Já para a espécie *Eulaema nigrata* foi verificado a variação na simetria entre as asas direita e esquerda entre as amostras provenientes das diferentes localidades: PEMD e PETAR.

3.5.4.2 Modularidade

Após realizar a análise de Procrustes ANOVA, obtivemos a matriz de covariância dos componentes simétricos (variação individual) e, através dessa matriz, foi possível testar hipóteses de modularidade no nível de variação individual (KLINGENBERG, 2009; KLINGENBERG, 2015). Para isso, a asa direita foi dividida em: compartimentos anterior/posterior e partes proximal/distal, seguindo as mesmas hipóteses propostas por Ferreira (2016), sendo cada um desses representados por um conjunto de marcos anatômicos (Figura 10) e assim a covariância entre eles foi calculada. Os compartimentos anterior e posterior da asa de *Eg. pleosticta* foram identificados com base na homologia das veias das asas de *Drosophila*, de acordo com o trabalho realizado por Comstock (1918), visto que estudos específicos sobre os compartimentos das asas de Hymenoptera são inexistentes. As partes distal e proximal foram definidas de acordo com o estudo de Mountcastle e Combes (2013), o qual realizou um mapeamento da proteína resilina em asas anteriores de abelhas do gênero *Bombus*, onde observou que essa proteína está mais concentrada na parte mediana da asa, dividindo-a em partes proximal e distal.

Figura 10. Hipótese de modularidade testadas na asa anterior direita de *Euglossa pleosticta*. Figura A: hipótese da divisão da asa anterior em dois compartimentos: anterior (onze marcos anatômicos em azul) e posterior (sete marcos anatômicos em vermelho). Figura B: hipótese da divisão da asa anterior em partes proximal (doze marcos anatômicos em vermelho) e distal (seis marcos anatômicos em azul).



A hipótese de modularidade é avaliada através do resultado referente ao coeficiente RV, o qual possui valores entre 0 e 1, sendo que resultados mais próximos de 0 indicam que os conjuntos de marcos anatômicos são independentes e quanto mais próximos de 1 são completamente integrados. Adicionalmente, um teste de permutação (10000 permutações) foi realizado como um teste estatístico de covariância contra a hipótese nula de independência entre o conjunto de marcos anatômicos (KLINGENBERG *et al.*, 2001; KLINGENBERG, 2009; FERREIRA, 2016).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Ecologia das abelhas da tribo Euglossini













Foram coletados no total 747 indivíduos, sendo 719 do PEMD e 28 do PETAR, sobre os quais a seguir foi realizado um estudo a respeito da ecologia de comunidades em cada uma das localidades. Assim como Dressler (1982a), utilizaremos as abreviações *Ef.*, *Eg.*, *El.* e *Ex.* para os gêneros *Eufriesea*, *Euglossa*, *Eulaema* e *Exaerete*, respectivamente.



4.1.1 PEMD

4.1.1.1 Abundância de indivíduos, riqueza de espécies e distribuição sazonal

Dentre os 719 indivíduos coletados no PEMD, 705 estão representados por machos de 11 espécies, distribuídos em quatro gêneros, *Eufriesea* (Cockerell), *Euglossa* (Latreille), *Eulaema* (Lepeletier) e *Exaerete* (Hoffmannsegg) e 14 fêmeas representadas por duas espécies, ambas do gênero *Euglossa* (Latreille). Os indivíduos machos amostrados estão distribuídos em duas espécies do gênero *Eufriesea*, oito espécies de *Euglossa*, uma espécie de *Eulaema* e uma espécie de *Exaerete*, os quais podemos verificar na tabela 1.

Tabela 1. Frequência relativa e flutuação sazonal das espécies de abelhas Euglossini amostradas em áreas do Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio - SP, no período compreendido entre maio/2014 a abril/2015.

Espécies	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Total	
													N	%
<i>Ef. smaragdina</i> (Perty, 1833)									1				1	0.1
<i>Ef. violacea</i> (Blanchard, 1840)						12	36	2					50	7.0
<i>Eg. spp.</i> (fêmea)									1	1			2	0.3
<i>Eg. annectans</i> (Dressler, 1982)	2	1	1	2	3	13	5			1	1	7	36	5.0
<i>Eg. cordata</i> (Linnaeus, 1758)				1		1	5	3	4	2	1		17	2.4
<i>Eg. fimbriata</i> (Moure, 1968)			3	1	1			2	8		1	2	18	2.5
<i>Eg. leucotricha</i> (Rebêlo e Moure, 1996)				1									1	0.1
<i>Eg. pleosticta</i> (Dressler, 1982)		1	12	65	6	2	50	39	128	41	110	62	516	71.8
<i>Eg. pleosticta</i> (fêmea)				1	2	2	6	1					12	1.7
<i>Eg. securigera</i> (Dressler, 1982)									1				1	0.1
<i>Eg. truncata</i> (Rebêlo e Moure, 1996)								1			1		2	0.3
<i>El. nigrita</i> (Lepelletier, 1841)	3		1	2		2	3	2	28	6	6	2	55	7.6
<i>Ex. smaragdina</i> (Guérin, 1844)	1					1	2		2		2		8	1.1
Número de indivíduos	6	2	17	73	12	33	107	50	173	51	122	73	719	100
Número de espécies	3	2	4	6	3	6	6	6	8	5	7	4	12	
Diversidade (H')	1,01	0,69	0,89	0,54	1,20	1,46	1,34	0,91	0,89	0,71	0,47	0,56	1,05	
Equidade (J')	0,92	1	0,64	0,30	1,09	0,81	0,75	0,51	0,43	0,44	0,24	0,40	0,42	

(N) Número de indivíduos coletados; (%) Valores em porcentagem para cada espécie; Estação fria/seca: ; Estação quente/úmida: ; (H') Índice de diversidade de Shannon-Wiener (Pielou, 1975); (J') Índice de equabilidade (Pielou, 1966).

Verificou-se que *Eg. pleosticta* foi a espécie com o maior número de indivíduos registrados, correspondendo a 73,5% da abundância total, com índice de dominância de Berger-Parker (d) igual a 0,73. Em seguida estão as espécies *El. nigrita* (7,6%), *Ef. violacea* (7%) e *Eg. annectans* (5%). Já as outras espécies foram menos abundantes, representadas por menos que 2,5% da abundância total no PEMD.

Pode ser verificado que a espécie *Ef. violacea* apresentou comportamento sazonal, sendo amostrada apenas nos meses de outubro, novembro e dezembro, período pertencente ao início da estação chuvosa. De modo diferente, outras espécies como *Eg. annectans*, *Eg. pleosticta* e *El. nigrita*, foram amostradas abundantemente ao longo do ano. Já a espécie *Ex. smaragdina*, conhecida como cleptoparasita de *El. nigrita*, foi amostrada apenas em cinco meses de coleta.

Outras espécies como *Eg. leucotricha*, *Eg. securigera*, foram amostradas em apenas um único mês e *Eg. truncata* durante dois meses.

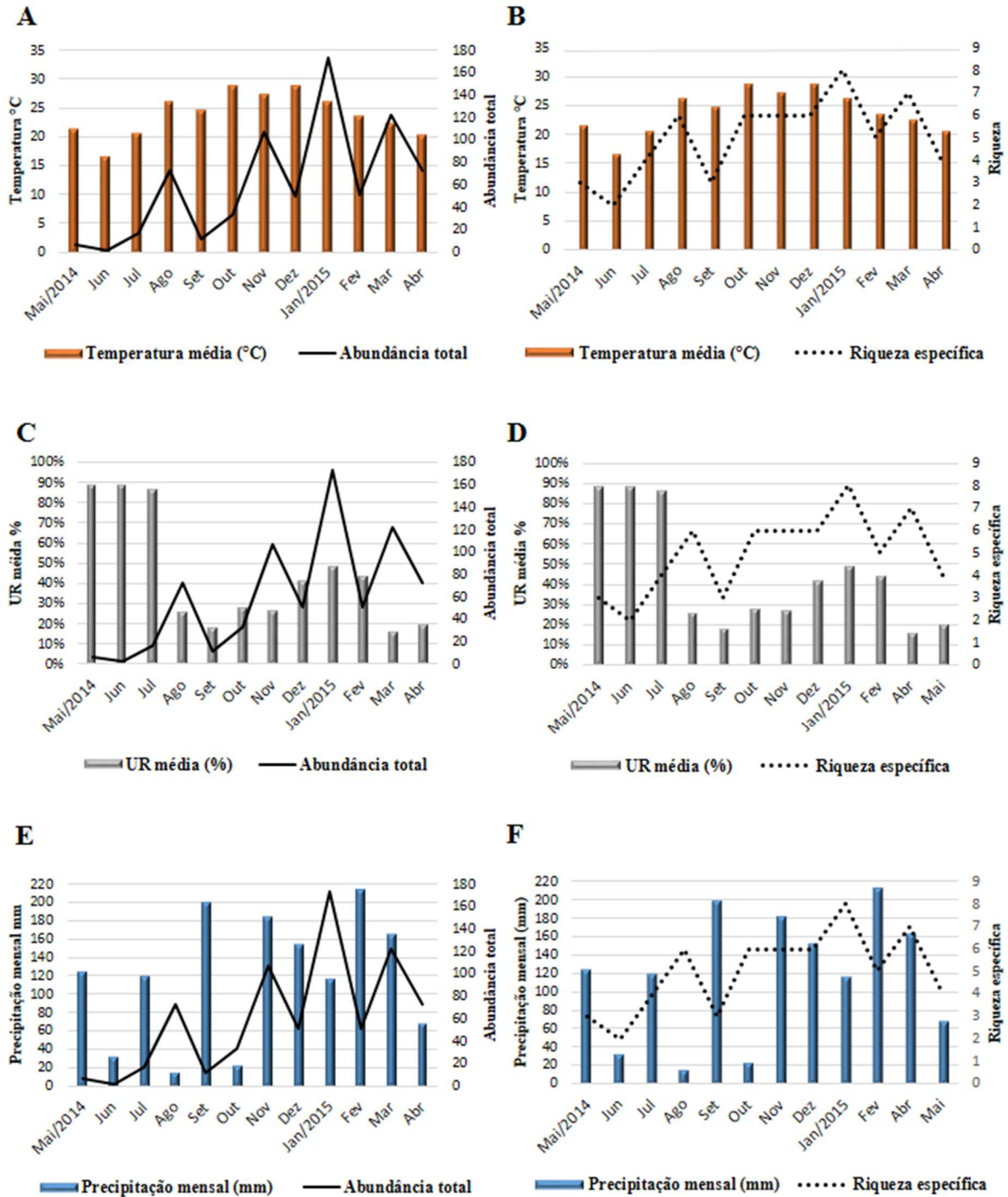
4.1.1.2 Abundância de indivíduos e riqueza de espécies relacionados a fatores ambientais

Ao longo do período de amostragem no PEMD o clima apresentou dois períodos distintos, uma estação quente/úmida, compreendida entre os meses de setembro/2014 à março/2015, com temperaturas médias mensais variando de 24,2°C a 28,3°C, período no qual a precipitação média foi de 150 mm e outra estação fria/seca, com temperaturas médias mensais variando de 19,3°C a 25,1°C e precipitação média de 72 mm.

Quanto aos dados referentes a abundância de indivíduos e riqueza de espécies amostrados no PEMD relacionados com a temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação, podemos visualizá-los na figura 11.

Podemos verificar nesses resultados que houve quatro picos de abundância durante todo o ano. Dentre eles, os maiores foram três, os quais ocorreram durante a estação quente/úmida, representados pelos meses de novembro/2014, janeiro e março/2015 e um menor pico, comparado aos outros três, o qual está representado pelo mês de agosto/2014, marcado pelo final da estação fria/seca. Portanto, conforme pode ser verificado nos gráficos, a maior frequência de indivíduos ocorreu na estação quente/úmida.

Figura 11. Amostragem mensal realizada no Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio-SP, no período de maio de 2014 a abril de 2015. Abundância de indivíduos (Figura A, C, E) e riqueza de espécies (Figura B, D, F) confrontados com os valores de: temperatura média (°C) apresentada no dia da coleta (Figura A, B); umidade relativa média (%) apresentada no dia da coleta (Figura C, D); precipitação mensal (mm) (Figura E, F).

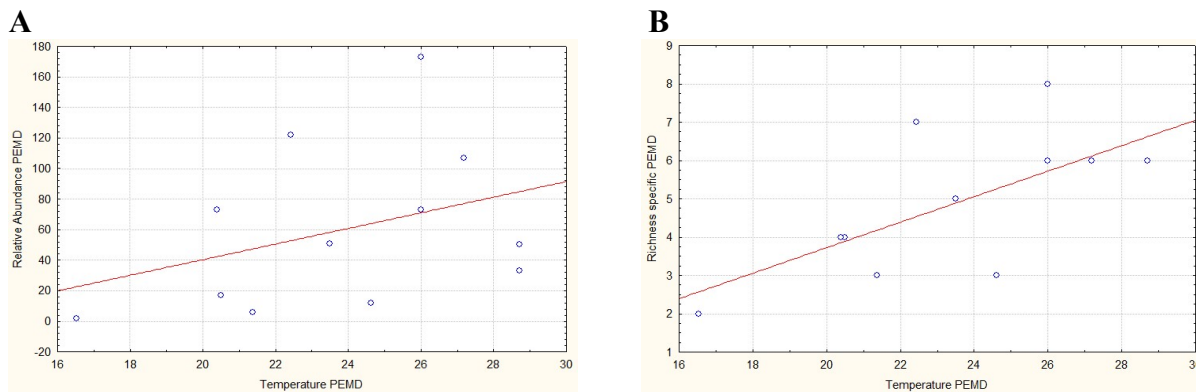


Pode ser observado que durante todo o período de amostragem, a temperatura média nos dias de coleta variou de 20°C a 28,71°C, exceto no mês de junho, a qual atingiu 16,5°C,

mês no qual foi obtido o menor número de indivíduos coletados, representado por apenas dois indivíduos de espécies diferentes.

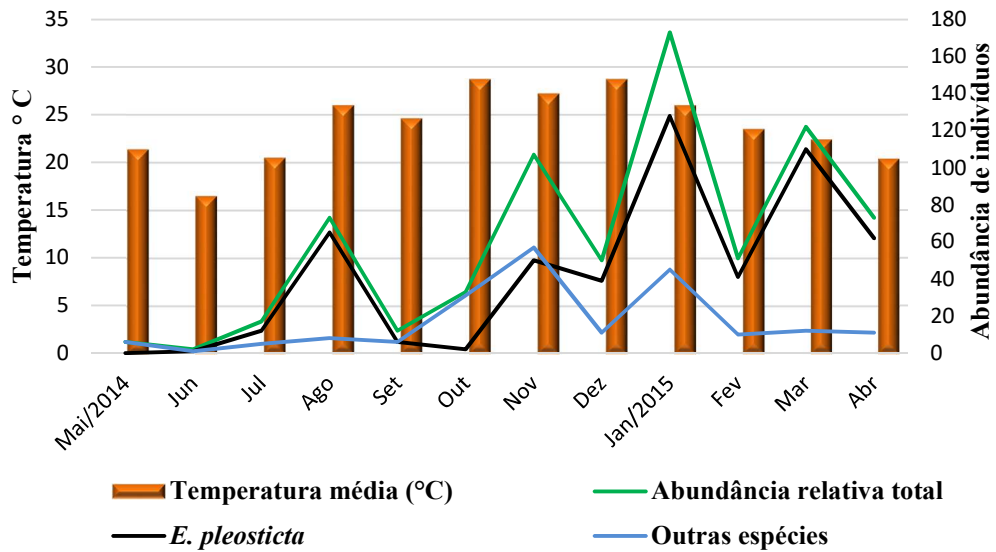
Para verificar-se o quão relacionadas são as variáveis: abundância de indivíduos e riqueza de espécies em comparação com a temperatura média nos dias de coleta, foi realizado uma análise de correlação, a qual podemos visualizar na figura 12.

Figura 12. Análise de correlação entre as variáveis: **Fig. A:** Temperatura x abundância dos indivíduos ($r = 0,3623$; $p = 0,2472$); **Fig. B:** Temperatura x riqueza de espécies ($r = 0,6865$; $p = 0,0137$), apresentadas no Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio-SP, no período de maio de 2014 a abril de 2015.



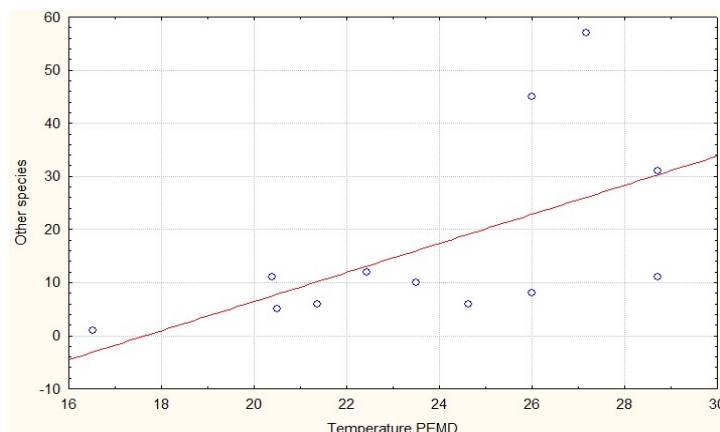
Pode ser observada uma correlação moderada e positiva apenas para as variáveis riqueza confrontada com a temperatura ($r = 0,6865$; $p = 0,0137$). Para as variáveis abundância dos indivíduos e temperatura não houve correlação significativa ($r = 0,3623$; $p = 0,2472$). Isso ocorreu provavelmente devido a dominância e abundância da espécie *Eg. pleosticta*. Podemos observar logo abaixo na figura 13, a abundância de todas as espécies, a abundância apenas de *Eg. pleosticta* e a abundância de todas as outras espécies excluindo *Eg. pleosticta*.

Figura 13. Temperatura média confrontada com abundância de indivíduos (todas as espécies coletadas), apenas de *Euglossa pleosticta* e com outras espécies (todas as espécies exceto *Eg. pleosticta*), amostradas no Parque Estadual Morro do Diabo, no período de maio de 2014 a abril de 2015.



Observamos que a abundância da espécie *Eg. pleosticta* influenciou na abundância total levando a picos acentuados nos meses de agosto e novembro de 2014 e janeiro e março de 2015. Sendo assim, para certificarmos se realmente há influência dessa espécie, foi realizado uma análise de correlação, na qual excluímos *Eg. pleosticta* da análise, o resultado obtido pode ser verificado na figura 14.

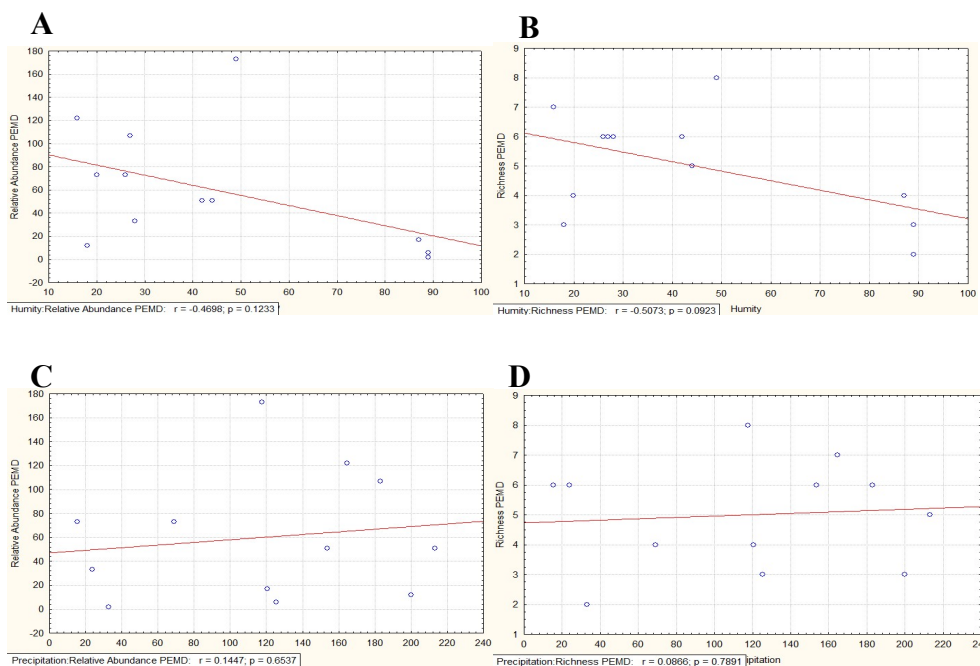
Figura 14. Análise de correlação entre a temperatura média confrontada com a abundância de todas as espécies, exceto *Eg. pleosticta* ($r = 0,5768$; $p = 0,0496$), apresentadas no Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio-SP, no período de maio de 2014 a abril de 2015.



Observa-se que houve correlação moderada, positiva e significativa entre a temperatura e a abundância de todas as outras espécies, exceto *Eg. pleosticta* ($r = 0,5768$; $p = 0,0496$), confirmando a influência da abundância da espécie *Eg. pleosticta* na análise anterior.

Quanto aos dados de abundância de indivíduos e riqueza de espécies relacionados a umidade relativa e precipitação, não foi observado correlação significativa entre as variáveis: umidade relativa x abundância ($r = -0,4698$; $p = 0,1233$); umidade relativa x riqueza ($r = -0,5073$; $p = 0,0923$); precipitação mensal x abundância ($r = 0,1447$; $p = 0,6537$); precipitação mensal x riqueza ($r = 0,0866$; $p = 0,7891$) (Figura 15).

Figura 15. Análise de correlação entre as variáveis: **Fig. A:** Umidade relativa x abundância de indivíduos ($r = -0,4698$; $p = 0,1233$); **Fig. B:** Umidade relativa x riqueza de espécies ($r = -0,5073$; $p = 0,0923$); **Fig. C:** Precipitação mensal x abundância de indivíduos ($r = 0,1447$; $p = 0,6537$); **Fig. D:** Precipitação mensal x riqueza de espécies ($r = 0,0866$; $p = 0,7891$), apresentadas no Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio-SP, no período de maio de 2014 a abril de 2015.



4.1.1.3 Preferência por compostos aromáticos

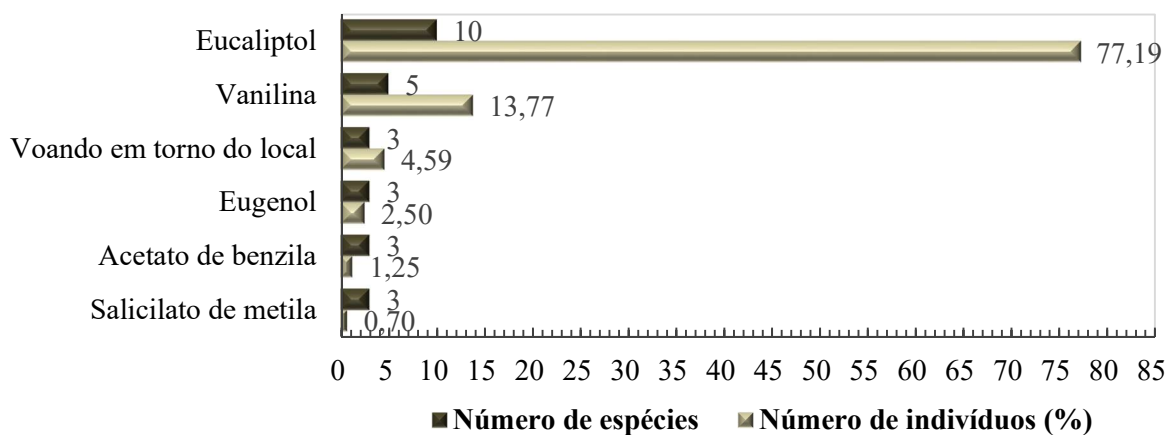
Com relação à preferência dos machos de Euglossini por compostos aromáticos, 95,41% dos indivíduos amostrados, representados por 12 espécies, foram atraídos por fragrâncias e apenas 4,59%, representados por três espécies, foram capturados sobrevoando as proximidades dos pontos de coletas (Tabela 2).

Tabela 2. Espécies de abelhas Euglossini amostradas em áreas do Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio - SP, no período compreendido entre maio/2014 a abril/2015, utilizando os compostos aromáticos: eucaliptol (Euc), vanilina (V), eugenol (Eug.), acetato de benzila (AB), salicilato de metila (SM).

Espécies	Compostos aromáticos					Voando
	Euc.	V	Eug.	AB	SM	
<i>Eufriesea smaragdina</i> (Perty, 1833)	0	0	0	1	0	0
<i>Eufriesea violacea</i> (Blanchard, 1840)	37	12	1	0	0	0
<i>Euglossa</i> spp. (fêmea)	0	0	0	0	2	0
<i>Euglossa annectans</i> (Dressler, 1982)	23	5	6	1	1	0
<i>Euglossa cordata</i> (Linnaeus, 1758)	17	0	0	0	0	0
<i>Euglossa fimbriata</i> (Moure, 1968)	18	0	0	0	0	0
<i>Euglossa leucotricha</i> (Rebêlo e Moure, 1996)	1	0	0	0	0	0
<i>Euglossa pleosticta</i> (Dressler, 1982)	404	73	11	7	2	19
<i>Euglossa pleosticta</i> (fêmea)	1	0	0	0	0	11
<i>Euglossa securigera</i> (Dressler, 1982)	1	0	0	0	0	0
<i>Euglossa truncata</i> (Rebêlo e Moure, 1996)	2	0	0	0	0	0
<i>Eulaema nigrata</i> (Lepelletier, 1841)	46	7	0	0	0	2
<i>Exaerete smaragdina</i> (Guérin, 1844)	5	2	0	0	0	1
Número de indivíduos	555	99	18	9	5	33
Número de espécies	10	5	3	3	3	3

Com relação a preferência pelas fragrâncias aromáticas, verificamos que eucaliptol foi a mais eficaz, atraindo 10 espécies, representadas por 77,19% dos machos capturados (Figura 16).

Figura 16. Preferência dos machos de abelhas Euglossine por compostos aromáticos, amostrados no Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio – SP, no período de maio de 2014 a abril de 2015.















4.1.2 PETAR



4.1.2.1 Abundância de indivíduos, riqueza de espécies e distribuição sazonal

Dentre os 28 indivíduos coletados no PETAR, foram identificadas cinco espécies distribuídas em três gêneros, sendo três espécies do gênero *Eufriesea* (Cockerell), uma espécie de *Euglossa* (Latreille) e uma espécie de *Eulaema* (Lepelletier) (Tabela 3).

Pode ser observado que a maioria das espécies foram amostradas em apenas um único mês de coleta, sendo o maior número de indivíduos representados por uma única espécie, *El. nigrita*, enquanto as outras espécies foram representadas por poucos indivíduos.

Tabela 3. Frequência relativa e flutuação sazonal das espécies de abelhas Euglossini amostradas em áreas do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), Apiaí -SP, no período compreendido entre maio/2014 a abril/2015.

Espécies	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Total	
													N	%
<i>Ef. mussitans</i> (Fabricius, 1787)								1					1	3,6
<i>Ef. dentilabris</i> (Mocsáry, 1897)								1					1	3,6
<i>Ef. violacea</i> (Blanchard, 1840)								3					3	10,7
<i>Eg. fimbriata</i> (Moure, 1968)						1		1					2	7,1
<i>El. nigrita</i> (Lepeletier, 1841)						3		17	1				21	75
Número de indivíduos						4		23	1				28	100
Número de espécies						2		5	1				12	

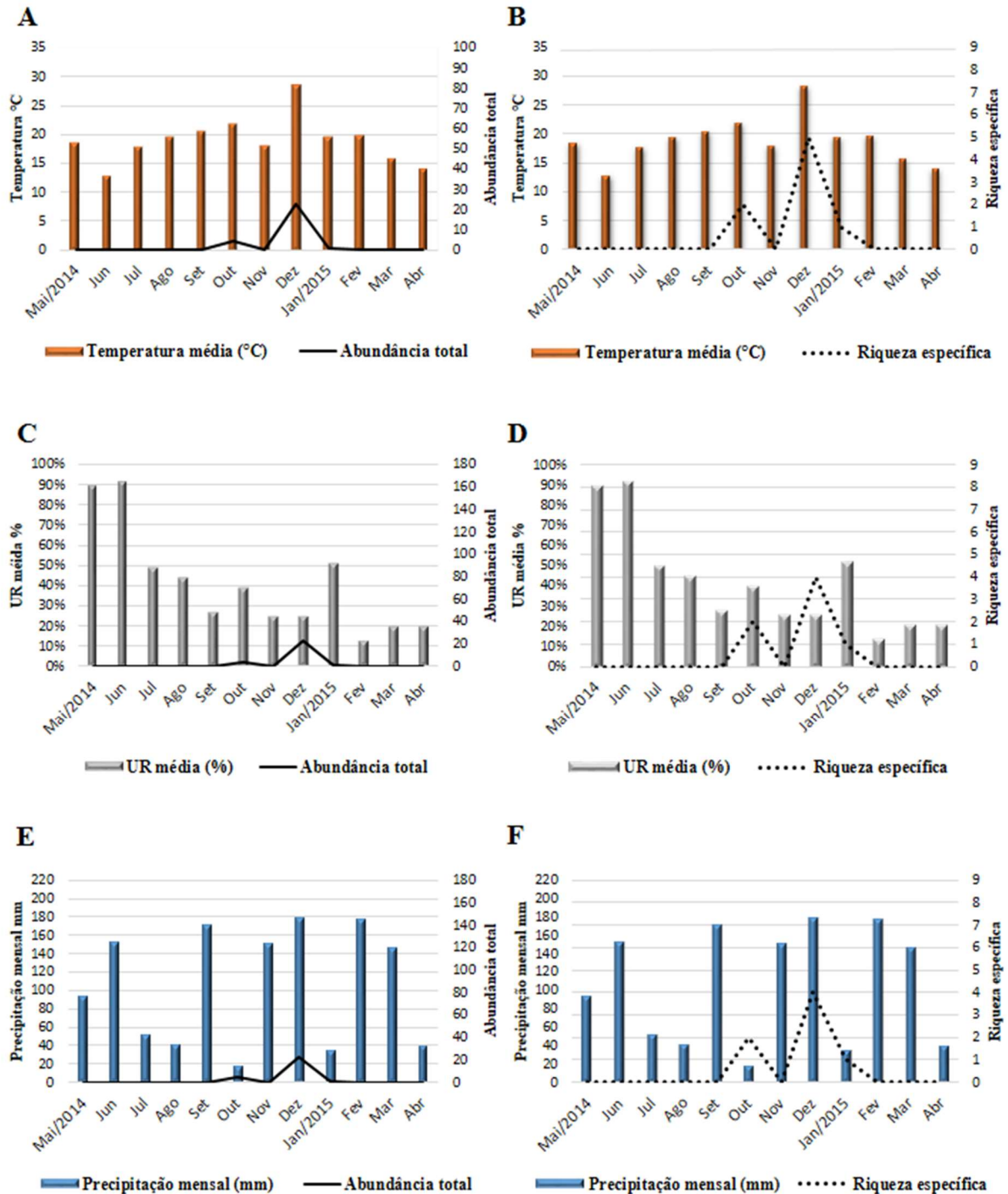
(N) Número de indivíduos coletados; (%) Valores em porcentagem para cada espécie;  =Estação fria/seca;  =Estação quente/úmida;

Quanto à ocorrência das espécies coletadas no PETAR ao longo de um ano de amostragem, não foi possível visualizar a real distribuição devido a interferência de fatores climáticos, como chuva e temperaturas baixas, durante os dias em que as amostragens foram realizadas, conforme descrito seguir.

4.1.2.2 Abundância de indivíduos e riqueza de espécies relacionados a fatores ambientais

Durante os 12 meses de coletas, condições climáticas instáveis foram presenciadas neste parque, onde foi observado o predomínio da nebulosidade durante 10 meses de amostragem e a incidência de precipitação durante quatro coletas. A seguir, na figura 17, podemos visualizar os dados referente a abundância de indivíduos e riqueza de espécies confrontados com valores de temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação.

Figura 17. Amostragem mensal realizada no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí-SP, no período de maio de 2014 a abril de 2015. Abundância de indivíduos (Figura A, C, E) e riqueza de espécies (Figura B, D, F) confrontados com os valores de temperatura média (°C) apresentada no dia da coleta (Figura A, B); umidade relativa média (%) apresentada no dia da coleta (Figura C, D); precipitação mensal (mm) (Figura E, F).

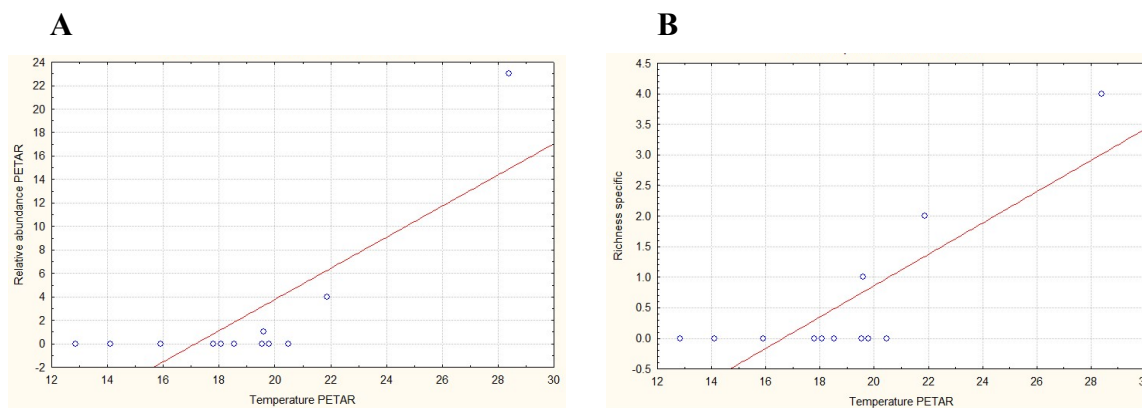


Pode ser observado que a abundância total está representada praticamente pela abundância amostrada em um único mês, dezembro/2014, o qual a temperatura média

apresentada no dia da coleta foi 28,4 °C, sendo a maior comparada a todos os outros meses. Além disso, nenhum espécime foi amostrado no período compreendido entre maio a setembro/2104, em novembro e no período entre fevereiro e abril/2015, meses nos quais a temperatura média nos dias de coleta foi entre 12,8°C a 20,1°C, o que nos leva a investigar a relação entre o número de indivíduos coletados e as baixas temperaturas apresentadas.

Diante desses resultados, foi realizado uma análise de correlação para verificar-se o quão relacionadas são as variáveis: abundância de indivíduos e riqueza de espécies em relação a temperatura média nos dias de coleta, a qual podemos verificar na figura 18.

Figura 18. Análise de correlação entre as variáveis: **Fig. A:** Temperatura x abundância de indivíduos ($r = 0,7981$; $p = 0,0019$); **Fig. B:** Temperatura x riqueza de espécies ($r = 0,8213$; $p = 0,0011$), apresentadas no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí-SP, no período de maio de 2014 a abril de 2015.

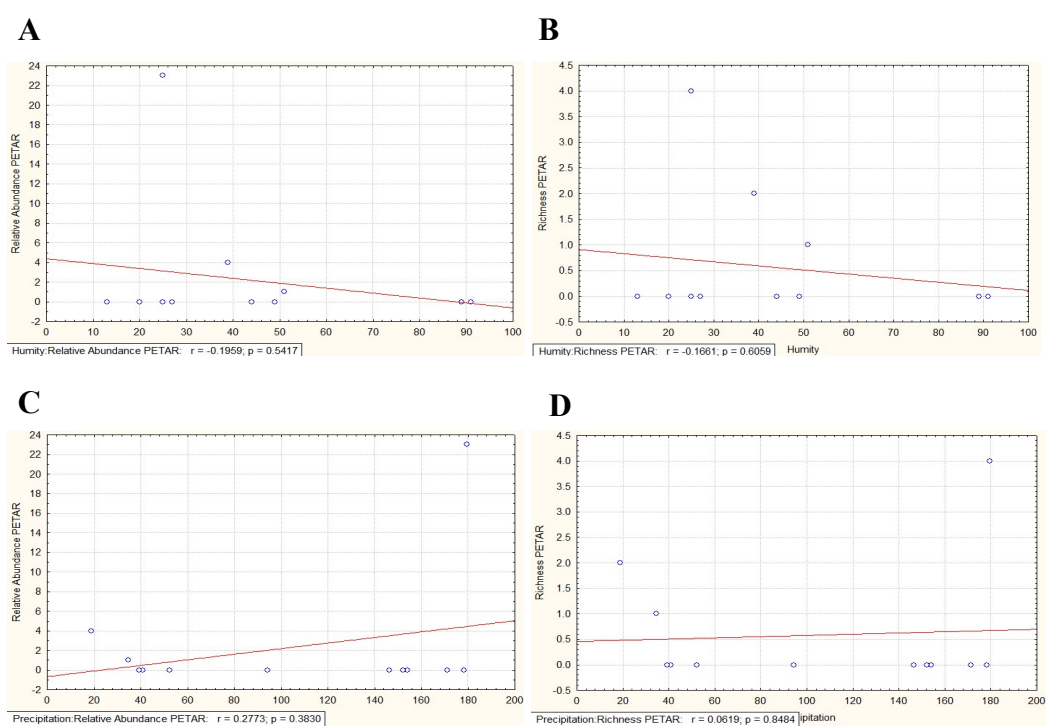


Como observado, o resultado obtido foi uma correlação forte, positiva e significativa entre as variáveis: temperatura x abundância de indivíduos ($r = 0,7981$; $p = 0,0019$) e temperatura x riqueza de espécies ($r = 0,8213$; $p = 0,0011$), confirmando a influência negativa de temperaturas baixas durante a amostragem de machos de abelhas Euglossini com a utilização de iscas com fragrâncias aromáticas para atração dos indivíduos.

Já para os dados de abundância de indivíduos e riqueza de espécies relacionados a umidade relativa e precipitação, não foi observado correlação significativa entre as variáveis:

umidade relativa x abundância ($r = -0,1959$; $p = 0,5417$); umidade relativa x riqueza ($r = -0,1661$; $p = 0,6059$); precipitação mensal x abundância ($r = 0,2773$; $p = 0,3830$); precipitação mensal x riqueza ($r = 0,0619$; $p = 0,8484$) (Figura 19).

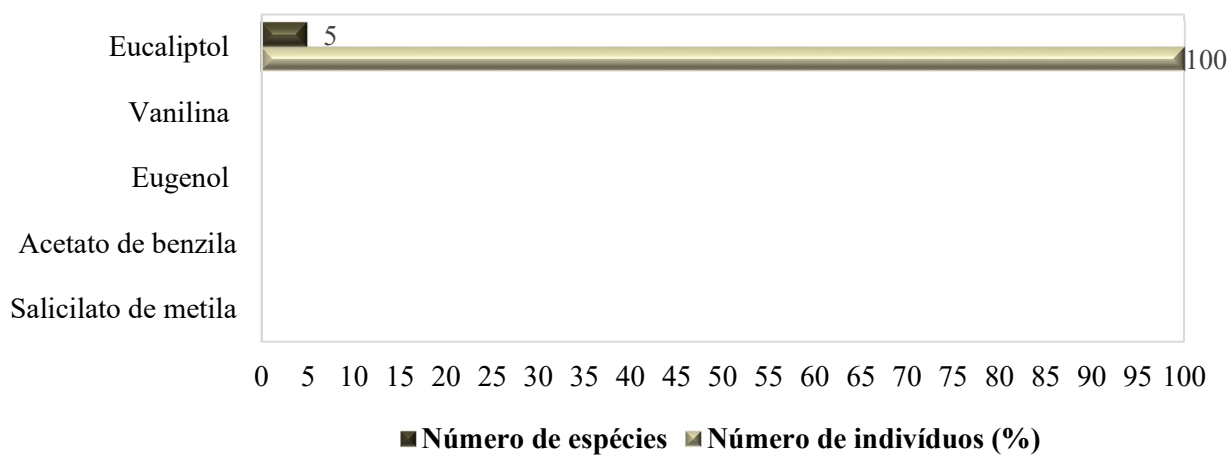
Figura 19. Análise de correlação entre as variáveis: **Fig. A:** Umidade relativa x abundância de indivíduos ($r = -0,1959$; $p = 0,5417$); **Fig. B:** Umidade relativa x riqueza de espécies ($r = -0,1661$; $p = 0,6059$); **Fig. C:** Precipitação mensal x abundância de indivíduos ($r = 0,2773$; $p = 0,3830$); **Fig. D:** Precipitação mensal x riqueza de espécies ($r = 0,0619$; $p = 0,8484$), apresentadas no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí-SP, no período de maio de 2014 a abril de 2015.



4.1.2.3 Preferência por compostos aromáticos

No PETAR todos os machos de Euglossini capturados, os quais foram representados por cinco espécies, tiveram preferência pela fragrância de eucaliptol (Figura 20).

Figura 20. Preferência dos machos de abelhas Euglossini por compostos aromáticos, amostrados no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí – SP, no período de maio de 2014 a abril de 2015.



4.2 Avaliação morfométrica de asas da espécie *Euglossa pleosticta*

Foram avaliadas através da técnica de morfometria geométrica as asas anteriores direita, esquerda e suas cópias de um total de 350 espécimes de *Euglossa pleosticta* amostrados no período compreendido entre junho/2014 a abril/2015, no PEMD. Os indivíduos foram avaliados através da análise de Procrustes ANOVA de acordo com dois tipos de classificadores: individualmente e os indivíduos agrupados de acordo com seu período de desenvolvimento. Adicionalmente, realizamos análises de assimetria e modularidade.

4.2.1 Avaliação da assimetria das asas entre indivíduos

Os resultados obtidos através das análises de Procrustes ANOVA realizada entre indivíduos para as coordenadas de forma e para o tamanho do centróide podem ser verificados na tabela 4.

Tabela 4. Procrustes ANOVA realizada entre indivíduos para as coordenadas de forma e para o tamanho do centróide das asas anteriores de espécimes de *Euglossa pleosticta* coletadas no Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio – SP, no período compreendido entre junho/2014 a abril/2015.

Tamanho do centróide				
Efeitos	MS	GL	F	p
Indivíduo	438,072964	349	184,16	<0,0001
Lado (AD)	881,153308	1	370,43	<0,0001
Indivíduo x lado (AF)	2,378707	349	15,98	<0,0001
Erro	0,148848	699	0,27	0,9433

Forma (Procrustes ANOVA)				
Efeitos	MS	GL	F	p
Indivíduo	0,0000478521	11168	8,66	<0,0001
Lado (AD)	0,0013748575	32	248,72	<0,0001
Indivíduo x lado (AF)	0,0000055278	11168	4,99	<0,0001
Erro	0,0000011085	22368	1,52	0,0698

(AD) Assimetria direcional; (AF) Assimetria flutuante; (MS) Média quadrada; (GL) Graus de liberdade; (F) Teste estatístico F; (p) Probabilidade de significância (valor-p).

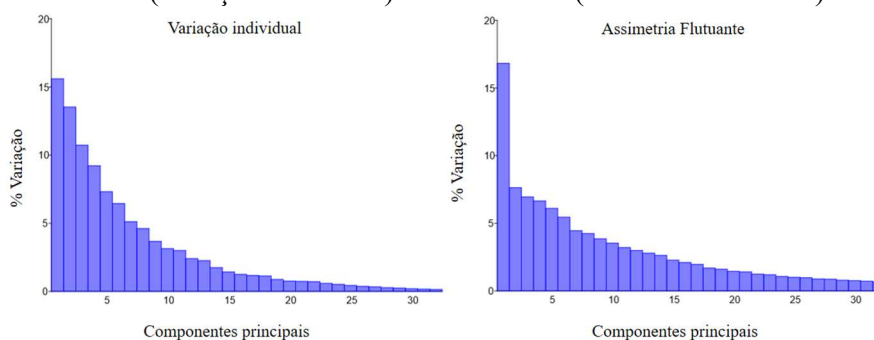
Podemos verificar através dos resultados apresentados que houve diferenças significantes em todos os níveis, indicando a presença de variação individual (entre indivíduos), assimetria direcional (quando se compara a forma média da asa direita e esquerda, sistematicamente um lado dos indivíduos é mais diferente que o outro) e assimetria flutuante (indivíduo x lado, mostra que os lados direito e esquerdo dos indivíduos apresentam desvios sem tendência a um lado específico), tanto para as coordenadas de forma quanto para o tamanho dos centróides.

Observa-se também que o valor da média quadrada (MS) do erro que foi calculado pela digitalização das asas que foram marcadas repetidamente foi inferior ao valor da MS para o efeito lado (assimetria direcional) e efeito interação indivíduo x lado (assimetria flutuante). Esse dado permite a confiabilidade nos resultados quanto a presença de assimetria flutuante e assimetria direcional na população analisada, indicando que a variação constatada não ocorre

em decorrência de viés na técnica de marcação dos pontos anatômicos, ou seja, a presença de assimetrias não é devida a erros na marcação dos marcos anatômicos.

Em seguida, realizamos as análises de regressão multivariada e obtivemos os valores para os efeitos alométricos, sendo que estes foram baixos tanto para os níveis de variação individual (5,73%, $P < 0,0001$) quanto para assimetria flutuante (0,27 %, $P = 0,4804$). Através das matrizes de covariância geradas a partir dos resíduos das análises de regressão multivariada realizamos uma análise de componente principal (PCA) para obter os padrões de variação da venação das asas nos níveis de variação individual e de assimetria flutuante (Figura 21).

Figura 21. Padrões de variação individual e assimetria flutuante das asas anteriores de *Eg. pleosticta* representados pelos componentes principais obtidos a partir das matrizes de covariância dos componentes simétricos (variação individual) e assimétricos (assimetria flutuante).



Na figura acima podemos observar que apenas o primeiro componente principal (PCs) dos níveis de variação individual e assimetria flutuante acumularam percentagens similares de variação. Para os padrões de variação individual, foram necessários os quatro primeiros componentes principais (PCs) para explicar 49,058% da variação da forma na população analisada, sendo o primeiro Componente Principal (PC1) responsável por 15,598% da variação, o PC2 por 13,522%, o PC3 por 10,722% e o PC4 por 9,216%, visto que a ordenação dos componentes se dá em ordem decrescente de acordo com a variação, sendo que a porcentagem acumulativa da variação na amostra atingiu 90,163% através dos 15 primeiros componentes principais. Para os padrões de assimetria flutuante, foram necessários os seis primeiros

componentes principais (PCs) para explicar 49,59% da variação da forma presente na amostra, sendo o primeiro Componente Principal (PC1) responsável por 16,823% da variação, o PC2 por 7,625%, o PC3 por 6,943%, o PC4 por 6,649%, o PC5 por 6,103% e o PC6 por 5,455%. A porcentagem acumulativa da variação na amostra atingiu 79,587% através dos 15 primeiros componentes principais.

4.2.2 Covarição entre conjuntos de caracteres morfológicos identificados na asa

A modularidade nas asas dos indivíduos foi avaliada através do teste de hipóteses de modularidade que verifica a covariância entre os compartimentos anterior/posterior e das partes distal/proximal das asas, utilizando padrões de variação no nível de variação individual, sendo os resultados obtidos apresentados na tabela 5.

Tabela 5. Hipóteses de modularidade, utilizando padrões de variação no nível de variação individual, testadas na forma das asas anteriores de espécimes de *Euglossa pleosticta* coletadas no Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio – SP, no período compreendido entre junho/2014 a abril/2015.

	Hipótese de compartimentos anterior e posterior na asa	Hipótese de partes proximal e distal na asa
Número de partições consideradas	31824	18564
Número de partições com coeficiente RV menor ou igual ao considerado na hipótese testada	2037	225
Coeficiente RV	0,360845	0,302435
p	0.064008	0.012120

Podemos verificar que o resultado da análise que testou a covariância entre os compartimentos anterior e posterior da asa, representados pelos subconjuntos de onze e sete marcos anatômicos, respectivamente, demonstrou baixo número de partições com coeficiente

RV inferior ao número de partições da hipótese testada, apesar do valor-p obtido ($p=0,064008$), este é bem próximo do limiar, considerando o valor pré-fixado do nível de significância ($\alpha=0,05$). Assim, de acordo com os valores do coeficiente RV, temos a presença de módulos separados de desenvolvimento da asa para os níveis de variação individual. Com relação a hipótese que avaliou a covariância entre as partes proximal e distal da asa (subconjuntos com doze e seis marcos anatômicos, respectivamente), também obtivemos baixo número de partições com coeficiente RV inferior ao número de partições da hipótese testada ($p=0,012120$), sendo assim, encontramos a presença de módulos de desenvolvimento separados para os níveis de variação individual.

4.2.3 Avaliação das asas dos indivíduos quando classificados por períodos de desenvolvimento.

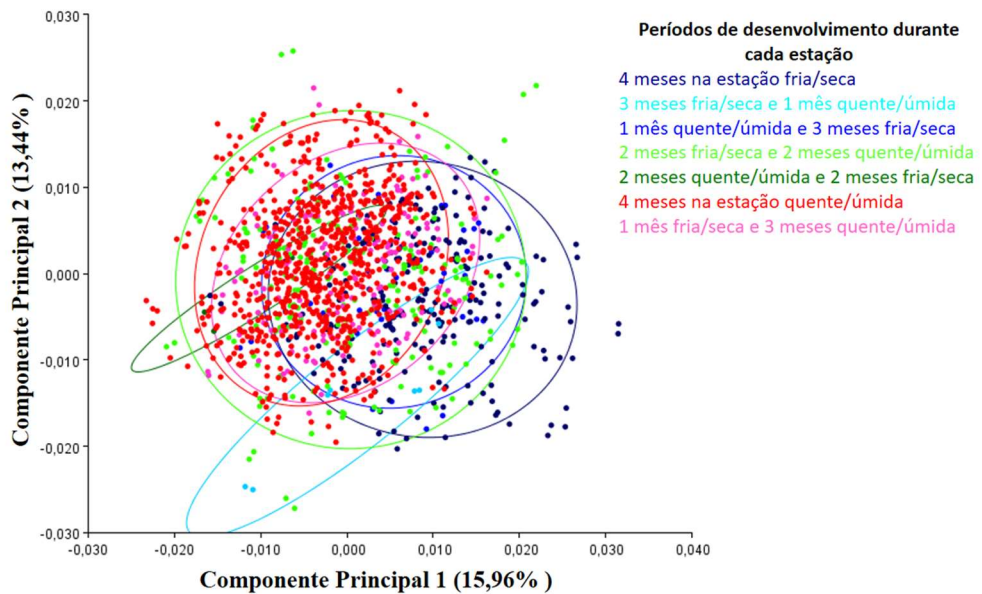
Para realização dessas análises assumimos que todos os espécimes de *Euglossa pleosticta* emergiram no mesmo mês em que foram coletados, além disso consideramos que o período de duração do desenvolvimento embriológico dos indivíduos foi de quatro meses, com base em trabalhos realizados sobre o comportamento de nidificação de outras espécies do gênero *Euglossa*. Assim, os indivíduos foram classificados em sete grupos de acordo com seu período de desenvolvimento.

4.2.3.1 Análises dos dados morfométricos

As asas anteriores direita e esquerda dos 350 espécimes de *Euglossa pleosticta* foram avaliadas em conjunto, porém classificadas em sete grupos conforme seu tempo de desenvolvimento durante cada estação.

Na figura 22, podemos verificar o gráfico de dispersão referente a análise de componente principal (PCA), o qual está representado pelos eixos que tiveram a maior porcentagem de variação (PC1 e PC2).

Figura 22. Representação gráfica da Análise de Componente Principal com os indivíduos classificados de acordo com seu período de desenvolvimento, obtida através da avaliação morfológica das asas anteriores dos espécimes de *Euglossa pleosticta*, provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio – SP, coletadas no período compreendido entre junho/2014 a abril/2015.



Na figura 22 observamos em tons de azul os indivíduos que tiveram a maior parte do seu desenvolvimento na estação fria/seca e nas cores vermelho e rosa na estação quente/úmida. Podemos observar que houve uma tendência à separação daqueles indivíduos que tiveram o seu desenvolvimento total em cada uma das estações. Diante desse resultado, através da matriz de covariância gerada a partir dos resíduos de Procrustes, realizamos a Análise de Variáveis Canônicas (CVA), onde podemos verificar a porcentagem da variação dos eixos das Variáveis Canônicas na tabela 6. Através dessa análise obtivemos como resultado as distâncias quadradas de Mahalanobis (Tabela 7), as distâncias de Procrustes (Tabela 8) e a representação gráfica para

a CVA (Figura 23), sendo que todas essas análises indicaram uma diferenciação significativa entre os indivíduos pertencentes a cada período de desenvolvimento.

Tabela 6. Variação dos dois eixos das Variáveis Canônicas.

Eixos	Autovalores	%Variância	%Acumulativa
1	1,80433591	70,490	70,490
2	0,36156686	14,125	84,615
3	0,22665509	8,855	93,470
4	0,08343378	3,260	96,729
5	0,04521311	1,766	98,496
6	0,03850468	1,504	100,000

A seguir, na tabela 7, podemos verificar os resultados referente as distâncias quadradas de Mahalanobis.

Tabela 7. Distâncias de Mahalanobis (diagonal inferior da tabela) e significância estatística (diagonal superior da tabela), geradas a partir da Análise de Variáveis Canônicas com os indivíduos classificados de acordo com seu período de desenvolvimento, obtida através da avaliação morfológica das asas anteriores dos espécimes de *Euglossa pleosticta*, provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio – SP, coletadas no período compreendido entre junho/2014 a abril/2015.

	1	2	3	4	5	6	7
1 (1 mês F/S e 3 meses Q/U)	0	<0,0001	<0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
2 (1 mês Q/U e 3 meses F/S)	3,5604	0	<0,0001	0,0036	<0,0001	<0,0001	<0,0001
3 (2 meses F/S e 2 meses Q/U)	1,0398	3,5912	0	<0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001
4 (2 meses Q/U e 2 meses F/S)	5,5496	4,4992	5,4890	0	0,0033	<0,0001	<0,0001
5 (3 meses F/S e 1 mês Q/U)	3,9254	4,9869	3,5577	6,3461	0	<0,0001	<0,0001
6 (4 meses F/S)	2,9868	3,2982	2,7833	5,7259	3,6583	0	<0,0001
7 (4 meses Q/U)	1,4608	3,8478	1,8386	5,4140	4,2231	3,6823	0

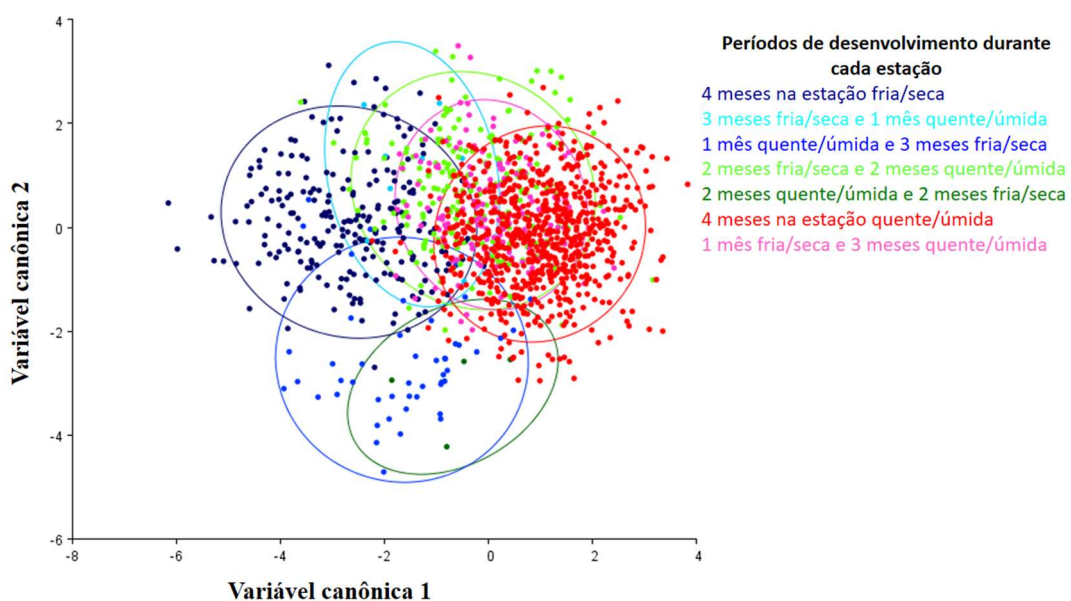
Logo abaixo, na tabela 8, apresentamos os resultados referente as distâncias de Procrustes.

Tabela 8. Distâncias de Procrustes (diagonal inferior da tabela) e significância estatística (diagonal superior da tabela), geradas a partir da Análise de Variáveis Canônicas com os indivíduos classificados de acordo com seu período de desenvolvimento, obtida através da avaliação morfológica das asas anteriores dos espécimes de *Euglossa pleosticta*, provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio – SP, coletadas no período compreendido entre junho/2014 a abril/2015.

	1	2	3	4	5	6	7
1 (1 mês F/S e 3 meses Q/U)	0	<0,0001	0,0069	0,0014	<0,0001	<0,0001	<0,0001
2 (1 mês Q/U e 3 meses F/S)	0,0103	0	<0,0001	0,0004	<0,0001	<0,0001	<0,0001
3 (2 meses F/S e 2 meses Q/U)	0,0037	0,0106	0	0,0051	0,0002	<0,0001	<0,0001
4 (2 meses Q/U e 2 meses F/S)	0,0186	0,0198	0,0193	0	0,0041	<0,0001	0,0005
5 (3 meses F/S e 1 mês Q/U)	0,0179	0,0196	0,0165	0,0260	0	<0,0001	<0,0001
6 (4 meses F/S)	0,0115	0,0097	0,0111	0,0242	0,0179	0	<0,0001
7 (4 meses Q/U)	0,0046	0,0120	0,0063	0,0175	0,0188	0,0147	0

A seguir temos o gráfico de dispersão, gerado a partir da CVA (Figura 23), no qual observamos uma maior separação dos grupos quando comparado ao gráfico de PCA. No entanto, embora na PCA a separação dos grupos tenha sido discreta, na CVA constatamos que o agrupamento apresentado entre as populações não é artificial.

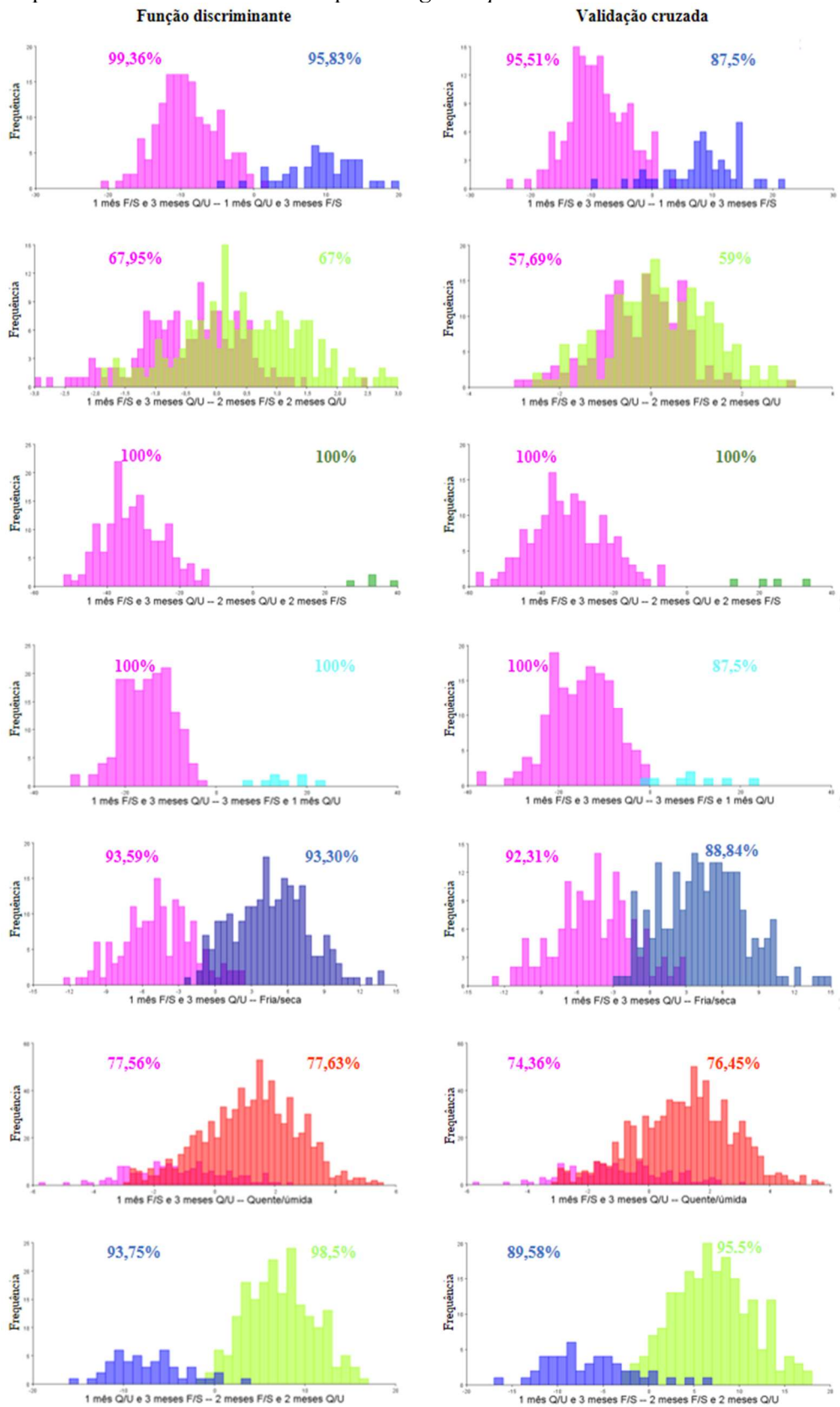
Figura 23. Representação gráfica da Análise de Variáveis Canônicas com os indivíduos classificados de acordo com seu período de desenvolvimento, obtida através da avaliação morfológica das asas anteriores dos espécimes de *Euglossa pleosticta*, provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio – SP, coletadas no período compreendido entre junho/2014 a abril/2015.



Na figura 23 podemos observar uma variação evidente com as amostras de *Euglossa pleosticta* vista pelo eixo canônico 1 (eixo que representa 70,49% da variação), sendo que os indivíduos que tiveram todo seu período de desenvolvimento na estação fria/seca (em azul mais escuro) ficaram separados dos indivíduos que se desenvolveram durante os quatro meses na estação quente/úmida (em vermelho). Podemos verificar que aqueles que tiveram a maior parte do seu desenvolvimento durante a estação fria e seca estão em tons de azul e na estação quente e úmida em cor de rosa. Os indivíduos que tiveram a metade do seu desenvolvimento em cada uma das estações ficaram sobrepostos entre os indivíduos com o desenvolvimento total na estação quente/úmida e aqueles com o desenvolvimento total na estação fria/seca, sendo que, esses indivíduos que tiveram os dois primeiros meses de desenvolvimento na estação fria e seca e o terceiro e quarto mês na estação quente e úmida estão representados pela cor verde claro, já em verde escuro são os que tiveram os dois primeiros meses de desenvolvimento na estação quente e úmida e o terceiro e quarto mês na estação fria e seca.

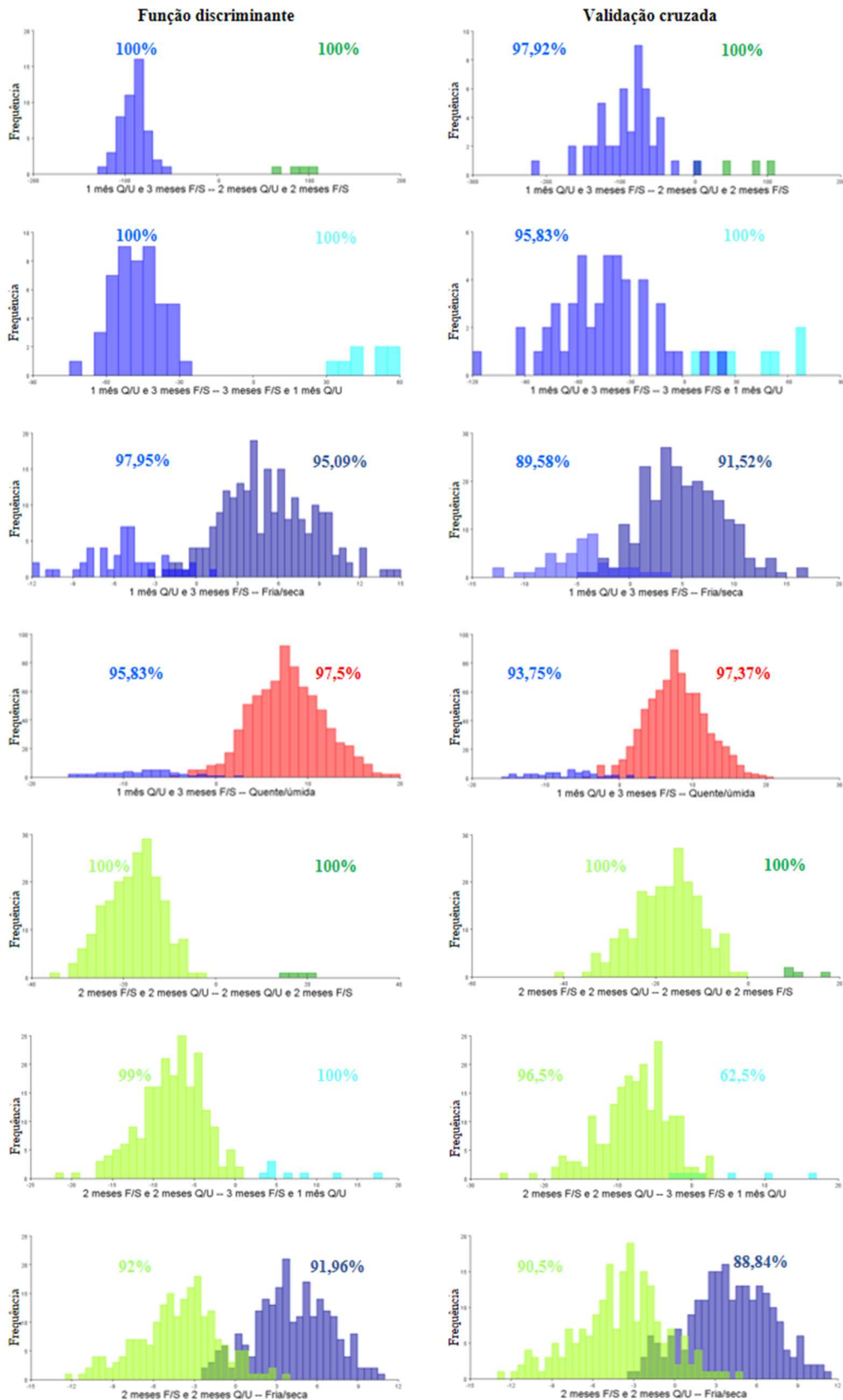
A seguir temos a discriminação par a par dos grupos de indivíduos de *Eg. pleosticta* classificados de acordo com seu período de desenvolvimento, estudados pela Análise de Função Discriminante (DFA) e pelo teste de Validação Cruzada, com os resultados das taxas de acerto na classificação dentro de seus respectivos grupos (Figura 24).

Figura 24. Discriminação par a par dos grupos estudados pela Análise de Função Discriminante e pelo teste de Validação Cruzada, com as taxas de acerto na classificação dentro de suas respectivas localidades para amostras de abelhas da espécie *Euglossa pleosticta*.



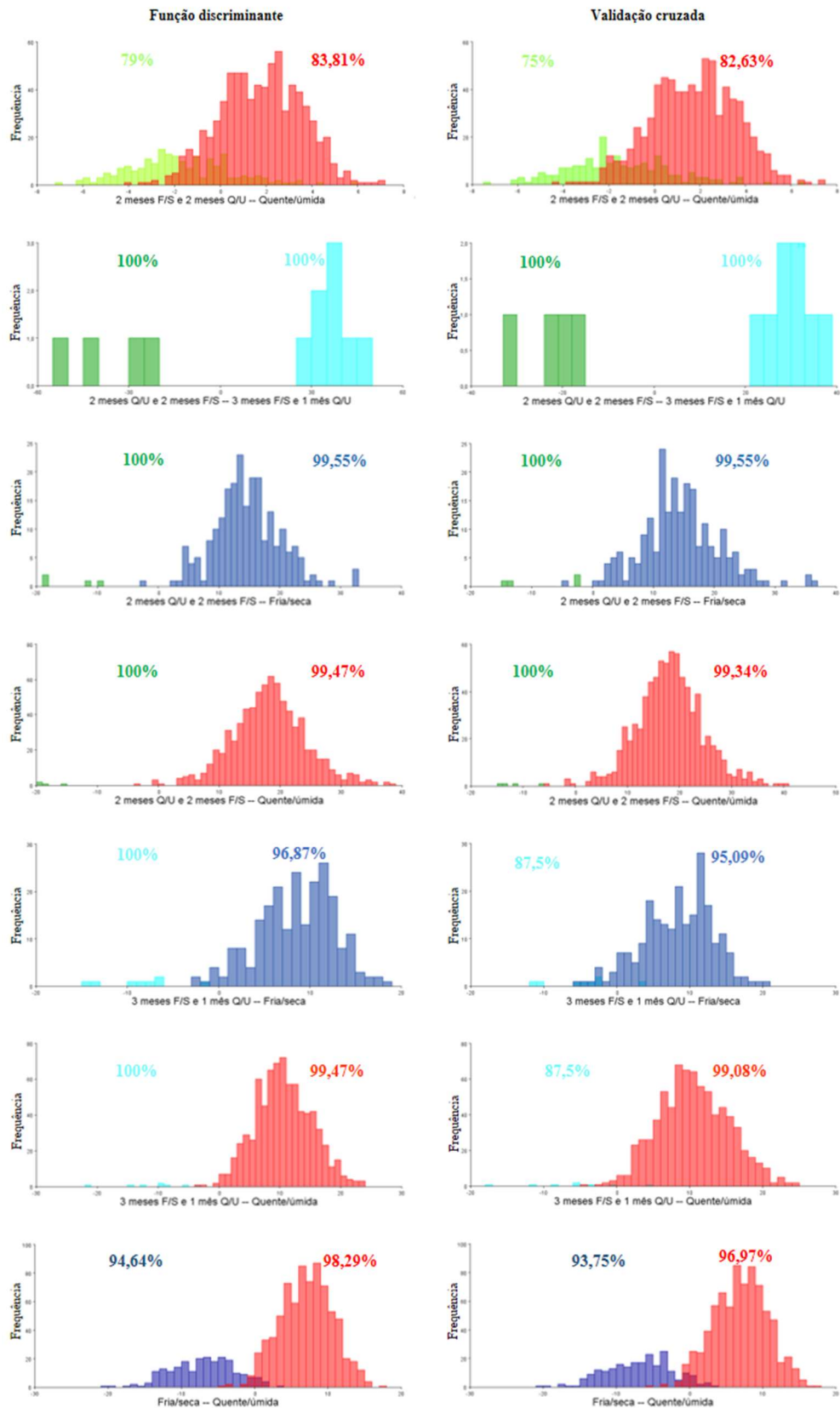
“Continua”

Figura 24. Discriminação par a par dos grupos estudados pela Análise de Função Discriminante e pelo teste de Validação Cruzada, com as taxas de acerto na classificação dentro de suas respectivas localidades para amostras de abelhas da espécie *Euglossa pleosticta*.



“Continuação”

Figura 24. Discriminação par a par dos grupos estudados pela Análise de Função Discriminante e pelo teste de Validação Cruzada, com as taxas de acerto na classificação dentro de suas respectivas localidades para amostras de abelhas da espécie *Euglossa pleosticta*.



Na figura 24 podemos observar que a análise de função discriminante classificou corretamente grande porcentagem dos indivíduos dentro de seus respectivos grupos, sendo alguns possuindo 100% de classificação correta. Além disso, a maior parte dos valores do teste de validação cruzada foram representados por altas taxas de acerto.

4.2.3.2 Avaliação da assimetria

Na tabela 9 podemos visualizar os resultados da análise de Procrustes ANOVA realizada com os indivíduos agrupados de acordo com seu período de desenvolvimento, para o tamanho do centróide e para as coordenadas de forma.

Tabela 9. Procrustes ANOVA realizada com os indivíduos agrupados de acordo com seu período de desenvolvimento para as coordenadas de forma e para o tamanho do centróide das asas anteriores de espécimes de *Euglossa pleosticta* coletadas no Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio – SP, no período compreendido entre junho/2014 a abril/2015.

Tamanho do centróide				
Efeitos	MS	GL	F	p
Indivíduo	4273,613943	6	528,21	<0,0001
Lado (AD)	881,153308	1	108,91	<0,0001
Indivíduo x lado (AF)	8,090755	6	1,15	0,3814
Erro	7,027624	15	0,08	1,0000

Forma (Procrustes ANOVA)				
Efeitos	MS	GL	F	p
Indivíduo	0,0002593601	192	32,55	<0,0001
Lado (AD)	0,0013748575	32	172,52	<0,0001
Indivíduo x lado (AF)	0,0000079691	192	2,42	<0,0001
Erro	0,0000032896	480	0,25	1,0000

(AD) Assimetria direcional; (AF) Assimetria flutuante; (MS) Média quadrada; (GL) Graus de liberdade; (F) Teste estatístico F; (p) Probabilidade de significância (valor-p).

Através dos resultados constatamos que na análise de tamanho do centróide, as diferenças não foram significantes apenas para a variável indivíduo x lado ($p=0,3814$), havendo

presença apenas de variação individual e assimetria direcional. Para as análises de coordenadas de forma, as diferenças foram significantes para todos os níveis, indicando a presença de variação individual, assimetria direcional e assimetria flutuante.

O valor da média quadrada (MS) do erro que foi calculado pela digitalização das asas que foram marcadas repetidamente foi inferior ao valor da MS para o efeito lado (assimetria direcional) e efeito interação indivíduo x lado (assimetria flutuante), apontando que a variação apresentada devido a existência de assimetrias não foi pertinente a erros na marcação dos pontos anatômicos.

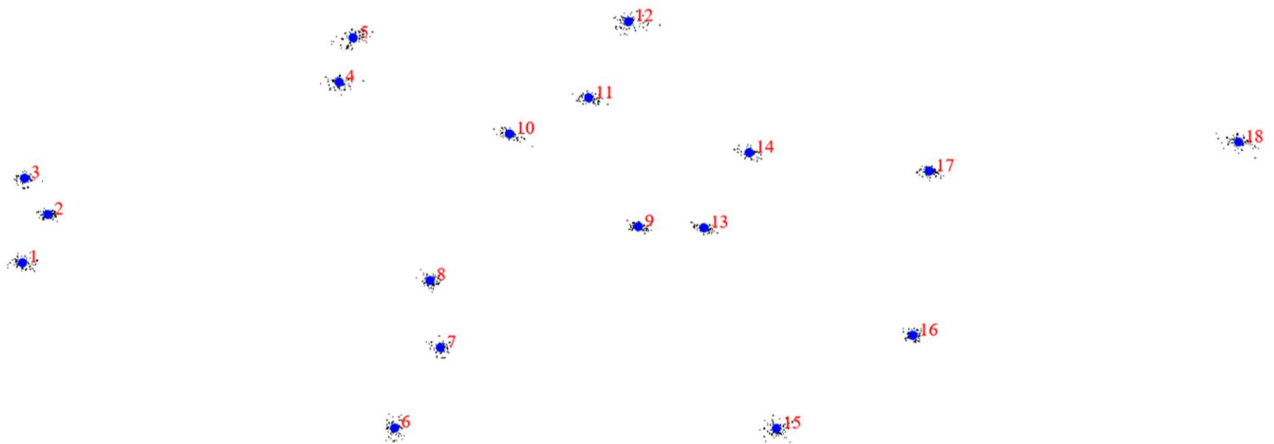
4.3 Avaliação morfométrica de asas da espécie *Eulaema nigrita*

Foram avaliadas morfologicamente as asas de indivíduos da espécie *Eulaema nigrita* através das seguintes análises morfométricas: análise da variação morfológica entre as amostras provenientes de duas localidades diferentes: PEMD e PETAR e a análise de assimetria flutuante, na qual foi verificado a variação na simetria entre as asas direita e esquerda das amostras provenientes de ambos os parques.

4.3.1 Análise da variação morfológica entre as amostras do PEMD e PETAR

As asas anteriores direita de 72 indivíduos da espécie *Eulaema nigrita* foram avaliadas em conjunto, porém classificadas em dois grupos conforme sua localidade de origem: PEMD e PETAR. Após realizada a análise generalizada de Procrustes, obtivemos as variáveis de forma (resíduos de Procrustes) (Figura 25) e uma variável de tamanho (tamanho de centróide).

Figura 25. Configuração consenso dos 18 marcos anatômicos marcados nas interseções das nervuras das asas dos machos de *Eulaema nigrita*. Os pontos pretos representam os resíduos de Procrustes e os pontos azuis representam a média dos resíduos de cada marco anatômico.



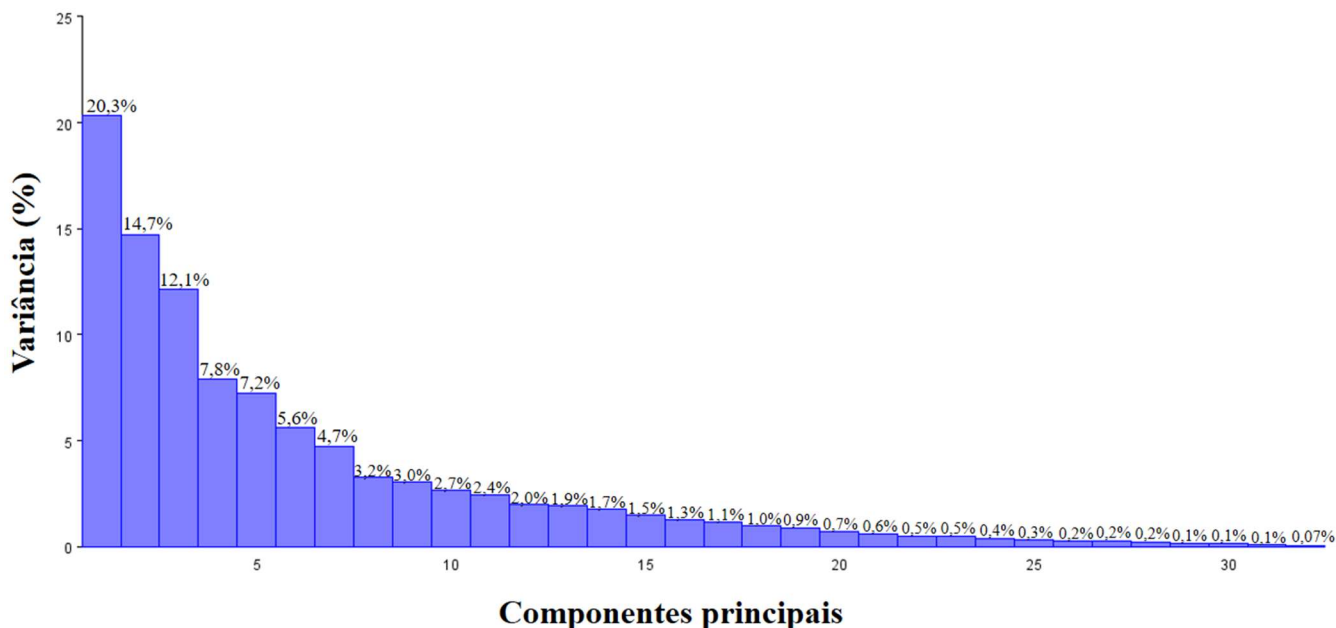
Na figura 25, pode ser observado que os pontos 1, 2, 3, 6, 7, 8, 12, 15 e 16 variaram de forma isotrópica, sendo distribuídos circularmente em torno da média, enquanto os pontos 4, 5, 9, 10, 11, 13, 14, 17 e 18 variaram de forma mais alotrópica. Através das análises de deformações realizadas pelo software tpsRelw (ROHLF, 2017c) foi possível verificar que os marcos anatômicos que apresentaram maior variação em ordem decrescente foram: 2, 13 e 4 (Tabela 10).

Tabela 10. Contribuição relativa de cada marco anatômico, marcados nas junções das nervuras das asas dos machos de *Eulaema nigrita*.

Marco anatômico	%
1	3,656
2	21,073
3	7,133
4	9,649
5	7,627
6	1,276
7	8,811
8	6,363
9	7,118
10	3,952
11	7,426
12	1,738
13	10,057
14	2,97
15	0,274
16	0,431
17	0,434
18	0,011
	100%

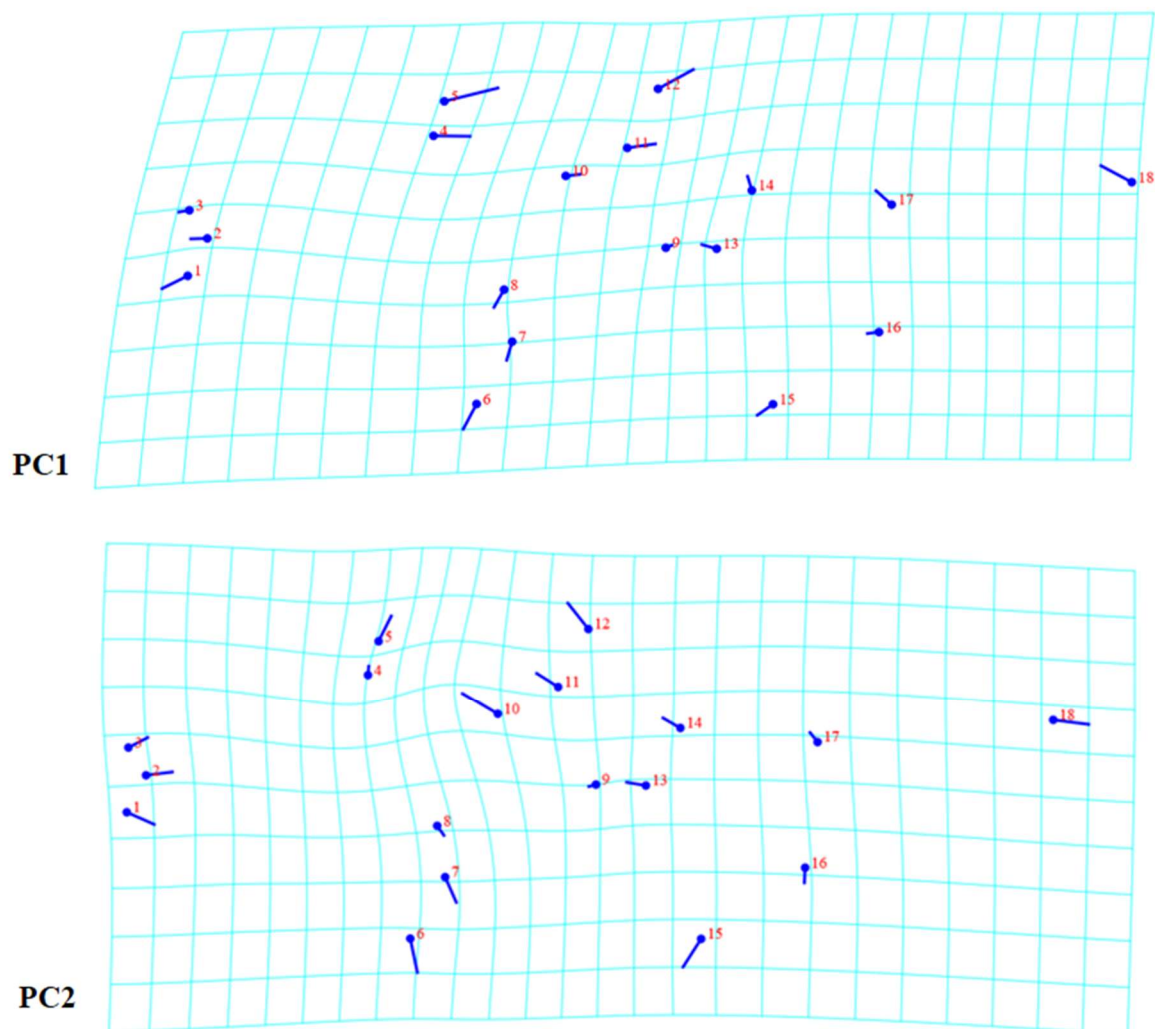
A partir dos resíduos de Procrustes das coordenadas Cartesianas alinhadas dos 18 marcos anatômicos em duas dimensões (eixo X e Y), foi realizada a análise de componente principal (PCA) que gerou 32 medidas de deformações relativas (Componentes Principais). Os 3 primeiros componentes principais juntos apresentaram 47,222% da variação presente na amostra, sendo o primeiro Componente Principal (PC1) responsável por 20,349% da variação, o PC2 por 14,729% e o PC3 por 12,144%, visto que a ordenação dos componentes se dá em ordem decrescente de acordo com a variação. A porcentagem acumulativa da variação na amostra atingiu 91,333% através dos 15 primeiros componentes principais (Figura 26).

Figura 26. Representação gráfica da porcentagem da variância das 32 medidas de deformações relativas dos Componentes Principais.



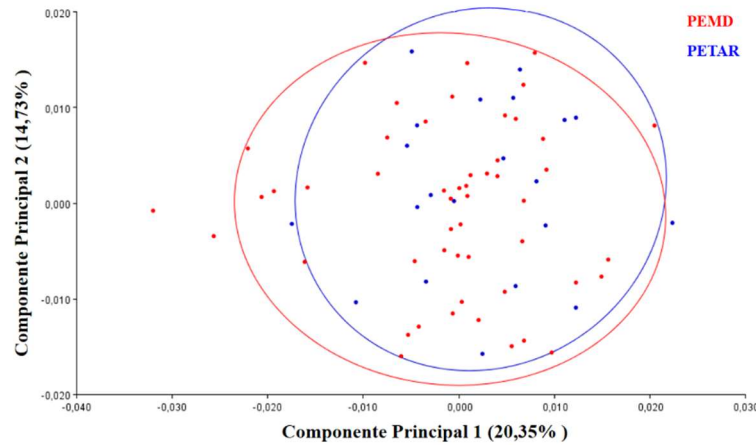
Através das grades de deformação (*thin-plate spline*) podemos observar os principais marcos anatômicos responsáveis pela mudança da forma através do Componente Principal 1 (PC1) e o PC2 (Figura 27). A partir da análise das grades de deformação, é possível visualizar que para o eixo PC1, a maior variação ocorreu nos marcos 1, 4, 5, 6, 11, 12 e 18 e no eixo PC2 foram nos marcos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 15 e 18. Estas grades de deformação são constituídas por linhas que formam uma malha quadriculada, onde estão sobrepostos os marcos anatômicos que indicam a forma consenso (representados pelos pontos) e o comprimento e a direção das retas indicam o movimento da forma inicial para a correspondente modificação encontrada (representadas pelas hastes). Esta variação da forma inicial para forma final é o que gera a deformação observada na grade.

Figura 27. Mudança da forma observada em asas da espécie *Eulaema nigrita* através das grades de deformação (*Thin-plate spline*), representada pelo Componente Principal 1 (PC1) e 2 (PC2). Os marcos anatômicos da forma consenso estão representados pelos pontos, já o comprimento e a direção da reta indicam o movimento da forma inicial para a correspondente modificação encontrada.



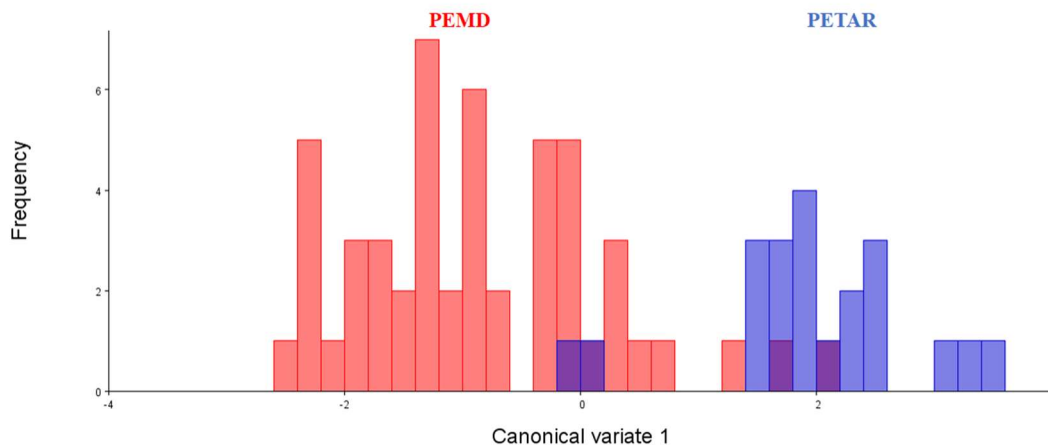
Na figura 28, podemos verificar o gráfico de dispersão referente a análise de componente principal, o qual está representado pelos eixos que tiveram a maior porcentagem de variação entre os grupos (PC1 e PC2). Pode ser visualizado que em nenhum dos eixos houve variação evidente entre as amostras de *Eulaema nigrita* provenientes do PEMD e PETAR.

Figura 28. Representação gráfica da Análise de Componente Principal das amostras de *Eulaema nigrita* provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio – SP e Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), Apiaí -SP, obtida a partir das análises dos 18 pontos anatômicos marcados nas junções de nervuras das asas.



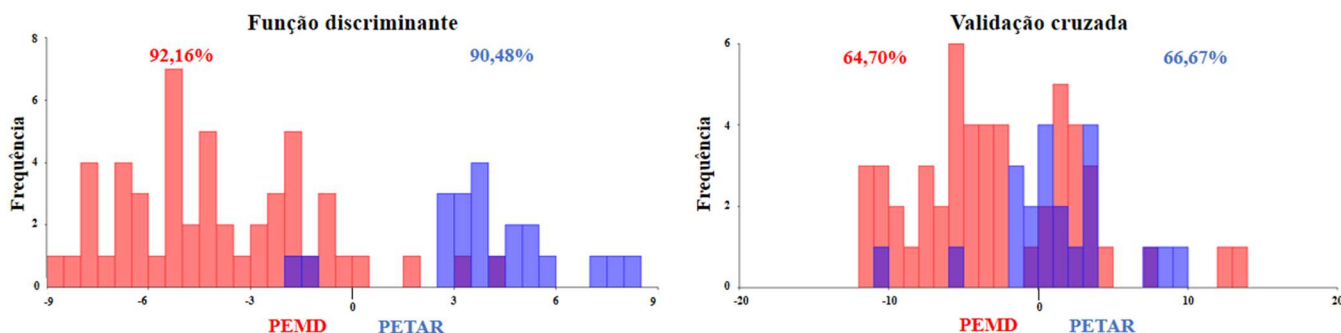
A partir da matriz de covariância gerada a partir dos resíduos de Procrustes, realizamos a Análise de Variáveis Canônicas (CVA) e obtivemos como resultado a distância quadradas de Mahalanobis (2,802; $p < 0,0001$), a distância de Procrustes (0,008; $p = 0,0201$) e a representação gráfica para (CVA) (Figura 29), as quais juntas indicaram uma falta de diferenciação entre as amostras de *Eulaema nigrita* provenientes do PEMD e PETAR.

Figura 29. Representação gráfica da Análise de Variáveis Canônicas das amostras de *Eulaema nigrita* provenientes do Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio – SP e Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), Apiaí -SP, obtida a partir das análises dos 18 pontos anatômicos marcados nas junções de nervuras das asas.



A Análise de Função Discriminante (DFA) mostrou que 92,16% dos indivíduos do PEMD e 90,48% dos indivíduos do PETAR foram classificados corretamente dentro de seus respectivos grupos, apesar disso, os valores para a validação cruzada, mostraram que apenas 64,70% e 66,67% dos indivíduos do PEMD e PETAR, respectivamente, foram classificados corretamente, ou seja, uma classificação praticamente aleatória (Figura 30).

Figura 30. Discriminação par a par dos grupos estudados pela Análise de Função Discriminante e pelo teste de Validação Cruzada, com as taxas de acerto na classificação dentro de suas respectivas localidades para amostras de abelhas da espécie *Eulaema nigrita*.



Os valores obtidos para as distâncias de Mahalanobis e as distâncias de Procrustes geradas pela DFA, respectivamente foram: 2,802 ($p\text{-values} = 0,0177$) e 0,008 ($p\text{-values} = 0,0230$), sendo esses valores iguais aos gerados pela CVA para estas mesmas distâncias.

4.3.2 Avaliação da assimetria

Foram avaliadas as asas anteriores direita, esquerda e suas cópias de espécimes de *Eulaema nigrita*, sendo 51 indivíduos amostrados no PEMD e 21 indivíduos amostrados no PETAR. Os resultados obtidos através das análises de Procrustes ANOVA para as coordenadas de forma e para o tamanho do centróide, podem ser verificados na tabela 11.

Tabela 11. Procrustes ANOVA para as coordenadas de forma e para o tamanho do centróide das asas anteriores de espécimes de *Eulaema nigrita* coletadas no Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), Teodoro Sampaio - SP e Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, Apiaí - SP, no período compreendido entre junho/2014 a abril/2015.

PEMD				
Tamanho do centróide				
Efeitos	MS	GL	F	p
Indivíduo	443,992121	50	136,17	<0,0001
Lado (AD)	10,609873	1	3,25	0,0773
Indivíduo x lado (AF)	3,260584	50	31,47	<0,0001
Erro	0,103596	102		
Forma (Procrustes ANOVA)				
Efeitos	MS	GL	F	p
Indivíduo	0,0000547604	1600	8,84	<0,0001
Lado (AD)	0,0000796390	32	12,86	<0,0001
Indivíduo x lado (AF)	0,0000061951	1600	9,81	<0,0001
Erro	0,0000006317	3264		
PETAR				
Tamanho do centróide				
Efeitos	MS	GL	F	p
Indivíduo	498,297819	20	124,29	<0,0001
Lado (AD)	41,536755	1	10,36	0,0043
Indivíduo x lado (AF)	4,009251	20	221,40	<0,0001
Erro	0,018108	42		
Forma (Procrustes ANOVA)				
Efeitos	MS	GL	F	p
Indivíduo	0,0000513769	640	7,92	<0,0001
Lado (AD)	0,0000321533	32	4,96	<0,0001
Indivíduo x lado (AF)	0,0000064849	640	60,83	<0,0001
Erro	0,0000001066	1344		

(AD) Assimetria direcional; (AF) Assimetria flutuante; (MS) Média quadrada; (GL) Graus de liberdade; (F) Teste estatístico F; (p) Probabilidade de significância (valor-p).

As análises de Procrustes ANOVA para as coordenadas de forma e para o tamanho do centróide realizadas nas amostras de ambos os parques mostraram diferenças significantes ($p < 0,0001$), indicando a presença de variação individual e assimetria flutuante. Quanto a

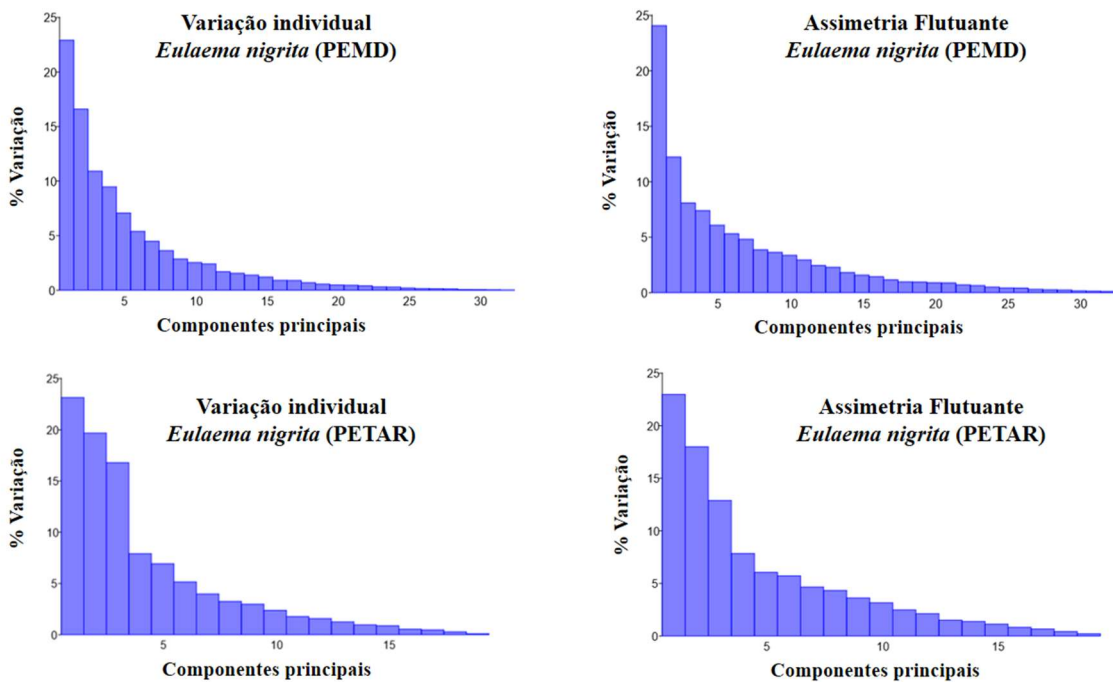
assimetria direcional houve diferença significativa ($p < 0,0001$) para as coordenadas de forma nas amostras de ambos os parques, todavia para o tamanho do centróide as análises indicaram diferença significativa ($p < 0,005$) apenas para a amostra do PETAR.

O valor da média quadrada (MS) do erro que foi calculado pela digitalização das asas que foram marcadas repetidamente foi inferior ao valor da MS para o efeito lado (assimetria direcional) e efeito interação indivíduo x lado (assimetria flutuante). Esse resultado demonstra confiabilidade referente ao procedimento de marcação dos pontos anatômicos, confirmando a presença de assimetria flutuante e assimetria direcional na população analisada, ou seja, a variação constatada não é devida a erros na marcação dos marcos anatômicos.

Após realizarmos as análises de regressão multivariada, obtivemos os valores para os efeitos alométricos, sendo que estes foram baixos e não significativos, tanto para os níveis de variação individual quanto para assimetria flutuante, em ambas as populações, sendo no PEMD (variação individual = 2,8703%, $P = 0,1317$ e AF = 3,3197%, $P = 0,0666$) e no PETAR (variação individual = 10,3522%, $P = 0,0199$ e AF = 6,4252 %, $P = 0,1839$).

Em seguida, foram calculadas as matrizes de covariância dos resíduos da análise de regressão multivariada, referente aos componentes simétrico (variação individual) e assimétrico (assimetria flutuante) e a partir dessas matrizes foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) para obtermos os padrões de variação individual e de assimetria flutuante das asas (Figura 31).

Figura 31. Padrões de variação individual e assimetria flutuante das asas anteriores de *Eulaema nigrita*, representados pelos componentes principais obtidos a partir das matrizes de covariância dos componentes simétricos e assimétricos.



Na figura acima podemos observar os padrões de variação individual e de assimetria flutuante obtidos a partir das análises de componentes principais. Baseado na porcentagem do total de variação exibido pelos componentes principais (PCs), podemos verificar que a população de abelhas *El. nigrita* do PETAR exibiu maior assimetria flutuante e variação individual do que comparado com a população do PEMD.

Na amostra do PEMD, para os padrões de variação individual, foram necessários os três primeiros componentes principais (PCs) para explicar 50,431% da variação da forma na população analisada, sendo o primeiro Componente Principal (PC1) responsável por 22,912% da variação, o PC2 por 16,605% e o PC3 por 10,914%, sendo que a porcentagem acumulativa da variação na amostra atingiu 90,043% através dos 12 primeiros componentes principais. Para os padrões de assimetria flutuante, foram necessários os quatro primeiros componentes principais (PCs) para explicar 51,770% da variação da forma presente na amostra, sendo o primeiro Componente Principal (PC1) responsável por 24,070% da variação, o PC2 por

12,223%, o PC3 por 8,085% e o PC4 por 7,393%. A porcentagem acumulativa da variação na amostra atingiu 89,889% através dos 15 primeiros componentes principais.

Já na amostra do PETAR, para os padrões de variação individual, os três primeiros componentes principais (PCs) explicaram 59,618% da variação da forma na população analisada, sendo o primeiro Componente Principal (PC1) responsável por 23,148% da variação, o PC2 por 19,682% e o PC3 por 16,788%, sendo que a porcentagem acumulativa da variação na amostra atingiu 89,795% através dos nove primeiros componentes principais. Para os padrões de assimetria flutuante, os três primeiros componentes principais (PCs) explicaram 53,867% da variação da forma presente na amostra, sendo o primeiro Componente Principal (PC1) responsável por 22,978% da variação, o PC2 por 17,998% e o PC3 por 12,891%. A porcentagem acumulativa da variação na amostra atingiu 89,253% através dos 10 primeiros componentes principais.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

5.1 Ecologia das abelhas da tribo Euglossini

Dentre as localidades amostradas no presente trabalho, foi observado uma diferença relevante quanto aos valores de abundância de indivíduos e riqueza de espécies coletados. De acordo com Souza *et al.* (2005), variações na riqueza das espécies entre diferentes regiões podem ser atribuídas a diferenças na metodologia de coleta, como os tipos de fragrâncias e esforço de coleta, além de outras particularidades dos locais estudados, como por exemplo, o tipo de vegetação, clima, solo e ainda as diferenças na composição de espécies vegetais. Além disso, de acordo com Murlis *et al.* (1992) fatores como velocidade do vento, temperatura do ar e direção do vento podem levar a diferentes concentrações e velocidade de dispersão de odores, levando também a variações na riqueza das espécies. Machado *et al.* (2018) compararam amostras de abelhas Euglossini coletadas em remanescentes de Mata Atlântica de cinco regiões do sudeste do Brasil, das quais duas são as mesmas estudadas no presente trabalho. Foram amostradas três diferentes fisionomias de Mata Atlântica (Florestas mistas de Araucária com campos de alta altitude, Floresta Estacional Semidecidual e Floresta Ombrófila Densa), nas quais foram observadas diferenças na abundância e riqueza de espécies amostradas entre os locais com diferentes formações vegetais, sendo essas diferenças atribuídas as variáveis climáticas, principalmente a umidade relativa, a qual explicou duas vezes mais as diferenças observadas nas comunidades Euglossini do que a simples variação espacial. Além disso, foram observadas diferenças na composição das comunidades de abelhas das orquídeas entre locais com cerca de 400 km de distância, já entre outros locais mais afastados não foram observadas diferenças. Uma possível explicação é que as áreas amostradas com distâncias de 400 km uma

da outra também são diferentes em relação ao clima, especialmente à altitude. Costa e Francoy (2017) realizaram um estudo da fauna de abelhas das orquídeas em uma região com diferentes fitofisionomias, o qual revelou que diferenças nas paisagens contribuem para padrões diversos de riqueza, abundância e dominância de abelhas da tribo Euglossini em uma mesma região. No caso das áreas amostradas neste estudo, foi utilizada a mesma metodologia, porém há diferenças no tipo de Mata Atlântica, sendo o PETAR constituído pelo domínio de floresta ombrófila densa e o PEMD pela floresta estacional semidecidual, além de diferenças no clima e no solo. No presente estudo acredita-se que a diferença na abundância e riqueza entre os parques se dá principalmente devido a interferências climáticas durante a amostragem realizada no PETAR. Na maioria dos dias em que foram realizadas as coletas, as condições climáticas apresentadas neste parque não foram favoráveis. Mesmo com o planejamento dos dias consecutivos em que seriam realizadas as coletas mensais, sendo um dia em cada parque e através da consulta prévia sobre a previsão climatológica em ambos os parques, a mudança do clima no PETAR foi constante, sendo presenciado dias com amanhecer de sol e em instantes a nebulosidade, precipitação e baixa temperatura predominavam durante todo o tempo de coleta. Essas características as quais são comumente encontradas no local, podem ter influenciado nas atividades de voo e coleta de compostos aromáticos pelos machos de abelhas da tribo Euglossini.

No PETAR, embora a amostragem tenha sido influenciada por fatores ambientais, verificamos que dentre os poucos indivíduos coletados, a espécie *El. nigrata* foi a espécie mais abundante. Alguns estudos sugerem a possibilidade de que essa espécie possa ser um bioindicador de qualidade ambiental negativa (MORATO *et al.*, 1992; MORATO, 1994; PERUQUETTI *et al.*, 1999; NEMÉSIO e SILVEIRA, 2006; AGUIAR e GAGLIANONE, 2008). No entanto, o PETAR constitui uma Unidade de Conservação de Proteção Integral que possui conexões com outras áreas naturais. Esse parque faz parte do contínuo ecológico de

Paranapiacaba, juntamente com os Parques Estaduais Carlos Botelho, Intervales e a Estação Ecológica de Xitué, sendo que juntos representam uma das áreas melhor conservadas entre os remanescentes de Mata Atlântica no Brasil, totalizando mais de 120.000 ha de florestas e ainda se for considerado o entorno florestado destas áreas, a Área de Proteção Ambiental da Serra do Mar e outras UC próximas, como o Mosaico de unidades de conservação de Jacupiranga, compreendem mais de 300.000 ha de florestas (SÃO PAULO, 2010). Sendo assim, pode-se sugerir que *El. nigrita* seja possivelmente uma espécie relacionada tanto a ambientes preservados ou não. Além disso, acreditamos que *El. nigrita* seja uma abelha mais resistente às pressões ambientais, pois foi coletada durante condições ambientais onde dificilmente são encontradas outras abelhas forrageando. De acordo com May e Casey (1983) abelhas grandes e pubescentes como as dos gêneros *Eulaema* e *Eufriesea*, possuem capacidade de regular a temperatura torácica e abdominal, ou seja, perante baixas temperaturas elas aumentam a produção de calor metabólico mantendo assim sua temperatura corporal constante, sendo que praticamente todo o calor deve ser gerado pelos músculos de voo do tórax, já a regulação da temperatura corporal em abelhas menores, como *Euglossa*, é um pouco menos rigorosa devido ao menor tamanho e a falta de isolamento. Adicionalmente, Casey *et al.* (1985) dividiu as abelhas da tribo Euglossini em dois grupos considerando as características físicas e a habilidade de voo, sendo que os gêneros *Eulaema* e *Eufriesea*, abrangem as espécies com tórax pilosos ou pubescentes, as quais são mais robustas, pilosas e apresentaram níveis mais altos de metabolismo energético refletindo numa maior frequência de batimento alar do que as abelhas glabras, as quais pertencem aos gêneros *Euglossa* e *Exaerete*, caracterizadas por não terem pilosidade externa e possuírem cores vivas e metálicas. Deste modo, uma hipótese que explicaria essa espécie ter sido amostrada diante das condições ambientais presenciadas no PETAR, pode ser devido ao seu tamanho, pois trata-se de uma espécie mais robusta comparada a outras espécies, sendo assim, possivelmente possuem maiores condições de voar em baixas

temperaturas, devido ao tamanho de sua musculatura alar e por possuírem um maior metabolismo energético.

Eg. pleosticta foi a espécie mais abundante no PEMD, assim como também em outras áreas de Mata Atlântica estudadas por outros pesquisadores (REBÊLO e GARÓFALO, 1991, 1997; JESUS e GARÓFALO, 2000; SOFIA e SUZUKI, 2004). Já as outras espécies amostradas apresentaram menor abundância. Diante disso verificamos que o padrão geral da abundância das abelhas no PEMD foi similar ao apresentado em outros estudos, no qual a maioria das espécies são representadas por um menor número de indivíduos, enquanto um menor número de espécies está representado por um grande número de indivíduos (RICKLEFS *et al.*, 1969; JANZEN *et al.*, 1982; ACKERMAN, 1983; OLIVEIRA e CAMPOS, 1995; REBÊLO e GARÓFALO, 1997; SILVA e REBÊLO, 2002). Apesar do baixo número de indivíduos coletados no PETAR, os quais a maioria foram amostrados em apenas um único mês de coleta, é possível também verificar o maior número de indivíduos para uma única espécie, *El. nigrita*, enquanto as outras espécies foram representadas por poucos indivíduos.

No PEMD, *Eg. leucotricha*, *Eg. securigera* e *Eg. truncata*, foram as espécies amostradas com a menor frequência. De acordo com Rebêlo e Garófalo (1991), a baixa frequência de algumas espécies pode estar também relacionada à baixa associação dessas espécies de abelhas Euglossini com as fragrâncias utilizadas como iscas. Porém a escolha das fragrâncias utilizadas no presente estudo (eucaliptol, vanilina, eugenol, salicilato de metila e acetato de benzila) foi realizada de acordo com a metodologia utilizada por outros autores, os quais obtiveram como resultado uma maior eficácia na atração dos machos de abelhas Euglossini com a utilização dessas fragrâncias, em áreas de Mata Atlântica. Além disso, todas essas espécies atraídas pelas fragrâncias utilizadas no PEMD foram encontradas em diferentes remanescentes florestais semi-decíduais no sudeste do Brasil (REBÊLO e GARÓFALO, 1991, 1997; GARÓFALO *et*

al., 1998a; JESUS e GARÓFALO, 2000), indicando que a fauna de abelhas Euglossini presente em florestas semi-decíduais é similar.

Como esperado, algumas espécies são altamente sazonais, como foi o caso de *Ef. violacea*, enquanto outras são encontradas abundantemente ao longo do ano, como *Eg. annectans*, *Eg. pleosticta* e *El. nigrita*, resultados obtidos no PEMD, corroborando com Dressler (1982a), o qual cita que a maioria das espécies dos gêneros *Euglossa* e *Eulaema* são encontradas o ano todo, enquanto o gênero *Eufriesea* inclui espécies altamente sazonais, sendo algumas espécies ativas durante dois ou três meses no ano, geralmente na estação chuvosa. Isso explica o aparecimento de abelhas desse gênero a partir do 6º mês de coleta, equivalente ao mês de outubro/2014, período incluso dentro da estação chuvosa. A captura de abelhas dos gêneros *Euglossa* e *Eulaema* no PEMD durante quase todos os meses de coleta, pode estar relacionada com o fato de abelhas desses gêneros estarem presentes nas diferentes estações climáticas, fato também observado por Ackerman (1983).

É interessante observar que a espécie *Ex. smaragdina*, conhecida como cleptoparasita de *El. nigrita* (GARÓFALO e ROZEN, 2001) foi amostrada em cinco meses de coleta no PEMD, nos quais podemos observar também a presença de sua espécie hospedeira nesse período. Knoll (2016), realizou amostragens mensais as quais revelaram um padrão sazonal para *El. nigrita* e *Ex. smaragdina*, sendo mais numerosas durante os meses úmidos, atingindo um pico em dezembro, janeiro e fevereiro.

Com relação aos dados referente a abundância de indivíduos e riqueza de espécies dos espécimes amostrados no PEMD confrontados com fatores ambientais, vale ressaltar o modo como as estações climáticas neste parque geralmente ocorrem. Segundo dados do documento referente ao plano de manejo do PEMD (SÃO PAULO, 2006), o período seco do ano não é tão severo, pois apesar de apresentar pouca chuva, as temperaturas mais baixas do ano ocorrem nesse período. Ainda segundo o mesmo documento, o qual foi elaborado por vários autores,

numa análise utilizando-se dados de temperatura e precipitação de um período de 26 anos (1977 a 2002), foi observado que os meses úmidos (precipitação acima de 100 mm) estão concentrados no período de setembro a março. Assim, levando em consideração esses dados, a estação fria/seca, apesar de não ser tão severa, está representada no período de abril a agosto.

Diante dessas informações e conforme verificado nos resultados deste trabalho, a maior frequência de indivíduos ocorreu na estação quente/úmida, corroborando com as pesquisas realizadas por outros autores, como, Rebêlo e Garófalo (1991), Oliveira e Campos (1995), Rebêlo e Garófalo (1997), Garófalo *et al.* (1998a), Oliveira (1999), Silva e Rebêlo (1999) e (2002), Rocha-Filho e Garófalo (2014).

Em relação a abundância e riqueza confrontados com valores de temperatura média apresentada no dia da coleta no PEMD, foi verificado uma correlação moderada e positiva apenas para as variáveis riqueza confrontada com temperatura, já para as variáveis abundância e temperatura não houve correlação significativa. Uma hipótese para explicar esse resultado seria devido a dominância e abundância da espécie *Eg. pleosticta*, pois como verificado houve correlação moderada, positiva e significativa entre a temperatura e a abundância de todas as outras espécies quando se excluiu a espécie *Eg. pleosticta* da análise de correlação. Assim, pode ser confirmado que a temperatura registrada durante o período de amostragem não influenciou na atividade de voo e coleta de compostos aromáticos pela espécie *Eg. pleosticta*. Uma hipótese que pode explicar esse fato, pode ser devido a dominância dessa espécie nesse local, onde provavelmente ela deva estar bem adaptada as condições ambientais presentes.

Já no PETAR ao longo de todo o período de amostragem a condição climática apresentada foi predominantemente úmida e chuvosa, com temperatura média nos dias de coleta variando entre 12,8°C a 20,1°, exceto no mês de dezembro/2014. Isso pode ser explicado de acordo com as informações disponíveis no documento referente ao plano de manejo do PETAR (SÃO PAULO, 2010), o qual cita que o clima regional do local é caracterizado como

subtropical permanente úmido, controlado por massas tropicais e polares marítimas. Nesta unidade regional a massa polar atlântica atua durante mais de 60% do tempo, em oposição aos 40% da massa tropical atlântica. Essas condições conferem a esta área características subtropicais e condição de umidade permanente, além disso, o trecho sul do estado de São Paulo apresenta uma maior variação espacial da pluviosidade. De acordo com Karmann e Ferrari (2002), as amplitudes térmicas anuais são relativamente baixas, em grande parte devido à presença da vizinhança oceânica.

Diante dessas informações e dos resultados apresentados neste trabalho, verifica-se que o menor número de indivíduos amostrados no PETAR ao longo de todo o ano de coleta, foi influenciado por fatores ambientais, visto que a abundância total foi representada praticamente pela abundância de indivíduos amostrada em dezembro/2014, mês no qual foi apresentada a maior temperatura média registrada no dia da coleta em todo o período de amostragem. Esses resultados indicam que a temperatura em conjunto com a umidade relativa do ar apresentadas neste dia, foram as mais propícias ao longo do período de amostragens, entre maio/2014 a abril/2015, para as atividades de voo e coleta de compostos aromáticos pelos machos de abelhas da tribo Euglossini no PETAR. Através da análise de correlação realizada entre as variáveis abundância e riqueza confrontadas com a temperatura média nos dias de coleta verificou-se que as temperaturas baixas encontradas no PETAR, interferiram negativamente nas atividades de forrageamento dos machos de Euglossini, fato observado nos períodos em que a temperatura média foi menor que 20°C, onde não foi observado a presença de nenhum indivíduo nas iscas odoríferas.

Nossos resultados corroboram com Rêbelo e Garófalo (1991), os quais observaram poucos machos presentes nas iscas-odores em períodos mais frios, indicando uma menor atividade dos machos frente a tais fatores ambientais. Esses autores verificaram que os machos exibem maior abundância no período entre novembro e fevereiro, após um período chuvoso, e

menor abundância no inverno. Do mesmo modo, em áreas de Mata Atlântica, Sofia *et al.*, (2004) e Ramalho *et al.* (2009) descreveram uma maior frequência de machos de Euglossini nos meses representados por temperaturas maiores, assim como Bezerra e Martins (2001), também obtiveram uma correlação positiva entre a abundância de Euglossini e as médias mensais de temperatura. Silveira (2010), também obteve uma correlação positiva entre essas variáveis, porém em áreas de Cerrado.

Observamos que não houve correlação significativa entre abundância de indivíduos e riqueza de espécies confrontados com valores de umidade relativa e precipitação em ambos os parques. Nossos resultados corroboram em parte com outros trabalhos realizados na Mata Atlântica (NEVES e VIANA, 1997; MARTINS e SOUZA, 2005) e no Cerrado (MENDES *et al.*, 2008), os quais também não tiveram relação entre o número de indivíduos ou de espécies capturadas e a precipitação pluviométrica. Apesar de não significativa a relação da abundância de indivíduos e riqueza de espécies confrontados com as médias da umidade relativa, em ambos os parques, podemos observar que essa variável ambiental foi inversamente proporcional a atividade das abelhas da tribo Euglossini, corroborando com Carvalho *et al.* (2006), os quais observaram uma maior atividade de abelhas Euglossini em menores médias de umidade relativa em áreas de Mata Atlântica.

Contudo, estudos descrevem a interferência negativa de características ambientais, tais como a precipitação e a nebulosidade, nas atividades de coleta de substâncias aromáticas dos machos de Euglossini, de forma que foram observados poucos ou até mesmo nenhum indivíduo diante de tais fatores ambientais (INOUYE, 1975; WILLIAMS, 1982; TONHASCA *et al.*, 2002). Essas características ambientais foram comumente encontradas no PETAR durante os meses que não foram representados por nenhum indivíduo.

Com relação a preferência por compostos aromáticos, a eficácia de eucaliptol para atrair os machos Euglossini é bem conhecida (DRESSLER, 1982; ACKERMAN, 1989; REBÊLO e

GARÓFALO,1991; MORATO *et al.*, 1992; SILVA e REBÊLO, 2002). Os resultados obtidos neste trabalho, os quais a maior atratividade foi pela isca com a fragrância de eucaliptol, corroboram com outros autores, tais como, Rêbello e Garófalo (1991), Rêbello e Garófalo (1997), Brito e Rêgo (2001), Silva e Rebêlo (2002), Sofia *et al.* (2004), Sofia e Suzuki (2004), Alvarenga *et al.* (2007).

A maior atratividade apresentada pela fragrância de eucaliptol pode ter relação com a volatilidade dessa substância, pois em compostos aromáticos muito voláteis, o odor pode atingir maiores distâncias e conseqüentemente atrair um maior número de abelhas Euglossini (SILVA e REBELO, 2002; STORCK-TONON *et al.*, 2009; JUSTINO e AUGUSTO, 2010). Assim, a maior volatilidade de eucaliptol possibilitou uma maior distribuição de seu odor em ambos os parques, conseqüentemente, atraindo uma maior abundância e riqueza de abelhas.

Vale ressaltar que as fragrâncias utilizadas neste estudo, eucaliptol (ou cineol), vanilina, eugenol, acetato de benzila e salicilato de metila, estão entre as mais frequentemente utilizadas em levantamentos faunísticos de Euglossini em áreas de Mata Atlântica, como pode ser verificado nos trabalhos realizados por Rebêlo e Garófalo (1991), Rebêlo e Garófalo (1997), Garófalo *et al.* (1998a), Peruquetti *et al.* (1999), Jesus e Garófalo (2000), Bezerra e Martins (2001), Brito e Rêgo (2001), Silva e Rebêlo (2002), Tonhasca *et al.* (2002), Nemésio (2003), Sofia *et al.* (2004), Sofia e Suzuki (2004), Souza *et al.* (2005), Millet-Pinheiro e Schindwein (2005), Darrault *et al.* (2006), Nemésio e Silveira (2006).

Em áreas de Mata Atlântica, Rebêlo e Garófalo (1997) obtiveram eugenol e vanilina como as fragrâncias mais atrativas; Peruquetti *et al.* (1999) estudaram duas áreas, nas quais o maior número de espécies foi atraído por eugenol e o maior número de indivíduos em uma delas foi atraído por acetato de benzila e na outra área por vanilina. Bezerra e Martins (2001), nos fragmentos de Mata Atlântica estudados, verificaram que acetato de benzila foi a fragrância com maior preferência pela maioria das espécies. Todavia, os compostos aromáticos, vanilina,

eugenol, salicilato de metila e acetato de benzila, não foram tão atrativos em comparação a fragrância de eucaliptol, para os machos de Euglossini no PEMD e PETAR. No entanto, temos que levar em consideração que variações geográficas na preferência por fragrâncias são comuns (PEARSON e DRESSLER, 1985; ACKERMAN, 1989; ROCHA-FILHO e GARÓFALO, 2014). No trabalho realizado por Rocha-Filho e Garófalo (2014), machos de *El. cingulata* mostraram preferência por β -ionona na Ilha de Anchieta e por acetato de benzila na região de Picinguaba, sendo que essas áreas de estudo estão aproximadamente a 30 km de distância em linha reta uma da outra.

5.2 Avaliação morfométrica de asas da espécie *Euglossa pleosticta*

A assimetria flutuante (AF) constitui-se de pequenas variações aleatórias em características presentes nos lados direito e esquerdo que se desviam da simetria, sendo um parâmetro amplamente usado para medir a instabilidade de desenvolvimento de indivíduos (GRAHAM *et al.*, 2010). Desvios aleatórios e sutis da simetria bilateral (AF) têm sido de grande interesse para pesquisadores que desejam investigar a suscetibilidade de organismos perante mudanças na qualidade ambiental (BEASLEY *et al.*, 2013). Existe um consenso de que as anormalidades nos padrões de venação das asas dos insetos são causadas por fatores genéticos e ambientais (MAZEED, 2011; LOPUCH e TOFILSKI, 2016), sendo que os mecanismos que explicam pequenos desvios da venação das asas em insetos holometabólicos ocorrem durante a metamorfose, quando os rudimentos da venação ainda estão em processo de desenvolvimento (TRUMAN e RIDDIFORD, 2019).

Em nosso trabalho, os espécimes de *Eg. pleosticta* foram avaliados de acordo com dois tipos de classificadores: individualmente e os indivíduos agrupados de acordo com seu período de desenvolvimento. Nossos resultados apontaram diferenças em ambos os tipos de

classificadores, apresentando diferenças tanto para as variáveis de forma quanto tamanho em todos os níveis analisados (variação individual, assimetria direcional e assimetria flutuante), indicando assim a ocorrência de alguma instabilidade durante o desenvolvimento dos espécimes de *Eg. pleosticta*. Tivemos apenas uma exceção, quando os indivíduos foram classificados de acordo com seu período de desenvolvimento, na análise utilizando o tamanho do centróide, as diferenças não foram significantes somente para o nível de assimetria flutuante. Esse resultado não significativo pode ser explicado. Na análise realizada inicialmente, quando os espécimes foram avaliados utilizando o classificador: “individualmente”, tomamos a amostra como um todo e obtivemos diferenças gerais de tamanho entre as asas direitas e esquerda. Entretanto, se levamos em consideração somente os indivíduos coletados dentro de um mesmo período de desenvolvimento, eles são mais homogêneos quanto ao tamanho das duas asas, isso explica a ausência de assimetria flutuante quando utilizado a medida única de tamanho de centróide para cada grupo. Sendo assim, provavelmente a diferença encontrada na análise geral está entre os períodos.

De acordo com Moller e Swaddle (1997), perante certas condições ambientais ou em um ambiente em particular, pode haver instabilidade no desenvolvimento dos indivíduos, devido à incapacidade do genótipo em manter o fenótipo. Assim, qualquer assimetria observada entre os lados é consequência de alguma perturbação ambiental, visto que em organismos bilaterais, um único gene é responsável pela expressão de uma característica em ambos os lados do organismo. Portanto, a assimetria flutuante pode ser um bom indicador de níveis de estresse ou impacto ambiental (MARKOW, 1995).

Vale ressaltar que os indivíduos analisados foram coletados dentro de uma Unidade de Conservação de Proteção Integral, o Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), localizado no município de Teodoro Sampaio-SP, com uma área de aproximadamente 34.000 ha de floresta tropical estacional semidecidual (mata atlântica de interior). É importante destacar que o PEMD

preserva uma das últimas áreas de floresta de planalto do país com ecossistemas ainda originais da região, todavia em seu entorno não há áreas conservadas, isso é devido ao grande desmatamento e fragmentação da vegetação ocorrido na região em torno do ano de 1940 para a introdução de pastagens para criação de gado, que ainda existem atualmente. Contudo, não podemos afirmar ao certo quais fatores influenciaram a instabilidade no desenvolvimento dos espécimes de *Eg. pleosticta*, porém diante dos resultados encontrados, principalmente quando analisamos os indivíduos de acordo com seu período desenvolvimento, acreditamos que a temperatura seja um dos fatores que estejam ocasionando estresse ambiental. De acordo com Parsons (1992) e Markow (1995), inúmeros fatores podem influenciar os níveis de assimetria flutuante, entre eles, endogamia, heterozigozidade e recombinação são considerados os fatores genômicos de perturbações, além das interferências ambientais de diversas naturezas e intensidades. Além disso, estudos com insetos verificaram alterações nos níveis de assimetria flutuante sob fatores de estresse ambiental, como por exemplo, temperatura (CHAPMAN e GOULSON, 2000; TROTTA *et al.*, 2005), infecção parasitária (POLAK, 1993), estresse nutricional (IMASHEVA *et al.*, 1999), resíduos de agrotóxicos (ABAGA *et al.*, 2011; ANTIPIN e IMASHEVA, 2011), assim como também sob fatores de estresse genético, como consanguinidade (CARTER *et al.*, 2009), homozigose (MESSIER e MITTON, 1996) ou hibridização (ROSS e ROBERTSON, 1990).

Verificamos no item 4.1.1 deste trabalho que *Eg. pleosticta* foi a espécie dominante comparada à outras espécies amostradas ao longo do ano de coleta no PEMD. Além disso, observamos que a temperatura não influenciou na atividade de voo e coleta de compostos aromáticos por esta espécie. Uma hipótese que pode explicar esse fato, pode ser devido a dominância dessa espécie nesse local, onde provavelmente ela deva estar bem adaptada as condições ambientais presentes. Essa hipótese nos leva a pensar que possivelmente os níveis de assimetria flutuante encontrados ainda não estejam influenciando ao ponto dessa população

apresentar algum desequilíbrio, indicando que provavelmente haja uma plasticidade fisiológica ou fenotípica dessa espécie perante as condições ambientais presentes no local. De acordo com Futuyma (2009), a plasticidade fenotípica adaptativa, é a capacidade de um genótipo produzir diferentes resultados fenotípicos, dependendo das condições ambientais. Vale destacar que a plasticidade fenotípica pode ser considerada uma importante ferramenta adaptativa para a sobrevivência em ambientes instáveis e heterogêneos (PARSONS, 1990a).

Nossos dados corroboram em sua maioria com os encontrados por Grassi-Sella (2016), a qual comparou amostras de *Eg. pleosticta* coletadas em três diferentes localidades dentro do estado de São Paulo (Matão, Ubatuba e Santa Rita do Passa Quatro) e obteve diferenças significantes em todas as análises, constatando a presença de AF, AD e variação individual, com exceção apenas das amostras de Matão, que na análise de tamanho de centróide não apresentou diferença significativa ($p=0,852$) e também com Silva *et al.* (2009), os quais investigaram duas espécies da tribo Euglossini (*El. nigrita* e *Eg. pleosticta*) coletadas numa área de floresta semidecidual de 49 ha cercada por uma área de 98 ha de savana neotropical inalterada (cerrado), onde, ao analisarem os dados, verificaram a presença de AF e AD com ferramentas de morfometria tradicional. Segundo os autores, essa variação na simetria foi atribuída às variáveis climáticas e a interferência antrópica que atuaram durante o desenvolvimento destas abelhas. Ferreira (2016), também obteve, em seus resultados, taxas significativas de AF e AD em abelhas das espécies *Centris analis* e *Centris tarsata* coletadas em dois pomares de acerola localizados nas cidades de Petrolina-PE e Juazeiro-BA, sendo esse último um pomar convencional, no qual utilizaram agrotóxico na plantação. Do mesmo modo, Friedli *et al.* (2020) realizaram um estudo com indivíduos da espécie *Apis mellifera* expondo-os a neonicotinóides (classe de alguns inseticidas) e verificaram pela primeira vez um aumento da frequência de anormalidades das asas e através de análises de assimetria flutuante das asas verificaram uma maior instabilidade no desenvolvimento de insetos haploides (machos) em

comparação com diploides (fêmeas), fornecendo suporte à hipótese de O'Donnell e Beshers (2004), os quais apontam que haploides possuem uma maior suscetibilidade a estressores ambientais. Com relação aos nossos resultados, os quais utilizamos apenas machos, não podemos afirmar sobre a suscetibilidade dos haploides a fatores de estresse ambiental, porém uma análise futura sobre a AF em fêmeas poderá ser realizada para esclarecer essa questão.

A não ocorrência da perfeita simetria é atribuída a fatores estressantes de natureza genética e/ou ambiental nas populações (BORTOLOTTI e GABRIELSON, 1995). Sendo assim, a AF pode ser utilizada como um índice de biomonitoramento para se avaliar o sucesso reprodutivo de populações naturais, pois indica os efeitos de possíveis alterações no habitat sobre a integridade genotípica e fenotípica dos indivíduos de uma população (WAYNE *et al.*, 1986; SARRE e DEARN, 1991). Diante de nossos resultados, é importante destacar que a AF é uma ferramenta importante para pesquisas futuras, pois pode ser utilizada para monitorar os níveis de AF sobre a espécie em estudo, além de outras espécies. Visto que a sensibilidade desta técnica ao estresse ambiental corrobora para sua importância em estudos de conservação (DEPLEDGE e FOSSI, 1994; MØLLER, 1997).

Quanto a utilização da técnica de morfometria geométrica para avaliação morfológica, sabe-se que esta ferramenta tem se mostrado eficaz na identificação e separação de espécies, subespécies, ecotipos e na avaliação da diversidade de populações (FRANCOY *et al.*, 2008; 2009; FRANCOY e IMPERATRIZ-FONSECA, 2010; FRANCOY *et al.*, 2011; FRANCOY *et al.*, 2012; FRANCOY *et al.*, 2016). Em nosso trabalho, a análise de morfometria geométrica das asas anteriores foi eficiente para avaliarmos a população de *Euglossa pleosticta*, na qual os indivíduos foram classificados de acordo com seu período de desenvolvimento, onde verificamos em nossos resultados uma diferenciação entre as amostras e uma tendência a separação de dois grupos, os quais foram representados por aqueles indivíduos que tiveram o seu desenvolvimento total (quatro meses) durante cada uma das estações: fria/seca e

quente/úmida. Uma explicação clara dessa separação é a associação desses grupos com seu determinado período de desenvolvimento, o qual está relacionado com diferenças climáticas apresentadas em cada uma das estações em que passaram sua ontogênese. Vale ressaltar que tanto para as Análises de Variáveis Canônicas (CVA), assim como para as distâncias quadradas de Mahalanobis e para as distâncias de Procrustes obtivemos uma diferenciação significativa entre os grupos de indivíduos pertencentes a cada período de desenvolvimento. Diante dessas diferenças significativas obtidas nessas análises, podemos sugerir que influências ambientais climáticas estejam interferindo no desenvolvimento desses indivíduos, visto que os espécimes de *Eg. pleosticta* foram separados em diferentes grupos de acordo com a estação que tiveram seu desenvolvimento. Esses resultados corroboram com as análises de assimetria, onde a presença de AF verificada indica a ocorrência de alguma instabilidade durante o desenvolvimento dos espécimes de *Eg. pleosticta*, podendo a causa ser devido a algum fator ambiental, como a temperatura ou genético.

Também utilizando a técnica de morfometria geométrica, realizamos o teste de hipóteses de modularidade nas asas dos espécimes de *Eg. pleosticta*. Vale ressaltar que métodos de morfometria geométrica são amplamente utilizados para resolver questões que dizem respeito à integração morfológica (HALLGRÍMSSON *et al.*, 2009; KLINGENBERG, 2003; MONTEIRO, 2005; SANTANA e LOFGREN, 2013; ZELDITCH e WOOD, 2008), sendo assim, essa ferramenta foi útil para realizarmos o teste de hipóteses de modularidade e avaliarmos a covariância entre os compartimentos anterior e posterior e as partes proximal e distal da asa anterior de *Eg. pleosticta*. As hipóteses de modularidade analisadas em nosso trabalho, utilizando o nível de variação individual, demonstraram que os compartimentos anterior e posterior e as partes proximal e distal pertencem a módulos separados devido aos processos de desenvolvimento.

Nossos resultados corroboram com um outro estudo, o qual foi o precursor com abelhas, realizado por Ferreira (2016), a qual também encontrou diferentes módulos de desenvolvimento entre os compartimentos anterior e posterior e as partes proximal e distal nas asas anteriores, utilizando também níveis de variação individual, em duas espécies de abelhas: *Centris analis* e *Centris tarsata*.

Estudos anteriores utilizando outros insetos encontraram tanto compartimentos integrados de desenvolvimento, como também módulos distintos de desenvolvimento nas asas e além disso um exemplo de integração e modularidade concomitantes, como visto no trabalho de Blanke (2018) que estudou um conjunto de dados compreendido por 189 espécies de libélulas de todas as famílias atualmente reconhecidas e analisou como demandas funcionais, de desenvolvimento, filogenia e alometria podiam influenciar na configuração das veias das asas de libélulas usando conceitos de modularidade e integração e concluiu que no geral as asas de libélula são estruturas altamente integradas, com quase nenhum sinal modular. No entanto, as hipóteses funcionais de modularidade foram confirmadas para duas áreas da asa, o complexo arco-triângulo na base da asa e o pterostigma, os quais evoluem como módulos distintos, porém essa evolução ocorre nas mesmas taxas que a asa inteira, o que sugere uma influência dessas estruturas na evolução da forma do restante da asa. Já nos trabalhos de Klingenberg e Zaklan (2000) e Klingenberg (2009), foi verificado que asas de *Drosophila* possuem uma alta integração de compartimentos de desenvolvimento sugerindo uma integração de processos de desenvolvimento através destes compartimentos. Benitez *et al.* (2014), obtiveram como resultado uma moderada integração morfológica nos compartimentos anterior e posterior de asas posteriores de besouros da espécie *Diabrotica virgifera virgifera*, baseados em homologia das veias principais e tendo *Drosophila* como modelo de comparação. Por outro lado, Suzuki (2013) analisou modularidade em asas de duas espécies de mariposas: *Oraesia excavata* (padrão mimético de asas) e *Thyas junco* (padrão não-mimético de asas), pertencentes à mesma

família, Noctuidae, e através da comparação dos padrões de cores com borboletas da família Nymphalidae, encontrou distintos módulos de desenvolvimento para ambas espécies, dando destaque para as primeiras evidências de modularidade encontradas em um padrão de asas que exibem imitação de folhas. No entanto, os módulos encontrados não estavam relacionados aos compartimentos anterior e posterior da asa. Manseguido *et al.* (2017) descreveram a modularidade em asas anteriores de cigarrinha (*Idioscopus clypealis*) e seus resultados também mostraram a presença de módulos de desenvolvimento delimitados pelas veias principais, ou seja, esses módulos são independentes de outros módulos, porém são ligados internamente produzindo a estrutura fenotípica.

No decorrer dos estudos de modularidade, observa-se uma vasta concordância de que este é um fenômeno real e biologicamente significativo (WAGNER *et al.*, 2007), envolvendo conteúdos a respeito da estrutura e a organização dos processos que moldam os caracteres fenotípicos (ESPINOSA-SOTO e WAGNER, 2010).

5.3 Avaliação morfométrica de asas da espécie *Eulaema nigrata*

Quanto a avaliação morfológica utilizando a técnica de morfometria geométrica, os espécimes de *El. nigrata* foram classificados de acordo com sua localidade, sendo as amostras procedentes de dois locais, onde verificamos que as duas populações não apresentaram diferenças significantes quanto a variabilidade morfológica de asas. Os espécimes foram provenientes de dois diferentes parques ecológicos do estado de São Paulo, ambos Unidades de Conservação de Proteção Integral: o Parque Estadual Morro do Diabo (PEMD), extremo oeste do estado de São Paulo, com a área de Floresta Tropical Estacional Semidecidual (mata atlântica de interior) e o Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), situado na extremidade sul do estado de São Paulo, possuindo regiões que abrigam as mais extensas áreas

contínuas de remanescentes de Mata Atlântica (Floresta Ombrófila Densa). Vale destacar que são parques localizados em extremos diferentes do estado de São Paulo, onde a distância geográfica em linha reta é de aproximadamente 428km entre os pontos de coleta. Outra característica ambiental importante seria a diferença no tipo de formação vegetal de Mata Atlântica em cada local e além disso há marcantes divergências no clima, sendo o PETAR com clima classificado como Cfb, Subtropical úmido sem estação seca e com verão fresco e o PEMD com clima Cwa, ou seja, clima seco, verão quente e úmido e macro térmico subtropical. Diante desses fatores acreditávamos que as amostras de *Eulaema nigrata* poderiam apresentar diferenças morfológicas, porém como observado nos resultados não houve variação evidente entre as localidades. Foi observado no gráfico de dispersão da Análise de Componente Principal e no gráfico da Análise de Variáveis Canônicas (CVA) que não houve separação entre os grupos. Quanto aos resultados obtidos para as distâncias de Mahalanobis e as distâncias de Procrustes gerados pela Análise de Função Discriminante e pela CVA, verificamos que esses confirmam a baixa variação entre as amostras diante dos baixos valores obtidos.

Nossos resultados corroboram com Costa (2017), a qual também avaliou amostras de *Eulaema nigrata* coletadas em áreas de Mata Atlântica com diferentes formações vegetais: Floresta Estacional Semidecidual na cidade de Pindamonhangaba - SP e Floresta Ombrófila Densa na Serra do Mar em Ubatuba – SP, porém geograficamente próximas uma da outra (68,55 quilômetros de distância) e obteve tanto na análise morfométrica como nas análises moleculares uma homogeneidade das populações de machos, concluindo que ocorre fluxo gênico entre as diferentes paisagens representadas por floresta ombrófila densa e floresta estacional semidecidual. Nossos resultados ainda estão de acordo com trabalhos anteriores que também verificaram a ausência de estruturação populacional, como por exemplo, Rocha Filho *et al.* (2013) que através de análises moleculares investigaram populações de quatro espécies de *Euglossini* amostradas em duas regiões da cidade de Ubatuba, sudeste do estado de São Paulo:

Picinguaba (continente) e Ilha Anchieta, separadas por 30 km e verificaram uma ausência de estruturação populacional entre amostras da ilha e do continente dentre três espécies: *Euglossa cordata*, *Eulaema cingulata* e *Eulaema nigrita*, porém uma diferenciação genética significativa entre as amostras de *Euglossa stelfeldi* coletadas em ambas as áreas foi detectada. Boff *et al.* (2014) analisaram populações da espécie *Euglossa cordata* amostradas em três fragmentos isolados em ilhas oceânicas (Ilha Bela, Ilha de Búzios e Ilha da Vitória) e em uma área de continente (São Sebastião) costa norte do estado de São Paulo. Esses autores realizaram análises de microssatélites e descobriram uma falta de estruturação populacional entre as populações do continente e da ilha mais próxima (Ilha Bela) e detectaram que o coeficiente de endogamia é maior em ilhas mais isoladas, ou seja, há uma redução na variabilidade genética em microssatélites, no entanto essas populações não estão sobre risco de extinção local, pois *Eg. cordata* parece manter a diversidade alélica no locus sexual e assim podem evitar entrar em vórtice de extinção de machos diploides, mesmo tendo o mar como uma barreira geográfica à dispersão, contudo, verificaram que para *Eg. cordata* distâncias de 2 km (Continente à Ilha Bela) representam uma barreira fraca e distâncias de 7 a 11 km em mar aberto pode ser uma barreira significativa à dispersão das abelhas. Outros trabalhos utilizando análises moleculares também observaram baixa estruturação populacional e uma alta diversidade gênica nas populações (SOUZA *et al.*, 2010; CERANTOLA *et al.*, 2011; ZIMMERMANN *et al.*, 2011).

No entanto, a capacidade de dispersão não é a mesma entre as abelhas Euglossini, diferindo significativamente entre as espécies (SUNI e BROSI, 2012), como visto em *Euglossa pleosticta*, por meio de análises morfológica (Morfometria Geométrica da asa) e molecular (DNA Microssatélite) (GRASSI-SELLA, 2016), em *Euglossa cordata*, através de análises de morfometria geométrica da asa e análises moleculares, através das quais foi possível verificar uma estruturação populacional, sendo observado diferenciação genética entre duas populações (COSTA, 2017), *Euglossa annectans* e *Euglossa truncata*, através de análises de morfometria

geométrica da asa (GRASSI-SELLA *et al.*, 2018), onde observaram uma tendência ao agrupamento de acordo com características da paisagem, como semelhanças entre bioma e fitofisionomia e também uma diferenciação genética significativa foi observada em *Euglossa stellfeldi* (ROCHA-FILHO *et al.*, 2013).

Contudo, as abelhas da espécie *Eulaema nigrita* apresentam uma excelente capacidade de voo e dispersão (ACKERMAN, 1983; RAW, 1989), possuem uma dieta baseada numa grande variedade de plantas, sendo então uma espécie bastante generalista (DRESSLER, 1982; RAMALHO *et al.*, 2009), além de serem consideradas tolerantes à ambientes perturbados (PERUQUETTI, *et al.*, 1999; TONHASCA, *et al.*, 2003), sendo assim, sugerimos que o fluxo gênico dessas abelhas entre diversos ambientes seja facilmente mantido, o que explica a falta de variação populacional mesmo em localidades mais distantes, como é o caso do PEMD e PETAR. De acordo com Suni e Brosi (2012), Rocha-Filho *et al.* (2013) e Boff *et al.* (2014), a falta de diferenciação pode ser indicativo de grande tamanho populacional ou alta capacidade de dispersão ou mesmo ambos, porém, dentre as mais de 200 espécies de abelhas pertencentes a tribo Euglossini, existem aquelas que variam acentuadamente em sua estrutura genética populacional.

A assimetria flutuante (AF) é frequentemente utilizada como uma ferramenta para monitorar a existência de estresse genético e ambiental em que populações naturais estão expostas (PARSONS, 1990b,1992; SARRE *et al.*, 1994). Sabe-se que mudanças no formato da asa são ocasionadas devido serem sensíveis a diversos fatores de estresse ambiental e uma razão que pode explicar isso é que o desenvolvimento da forma requer uma cascata de genes que agem durante o período de ontogênese em determinados momentos específicos (GARCIA-BELLIDO, 1977; GARCIA-BELLIDO e DE CELIS, 1992) e que pequenas perturbações durante o desenvolvimento podem levar a grandes mudanças de forma (EMLEN e NIJHOUT, 2000).

Em nosso trabalho, na análise realizada com a espécie *El. nigrita* os indivíduos foram avaliados utilizando a localidade como classificador, sendo as amostras provenientes de dois diferentes locais: PEMD e PETAR. De acordo com as análises de Procrustes ANOVA realizadas para as coordenadas de forma e para o tamanho do centróide, verificamos a presença de variação individual, assimetria direcional e assimetria flutuante nas amostras de ambos os parques, ocorrendo apenas uma exceção quanto ao resultado de assimetria direcional, onde, na análise utilizando o tamanho do centróide para o PEMD obtivemos como resultado ($p=0,07$) e para o PETAR ($p=0,0043$), diferentemente das outras análises, as quais apresentaram diferença significativa com $p<0,0001$. No entanto, a presença de assimetria encontrada em nossos resultados gerais indicam a ocorrência de alguma instabilidade durante o desenvolvimento dos espécimes de *El. nigrita*. Segundo Palmer e Strobeck (1992), Bechshoft *et al.* (2008) e Schmeller *et al.* (2011), existem muitos fatores biológicos que influenciam a estabilidade do desenvolvimento e em consequência a simetria morfológica das espécies, tais como o ambiente, o estresse durante o desenvolvimento, a hibridização entre espécies, a consanguinidade e a perda da variabilidade genética.

Nossos resultados corroboram em grande parte com os obtidos por Grassi-Sella (2016), a qual avaliou indivíduos da espécie *Eg. pleosticta* provenientes de três diferentes localidades dentro do estado de São Paulo (Matão, Ubatuba e Santa Rita do Passa Quatro) e encontrou tanto para as coordenadas de forma, como para o tamanho do centróide diferenças significantes em todas as análises, constatando a presença de AF, AD e variação individual, houve apenas uma exceção nas amostras de Matão, as quais na análise de tamanho de centróide não obteve diferença significativa. Já Silva *et al.* (2009) investigaram a influência humana e climática no tamanho e na assimetria flutuante e também encontraram presença de AF e AD em duas espécies da tribo Euglossini (*El. nigrita* e *Eg. pleosticta*) coletadas em uma reserva florestal semidecidual, porém utilizaram ferramentas de morfometria tradicional, utilizando quatro

medidas na asa. Além disso, Ferreira (2016) também obteve resultados significativos de AF e AD, também utilizando as coordenadas de forma e o tamanho do centróide provenientes dos padrões de venação das asas em abelhas das espécies *Centris analis* e *Centris tarsata* coletadas em dois pomares de acerola localizados nas cidades de Petrolina-PE e Juazeiro-BA, sendo esse último um pomar convencional, no qual utilizam agrotóxico na plantação. De outro modo, Lima *et al.* (2016) avaliaram a presença de AF na forma das asas anteriores e tamanho das colônias da espécie de abelha *Melipona subnitida* mantidas tanto em caixas de colmeia racional ou troncos de árvores naturais, os quais também detectaram a presença de AF e atribuíram ao estresse que as colônias recebem devido aos procedimentos de manuseio. Em contrapartida, Pinto *et al.* (2015), através de análises morfométricas das asas, compararam amostras de abelhas da espécie *El. nigrita* amostradas em áreas agrícolas e áreas de Cerrado do estado de Goiás, com intuito de verificar os níveis de flutuações na assimetria (AF) e não observaram tendência significativa nas medidas de AF, porém relacionaram esse resultado a características bionômicas inerentes a *El. nigrita*, como por exemplo, sua alta habilidade de dispersão, onde os indivíduos analisados poderiam ter se desenvolvido em áreas diferentes daquelas em que foram amostrados, no entanto, verificaram que três medidas das asas foram maiores para as abelhas das áreas de Cerrado, onde concluíram que o tamanho, e não a simetria das asas de *El. nigrita*, seria afetado por impactos antropogênicos no Cerrado.

Em estudos utilizando outros insetos, Stewart e Vodopich (2013) analisaram os níveis de AF entre nove espécies de libelinhas (Odonata: Coenagrionidae) do mesmo ambiente para determinar a relação entre o estresse ambiental e à instabilidade no desenvolvimento nessas espécies, sendo os cálculos de AF baseados na contagem de células de quatro áreas claramente definidas (padrões de venação) nas asas anteriores e posteriores, onde esses autores encontraram a presença de AF significativa em ambos os sexos, ambas as posições das asas e em cada um dos quatro padrões de venação de todas as nove espécies, no entanto, a AF variou

significativamente entre os quatro padrões de venação. Além disso, Schmeller *et al.* (2011) investigaram a trajetória histórica da estabilidade no desenvolvimento de uma espécie de borboleta (*Parnassius apollo*) ameaçada de extinção, para avaliar o efeito das ações de proteção e manejo em uma população existente na Alemanha e através de características morfológicas da venação das asas de 89 indivíduos coletados de 1906 a 2004, verificaram através de análises de AF uma resposta clara às ações de gerenciamento populacional, porém isso ocorreu após várias gerações, sendo que em 2004, 13 anos após a implementação de ações de gestão populacional, descobriram que a variação na AF em toda a população era comparável à variação da AF desde o início do século XX, diante disso, esses autores apoiam o uso da AF como uma ferramenta de avaliação dos efeitos do manejo populacional.

Comparando os resultados de assimetria flutuante obtidos entre as duas localidades do presente estudo, é interessante destacar que os valores de F proveniente da AF do PETAR foram mais altos comparados a amostra do PEMD, tanto na análise utilizando o tamanho do centróide ($F=221,40$; $p<0,0001$), como na análise utilizando as coordenadas de forma ($F=60,83$; $p<0,0001$), sendo que no PEMD obtivemos para o tamanho do centróide ($F=31,47$; $p<0,0001$) e para as coordenadas de forma ($F=9,81$; $p<0,0001$). Do mesmo modo, quando verificamos os padrões de variação individual e de assimetria flutuante obtidos a partir das análises de componentes principais (PCs) (Figura 31) observamos através da porcentagem de variação exibido pelos PCs, que a população de *El. nigrata* do PETAR exibiu maiores porcentagens comparada com a população do PEMD, além disso a porcentagem acumulativa de cerca de 90% da variação na amostra para os padrões de assimetria flutuante, foi representada através dos 15 primeiros componentes principais no PEMD e no PETAR essa porcentagem esteve representada em bem menos componentes principais, sendo através dos 10 primeiros.

Visto que níveis significativos de AF são tidos como resultado de distúrbio no desenvolvimento (BEASLEY *et al.*, 2013), temos como hipótese que esses níveis significativos

mais altos de assimetria flutuante encontrados no PETAR pode se dar por estresse proveniente do clima típico do local, pois de acordo com a literatura, (PALMER E STROBECK, 1992; BECHSHOFT *et al.*, 2008; SCHMELLER *et al.*, 2011) a variação de temperatura pode aumentar o número de erros durante o desenvolvimento e gerar assimetrias. Mesmo diante desses resultados verificamos a permanência dessa espécie nesse local perante as condições ambientais encontradas durante as amostragens. De acordo com Silva *et al.* (2009), é provável que *El. nigrita* seja uma espécie mais resistente às alterações ambientais e que possivelmente haja uma plasticidade fisiológica que facilita seu estabelecimento frente às condições de estresse ambiental.

Com relação a confiabilidade em utilizar a AF como uma ferramenta capaz de indicar a ocorrência de alguma instabilidade de desenvolvimento de indivíduos, Beasley *et al.* (2013) realizaram uma metanálise da literatura publicada anteriormente afim de testar a hipótese de que a AF poderia ser um biomarcador confiável de estresse ambiental em insetos e identificaram possíveis fontes de variação entre os estudos, sendo que os níveis de AF foram mais pronunciados em áreas altamente perturbadas e mais fracos sob condições menos perturbadas, onde descobriram que a AF é um biomarcador sensível de estresse ambiental, sendo uma ferramenta legítima, particularmente quando estudos verificaram a relevância biológica dos estressores para o organismo de estudo. No entanto, a interpretação da AF deve ser considerada dentro dos limites do potencial adaptativo da população e da compreensão da história de vida atual de uma população.

Em relação as análises de regressão multivariada, obtivemos valores baixos e não significativos para os efeitos alométricos, tanto para os níveis de variação individual quanto para assimetria flutuante, em ambas as populações do PEMD e PETAR. Ferreira (2016), obteve porcentagens baixas para os efeitos alométricos em todas as populações estudadas, porém esses foram significativos em algumas populações, diante disso, realizaram a correção dos efeitos

alométricos em análises subsequentes. Klingenberg *et al.* (2001), em um estudo de abelhas do gênero *Bombus*, obteve valores significativos referente a porcentagem dos efeitos alométricos nas asas anteriores para assimetria flutuante, porém apenas no experimento onde as abelhas foram submetidas a tratamentos com CO₂.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente a perda da diversidade de abelhas tem sido um dos temas de estudo bastante preocupante para os pesquisadores da área, especialmente devido ao fato de esses organismos serem os principais responsáveis pela polinização das angiospermas. Por essa razão, a busca por alternativas que possam auxiliar nesse problema é constante, sendo de grande importância as pesquisas voltadas para a conservação de espécies. No entanto um dos primeiros passos para colaborarmos com os programas de conservação é conhecer mais sobre a biodiversidade de abelhas existente, no caso, escolhemos dois parques ecológicos do estado de São Paulo, o PEMD e o PETAR, ambos representados pelo bioma Mata Atlântica, o qual é considerado um dos *hotspot* mundial. Contudo, o levantamento da biodiversidade realizado no PETAR ficou comprometido devido a interferência de fatores ambientais, diante disso, sugerimos que uma nova amostragem anual seja realizada abrangendo uma maior quantidade de dias consecutivos neste local. Ainda assim, de acordo com o levantamento da biodiversidade da tribo Euglossini efetuado em ambos os parques, concluímos através do estudo sobre a ecologia dessas abelhas que:

- *Euglossa pleosticta* foi a espécie com o maior número de indivíduos registrados, sendo assim considerada uma espécie dominante no PEMD;

- No PEMD, a espécie *Eufriesea violacea* apresentou comportamento altamente sazonal, enquanto outras espécies foram encontradas ao longo do ano;

- No PEMD a maior frequência de indivíduos ocorreu na estação quente/úmida;

- A temperatura baixa pode interferir negativamente na coleta de fragrâncias pelos machos de abelhas da tribo Euglossini, como verificado em ambos os parques;

- Eucaliptol foi a isca mais atrativa em ambos os parques ecológicos;

Com relação a variabilidade morfológica, as espécies mais abundantes em cada parque foram avaliadas através de análises morfométricas das asas, sendo elas: *Euglossa pleosticta* e *Eulaema nigrita* no PEMD e *Eulaema nigrita* no PETAR.

Assim comparamos através de análises de morfometria geométrica os indivíduos de *Eg. pleosticta* pertencentes a uma mesma população proveniente do PEMD, realizamos análises de assimetria flutuante e aplicamos o teste de hipótese de modularidade e através dos resultados obtidos, concluímos que:

- Há assimetria flutuante nas asas anteriores dos espécimes de *Eg. pleosticta* apresentando diferenças significantes tanto quando utilizamos as coordenadas de forma como também para o tamanho dos centróides, indicando assim a ocorrência de alguma instabilidade durante o desenvolvimento dos espécimes;

- Encontramos módulos separados de desenvolvimento nas asas anteriores de *Eg. pleosticta* para o nível de variação individual, tanto para os compartimentos anterior/posterior como também para partes proximal/distal da asa;

- A técnica de morfometria geométrica foi eficiente na diferenciação entre os indivíduos de *Eg. pleosticta*, onde obtivemos uma tendência a separação de dois grupos, cada um dos quais com indivíduos pertencentes a diferentes períodos de desenvolvimento, demonstrando tendência ao agrupamento condizente com as estações climáticas em que passaram por seu período de ontogenia;

- É provável que vários fatores possam estar influenciando a instabilidade no desenvolvimento dos espécimes de *Eg. pleosticta*, porém diante dos resultados encontrados quando analisamos os indivíduos de acordo com seu período desenvolvimento, acreditamos que a temperatura seja uma das principais condições que estejam causando esse estresse ambiental;

Investigamos a variação morfológica entre duas populações da espécie *El. nigrita* provenientes de ambos os parques: PEMD e PETAR, os quais apresentam diferenças tanto no

clima, como diferenças nas fitofisionomias compreendidas no bioma da Mata Atlântica e como resultado não encontramos separação entre as diferentes populações, no entanto, quando realizamos as análises de assimetria flutuante (AF) encontramos níveis significativos mais altos de AF na população do PETAR comparado com a população do PEMD, diante disso concluímos que:

- Não houve diferenciação morfológica entre as amostras das duas localidades, diante disso, é provável que o fluxo gênico dessas abelhas entre diversos ambientes seja mantido, ocasionando a falta de variação populacional mesmo em localidades mais distantes, como é o caso do PEMD e PETAR;

- Há presença de assimetria flutuante nas asas anteriores dos espécimes de *El. nigrita* nas amostras de ambos os parques, com diferenças significantes tanto quando utilizamos as coordenadas de forma, quando também para o tamanho dos centróides, indicando assim a ocorrência de alguma instabilidade durante o desenvolvimento dos espécimes;

- A AF mostrou-se uma ferramenta sensível na detecção de estresse ambiental, visto que a população do PETAR está exposta a temperaturas mais baixas durante seu período de desenvolvimento, ocasionando níveis mais altos de assimetria, os quais foram identificados pela técnica;

Em geral, os resultados de assimetria flutuante do presente estudo apontam que esta ferramenta foi eficaz para diagnosticar pequenas diferenças bilaterais nas asas das espécies *Euglossa pleosticta* e *Eulaema nigrita*, indicando que agentes estressores provocaram instabilidades ao longo do desenvolvimento dessas estruturas durante sua ontogênese.

Assim, podemos concluir que é de extrema importância a realização de trabalhos sobre o estudo das abelhas, visto a relevância desses insetos para a polinização. Adicionalmente, o estudo da forma realizado em nosso trabalho, utilizando as abelhas da tribo Euglossini como organismos de estudo, pode colaborar em pesquisas futuras sobre a suscetibilidade dessas

espécies perante possíveis mudanças na qualidade ambiental, além de poder colaborar com os programas de conservação dos polinizadores, visto que essas abelhas são consideradas polinizadores chave em florestas tropicais e subtropicais da América do Sul e América Central.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAGA, N. O. Z. et al. Insecticide residues in cotton soils of Burkina Faso and effects of insecticides on fluctuating asymmetry in honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus). **Chemosphere**, v. 83, n. 4, p. 585-592, 2011.
- ABOUHEIF, E.; WRAY, G. A. Evolution of the gene network underlying wing polyphenism in ants. **Science**, v. 297, p. 249-252, 2002.
- ACKERMAN, J. D. Diversity and seasonality of male Euglossine bees (Hymenoptera: Apidae) in central Panama. **Ecology**, n. 64, p. 274-283, 1983a.
- ACKERMAN, J. D. Specificity and mutual dependency of the orchid-euglossine bee interaction. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 20, p. 301-314, 1983b.
- ACKERMAN, J. D. Geographic and seasonal variation in fragrance choices and preferences of male euglossine bees. **Biotropica**, v. 21, n. 4, p. 340-347, 1989.
- ADAMS, D. C.; ROHLF, F. J.; SLICE, D. E. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. **Italian Journal of Zoology**, v. 71, p. 5-16, 2004.
- AGUIAR, W. M.; GAGLIANONE, M. C. The communities of Euglossina bees (Hymenoptera: Apidae) in remnants of Lowland Forest on tertiary Tabuleiro in the Rio de Janeiro state. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 2, p. 118-125, 2008.
- AIDAR, M. P. M. **Ecofisiologia das estratégias de utilização de nitrogênio em árvores da floresta neotropical**. 2000. 134 p. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2000.
- ALVARENGA, P. E. F.; FREITAS, R. F.; AUGUSTO, S. C. Diversidade de Euglossini (Hymenoptera: Apidae) em áreas de Cerrado do Triângulo Mineiro, MG. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 1, p. 30-37, 2007.
- ANJOS-SILVA, E. J.; REBÊLO, J. M. M. A new species of *Exaerete* Hoffmannsegg (Hymenoptera: Apidae: Euglossine) from Brazil. **Zootaxa**, v. 1105, p. 27-35, 2006.
- ANJOS-SILVA, E. J.; CAMILLO, E.; GARÓFALO, C. A. Occurrence of *Aglae caerulea* (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) in the Parque Nacional da Chapada dos Guimarães, Mato Grosso state, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 6, p. 868-870, 2006.
- ANTIPIN, M. I., IMASHEVA, A. G. Genetic Variability and Fluctuating Asymmetry of Morphological Traits in *Drosophila melanogaster* Reared on a Pesticide-Containing Medium. **Russian Journal of Genetics**, v. 37, n. 3, p.247–252, 2011.
- ARAGAKI, C. **Morte de meio bilhão de abelhas é consequência de agrotóxicos**. Jornal da USP, São Paulo, 05 Abr. 2019. Disponível em: <<https://jornal.usp.br/atualidades/morte-de-meio-bilhao-de-abelhas-e-consequencia-de-agrotoxicos/>>. Acesso em: 11 nov. 2019.

AUGUSTO, S. C. **Bionomia e organização social de *Euglossa (Euglossa) fimbriata* Rebêlo & Moure, 1995 e *Euglossa (Euglossa) townsendi* Cockerell, 1904.** 1999. 148 p. Tese de Doutorado - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 1999.

AUGUSTO, S. C.; GARÓFALO, C. A. Nesting biology and social structure of *Euglossa (Euglossa) townsendi* Cockerell (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). **Insect. Soc.**, v. 51, p. 400-409, 2004.

BEASLEY, D. A. E; BONISOLI-ALQUATI, A.; MOUSSEAU, T. A. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: a meta-analysis **Ecological Indicators**, v. 30, p. 218-226, 2013.

BECHSHOFT, T.; RIGET, F.; WIIG, O.; SONNE, C. Fluctuating asymmetry in metric traits; a practical example of calculating asymmetry, measurement error, and repeatability. **Annales Zoologici Fennici**, v. 45, p. 32-38, 2008.

BENÍTEZ, H. A. et al. Morphological integration and modularity in *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae) hindwings. **Zoologischer Anzeiger**, v. 253, p. 461-468, 2014.

BERG, R. L. The ecological significance of correlation pleiades. **Evolution**, v. 14, p. 171-180, 1960.

BEZERRA, C. P.; MARTINS, C. F. Diversidade de Euglossina (Hymenoptera, Apidae) em dois fragmentos de Mata Atlântica localizados na região urbana de João Pessoa, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 3, p. 823-835, 2001.

BLANKE, A. Analysis of modularity and integration suggests evolution of dragonfly wing venation mainly in response to functional demands. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 15, n. 145, 20180277, 2018.

BOFF, S.; SORO, A.; PAXTON, R. J.; ALVES-DOS-SANTOS, I. Island isolation reduces genetic diversity and connectivity but does not significantly elevate diploid male production in a Neotropical orchid bee. **Conservation Genetics**, v. 15, n. 5, p. 1123-1135, 2014.

BONATTI, V. **Caracterização genético-morfológica de populações de *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) no nordeste brasileiro.** 2012. 96 p. Dissertação (Mestrado em Genética) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2012.

BONATTI, V. ; SIMÕES, Z. L. P. ; FRANCO, F. F. ; FRANCOY, T. M. Evidence of at least two evolutionary lineages in *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) suggested by mtDNA variability and geometric morphometrics of forewings. **Naturwissenschaften**, p. 17-24, 2014.

BOOKSTEIN, F. L. Foundations of Morphometrics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 13, p. 451-470, 1982.

BOOKSTEIN, F. L. A Statistical method for biological shape comparisons. **Journal of Theoretical Biology**, v. 107, p. 475-520, 1984.

BOOKSTEIN, F. L. Principal warps: thin-plate splines and the decomposition of deformations. **IEEE Trans. Pat. Anal. Mach. Intel**, v. 11, p. 567-585, 1989.

BOOKSTEIN, F. L. **Morphometric tools for landmark data: geometry and biology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 455 p.

BORTOLOTTI, G. R.; GABRIELSON, J. R. Fluctuating asymmetry in the skeleton of the American kestrel, *Falco sparverius*: a test of the consequences of sexual size dimorphism. **Canadian journal of zoology**, v. 73, n. 1, p. 141-145, 1995.

BREUKER, C. J. et al. Integration of wings and their eyespots in the speckled wood butterfly *Pararge aegeria*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 308B, p. 454-463, 2007.

BRITO, C. M. S. D.; RÊGO, M. M. C. Community of male Euglossini bees (Hymenoptera: Apidae) in a secondary Forest, Alcântara, MA, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 61, n. 4, p. 631-638, 2001.

BROSI, B. J. et al. The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. **Journal of Applied Ecology**, v. 45, p. 773-783, 2008.

BROSI, B. J. The effects of forest fragmentation on euglossine bee communities (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **Biological Conservation**, v. 142, n. 2, p. 414-423, 2009.

BROWN, K. S. Conservation of Neotropical environments: insects as indicators. In: COLLINS, N. M.; THOMAS, J. A. **The conservation of insects and their habitats: XV Symposium of the Royal Entomological Society of London**, 14-15 september 1989. London: Academic Press, 1991. Cap. 14, p. 349-404.

BROWN, M. J. F.; PAXTON, R. J. The conservation of bees: a global perspective. **Apidologie**, v. 40, p. 410-416, 2009.

BYRNE, A.; FITZPATRICK, Ú. Bee conservation policy at the global, regional and national levels. **Apidologie**, v. 40, n. 3, p. 194-210, 2009.

CAMERON, S. A. Phylogeny and biology of Neotropical orchid bees (Euglossini). **Annual Reviews in Entomology**, v. 49, n. 1, p. 377-404, 2004.

CANE, J. H. et al. Multiple response of desert bee guild (Hymenoptera: Apiformes) to urban habitat fragmentation. **Ecological Applications**, v. 16, n. 2, p. 632-644, 2006.

CARROLL, S. B. et al. Pattern formation and eyespot determination in butterfly wings. **Science**, v. 265, p. 109-114, 1994.

CARTER, A. J. R.; WEIER, T. M.; HOULE, D. The effect of inbreeding on fluctuating asymmetry of wing veins in two laboratory strains of *Drosophila melanogaster*. **Heredity**, v. 102, n. 6, p. 563-572, 2009.

CARVALHO, C. C.; RÊGO, M. M. C.; MENDES, F. N. Dinâmica de populações de *Euglossina* (Hymenoptera, Apidae) em mata ciliar, Urbano Santos, Maranhão, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 96, n. 2, p. 249-256, 2006.

CASEY, T. M.; MAY, M. L.; MORGAN, K. R. Flight energetics of Euglossine bees in relation to morphology and wing stroke frequency. **Journal of Experimental Biology**, v. 116, p. 271-289, 1985.

CERÂNTOLA, N. C. M.; OI, C. A.; CERVINI, M.; DEL LAMA, M. A. Genetic differentiation of urban populations of *Euglossa cordata* from the state of São Paulo, Brazil. **Apidologie**, v. 42, p. 214-222, 2011.

CHAM, K. de O.; REBELO, R. M.; OLIVEIRA, R. de P.; FERRO, A. A.; VIANASILVA, F. E. de C.; BORGES, L. de O.; SARETTO, C. O. S. D.; TONELLI, C. A. M.; MACEDO, T.C. **Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas**. Brasília: Ibama/Diqua, 2017. 105p.

CHAPMAN, J. W.; GOULSON, D. Environmental versus genetic influences on fluctuating asymmetry in the house fly, *Musca domestica*. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 70, n. 3, p. 403-413, 2000.

CHERNOFF, B.; MAGWENE, P. M. Morphological Integration: Forty Years Later. In: Olson, E.C. e Miller, R.L. (eds.). **Morphological Integration**. University of Chicago Press, p. 319-353, 1999.

CHEVERUD, J. M. Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. **Evolution**, v. 36, n. 3, p. 499 – 516, 1982.

CHEVERUD, J. M. Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. **Journal of Theoretical Biology**, v. 110, n. 2, p. 155-171, 1984.

CIIAGRO. <http://www.ciiagro.sp.gov.br/>. **Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas**, 2008. Acesso em: 2016.

COMBEY, R. et al. Geometric morphometrics reveals morphological differentiation within four African stingless bee species. **Annals of Biological Research**, v. 4, p. 93-103, 2013.

COMSTOCK, J. H. The wings of insects. **Ithaca, NY: Comstock**, 1918. 430 p.

COSTA, C. P. **Dinâmica populacional das abelhas das orquídeas (Apidae, Euglossini) em distintas fitofisionomias do Estado de São Paulo**. 2017. 253 p. Tese (Doutorado em Genética) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto – SP, 2017.

COSTA, C. P.; FRANCOY, T. M. The impact of different phytophysiognomies on the composition of orchid bee communities (hymenoptera: apidae: euglossini) in the Atlantic Forest in Brazil. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 110, n. 3, p. 255-262, 2017.

COSTA, L. M.; GRELLA, T. C.; BARBOSA, R. A.; MALASPINA, O. NOCELLI, R. C. F. Determination of acute lethal doses (LD₅₀ and LC₅₀) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 62, n. 4, p. 578-582, 2015.

CRUZ-LANDIM, C. **Abelhas. Morfologia e função de sistemas**. 1. ed. São Paulo: Editora UNESP, 2009. 408p.

DARRAULT, R. O. et al. Abelhas Euglossini. In: OLIVEIRA, D. A. S.; (COORD.) **Diversidade biológica e conservação da Floresta Atlântica ao norte do rio São Francisco**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2006. p. 238-253.

DE ANNA, E. B.; BONISOLI-ALQUATI, A.; MOUSSEAU, T. A. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: A meta-analysis. **Ecological Indicators**, v. 30, p. 218-226, 2013.

DEL LAMA, M. A.; GRUBER, C. V.; GODÓY, I. C. de. Heterozigosidade e assimetria do número de hâmulos em operárias adultas de *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 46, n. 4, p. 591-595, 2002.

DEPLEDGE, M. H.; FOSSI, M. C. The role of biomarkers in environmental assessment. 2. Invertebrates. **Ecotoxicology**, v. 3, p. 161-172, 1994.

DESHLER, W. O. **Recomendação para o manejo do Morro do Diabo**. São Paulo: Instituto Florestal: Publicação IF, v. 6, 1975.

DOS SANTOS, C. F. et al. Geometric morphometrics of the forewing shape and size discriminate *Plebeia* species (Hymenoptera: Apidae) nesting in different substrates. **Systematic Entomology**, v. 44, p. 787-796, 2019.

DONOUGHE, S.; CRALL, J. D.; MERZ, R. A.; COMBES, S. A. Resilin in dragonfly and damselfly wings and its implications for wing flexibility. **Journal of Morphology**, v. 272, p. 1409-1421, 2011.

DRESSLER, R. L. Pollination by euglossine bees. **Evolution**, v. 22, n. 1, p. 202-210, 1968.

DRESSLER, R. L. Biology of the orchid bees (Euglossini). **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 13, p. 373-394, 1982a.

DRESSLER, R. L. 1982b. New species of *Euglossa*. III. The bursigera species group (Hymenoptera: Apidae). **Revista de Biología Tropical**, v. 30, p. 131-140.

DRYDEN, I. L.; MARDIA, K. V. **Statistical shape analysis**. New York: John Wiley & Sons, 1998. 347 p.

EARDLEY, C.; GIKUNGU, M.; SCHWARZ, M. P. Bee conservation in sub-Saharan Africa and Madagascar: diversity, status and threats. **Apidologie**, v. 40, p. 355-366, 2009.

ELTZ, T.; ROUBIK, D. W.; LUNAU, K. 2005. Experience-dependent choices ensure species-specific fragrance accumulation in male orchid bees. **Behavior Ecology Sociobiology**, v. 59, p. 149-156.

ELTZ, T.; ROUBIK, D. W.; WHITTEN, W. M. Fragrances, male display and mating behavior of *Euglossa hemichlora* – a flight cage experiment. **Physiological Entomology**, v. 28, p. 251-260, 2003.

ELTZ, T.; WHITTEN, W. M.; ROUBIK, D. W.; LINSENMAIR, K. E. Fragrance, collection, storage and accumulation by individual male orchid bees. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n. 1, p. 157-176, 1999.

EMLEN, D. J.; NIJHOUT, H. F. The development and evolution of exaggerated morphologies in insects. **Annual Review of Entomology**, v. 45, p. 661-708, 2000.

ESPINOSA-SOTO, C.; WAGNER, A. Specialization can drive the evolution of modularity. **PLoS computational biology**, v. 6, n. 3, 2010.

EVES, H. **Introdução à história da matemática. Tradução de Higino H. Domingues.** Campinas - SP: Editora da UNICAMP, 2. Reimpressão. 2007.

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DE LISBOA. **História da geometria.** Disponível em: < <http://www.educ.fc.ul.pt/icm/icm99/icm16/paginicial.htm> > Acesso em: 19 de fevereiro de 2019. 2019.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture – the international response. In: FREITAS, B. M.; PEREIRA, J. O. P. **Solitary bees: Conservation, Rearing and Management for Pollination.** Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE: Imprensa Universitária, 2004. p. 19-25.

FARIA Jr, L. R. R.; MELO, G. A. R. A new species of *Eufriesea* Cockerell (Hymenoptera, Apidae, Euglossina) from northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 55, n. 1, p. 35-39, 2011.

FARIA Jr, L. R. R.; MELO, G. A. R. Species of *Euglossa* of the analis group in the Atlantic forest (Hymenoptera, Apidae). **Zoologia**, v. 29, n. 4, p. 349–374, 2012.

FERREIRA, V. S. **Análise morfométrica de *Centris (Heterocentris) analis* (Fabricius, 1804) e *Centris (Hemisiella) tarsata* Smith, 1874 sob a ótica da biologia reprodutiva.** 2016. 107 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 2016.

FIOCRUZ. **Morfologia.** Disponível em: <<http://www.juventudect.fiocruz.br/morfologia>> Acesso em: 21 de fevereiro de 2019. 2019.

FORNEL, R.; CORDEIRO-ESTRELA, P. Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos. In: MARINHO, J. R.; HEPP, L. U.; FORNEL, R. **Temas em Biologia:** Edição comemorativa aos 20 anos do Curso de Ciências Biológicas e aos 5 anos do PPG-Ecologia da URI Campus de Erechim. 1ed. Erechim: EDIFAPES, 2012, p. 101-120.

FRANCOY, T. M. et al. Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. **Apidologie**, v. 39, p. 488-494, 2008.

FRANCOY, T. M. et al. Gender identification in five genera of stingless bees (Apidae, Meliponini) based on wing morphology. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, p. 207-214, 2009.

FRANCOY, T. M. et al. Geometric morphometrics of the wing as a tool for assigning genetic lineages and geographic origin to *Melipona beecheii* (Hymenoptera: Meliponini). **Apidologie**, v. 42, p. 499-507, 2011.

FRANCOY, T. M.; BONATTI, V.; VIRAKTAMATH, S.; RAJANKAR, B. R. 2016. Wing morphometrics indicates the existence of two distinct phenotypic clusters within population of *Tetragonula iridipennis* (Apidae: Meliponini) from India. **Insectes Sociaux**, v. 63, p. 109-115.

FRANCOY, T. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. A morfometria geométrica de asas e a identificação automática de espécies de abelhas. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 317-321, 2010.

FRANCOY, T. M.; FRANCO, F. F.; ROUBIK, D. W. Integrated landmark and outline-based morphometric methods efficiently distinguish species of *Euglossa* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). **Apidologie**, v. 43, p. 609-617, 2012.

FREITAS, B. M. et al. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, v. 40, p. 332-346, 2009.

FRIEDLI, A. et al. The weakest link: Haploid honey bees are more susceptible to neonicotinoid insecticides. **Chemosphere**, v. 242, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125145>, 2020.

FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. 3 ed. Ribeirão Preto: Funpec, 2009. 830 p.

GARCIA-BELLIDO, A. Inductive mechanisms in the process of wing vein formation in *Drosophila*. **Wilhelm Roux Archives**, v. 182, p. 93-106, 1977.

GARCIA-BELLIDO, A.; DE CELIS, J. F. Developmental genetics of the venation pattern of *Drosophila*. **Annual Review of Genetics**, v. 26, p. 277-304, 1992.

GARÓFALO, C. A. Social structure of *Euglossa cordata* nests (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). **Entomologia Generalis**, v. 11, p. 77-83, 1985.

GARÓFALO, C. A. Biologia de nidificação dos Euglossinae (Hymenoptera, Apidae). **In: Anais do I Encontro sobre Abelhas**, Ribeirão Preto - SP, p. 17-26, 1994.

GARÓFALO, C. A. et al. Diversidade e abundância sazonal de Euglossini (Hymenoptera, Apidae) na Serra do Japi, Jundiá, SP. **In: Anais do IV Simpósio de Ecossistemas Brasileiros**, Águas de Lindóia - SP, p. 72-79, 1998a.

GARÓFALO, C. A. et al. Nest structure and communal nesting in *Euglossa (Glossura) annectans* Dressler (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 15, n. 3, p. 589-596, 1998b.

GARÓFALO, C. A.; ROZEN, J. G. Parasitic behavior of *Exaerete smaragdina* with descriptions of its mature oocyte and larval instars (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **American Museum Novitates**, v. 3349, p. 1-26, 2001.

GOODALL, C. R. Procrustes methods in the statistical analysis of shape. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B**, v. 53, n. 2, p. 285-339, 1991.

GORB, S. N. Serial elastic elements in the damselfly wing, mobile vein joints contain resilin. **Naturwissenschaften**, v. 86, p. 552-555, 1999.

GRAHAM, J. H et al. Directional asymmetry and the measurement of developmental instability. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 64, p. 1-16, 1998.

GRAHAM, J. H. et al. Fluctuating asymmetry: methods, theory, and applications. **Symmetry**, v. 2, n. 2, p. 466-540, 2010.

GRASSI-SELLA, M. L. **Determinação da variabilidade genético-morfológica em populações de *Euglossa pleosticta* Dressler, 1982 (Apidae, Euglossini)**. 2016. 136 p. Tese (Doutorado em Genética) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 2016.

GRASSI-SELLA, M. L.; GARÓFALO, C. A.; FRANCOY, T. M. Morphological similarity of widely separated populations of two Euglossini (Hymenoptera; Apidae) species based on geometric morphometrics of wings. **Apidologie**, v. 49, n. 2, p. 151-161, 2018.

GRISWOLD, T.; HERNDON, J. D.; GONZALEZ, V. H. First record of the orchid bee genus *Eufriesea* Cockerell (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) in the United States. **Zootaxa**, v. 3957, n. 3, p. 342-346, 2015.

HAAS, F.; GORB, S.; WOOTTON, R. J. Elastic joints in dermapteran hind wings: materials and wing folding. **Arthropod Structure & Development**, v. 29, n. 2, p. 137-146, 2000a.

HAAS, F.; GORB, S.; BLICKHAN, R. The function of resilin in beetle wings. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 267, n. 1451, p. 1375-1381, 2000b.

HALCROFT, M. T. et al. Delimiting the species within the genus *Austroplebeia*, an Australian stingless bee, using multiple methodologies. **Apidologie (Celle)**, v. 47, p. 76-89, 2016.

HALLGRIMSSON, B.; WILLMORE, K., HALL, B. K. Canalization, developmental stability, and morphological integration in primate limbs. **American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists**, v. 119, n. S35, p. 131-158, 2002.

HALLGRÍMSSON, B. et al. Deciphering the palimpsest: studying the relationship between morphological integration and phenotypic covariation. **Evolutionary biology**, v. 36, n. 4, p. 355-376, 2009.

HEARD, M. S. et al. Comparative toxicity of pesticides and environmental contaminants in bees: Are honey bees a useful proxy for wild bee species? **Science of the Total Environment**, v. 578, p. 357-365, 2017.

HELD, L. I. JR. **Imaginal Discs: The Genetic and Cellular Logic of Pattern Formation**. Cambridge University Press, 460p, 2002.

HINOJOSA-DÍAZ, I. A.; NEMESIO, A.; ENGEL, M. S. Two new species of *Euglossa* from South America, with notes on their taxonomic affinities (Hymenoptera, Apidae). **ZooKeys**, n. 221, p. 63 - 79, 2012.

HOLLAND, J. M. et al. Managing habitats on English farmland for insect pollinator conservation. **Biological Conservation**, v. 182, p. 215-222, 2015.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Avaliação de risco de agrotóxico para insetos polinizadores e lacunas de conhecimento**. Coordenação de Controle Ambiental de substâncias e produtos perigosos. Nota Técnica 02001.000062/2017.93 CCNP/IBAMA, 2017. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/avaliacao/2017/2017-07-27-nota_tecnica_avaliacao_de_risco_de_agrotoxicos-para-abelhas.pdf> Acesso em: 10 jan. 2020.

IMASHEVA, A. G.; BOSENKO, D. V.; BUBLI, O. A. Variation in morphological traits of *Drosophila melanogaster* (fruit fly) under nutritional stress. **Heredity**, v. 82, n. 2, p. 187-192, 1999.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. **Biota Neotropical**, v. 10, n. 4, p. 59-62, 2010.

INOUYE, D. W. Flight temperatures of male euglossine bees (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 48, n. 3, p. 366-370, 1975.

IVANAUSKAS, N. M. et al. A vegetação do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 12, n. 1, p. 147-177, 2012.

JANZEN, D. H. Euglossine bees as long-distance pollinators of tropical plants. **Science**, v. 171, n. 39,67, p. 203-205, 1971.

JANZEN, D. H. et al. Seasonal and site variation in Costa Rican euglossine bees at chemical baits in lowland deciduous and evergreen forest. **Ecology**, v. 63, n. 1, p. 66-74, 1982.

JESUS, B. M. V.; GARÓFALO, C. A. Riqueza e abundância sazonal de Euglossini (Hymenoptera, Apidae) na Mata da Virgínia, Matão, São Paulo. **In: Anais do IV Encontro sobre Abelhas**, Ribeirão Preto, SP, p. 239-245, 2000.

JUSTINO, D. G. & AUGUSTO, S. C. Avaliação da eficiência de coleta utilizando armadilhas aromáticas e riqueza de Euglossini (Hymenoptera, Apidae) em áreas de Cerrado do Triângulo Mineiro. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 12, n. 3, p. 227-239, 2010.

KARMANN, I.; FERRARI, J. A. Carste e Cavernas do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), SP: sistemas de cavernas com paisagens subterrâneas únicas. **In: Sítios**

Geológicos e Paleontológicos do Brasil. Schobbenhaus, C.; Campos, D. A.; Queiroz, E. T.; Winge, M.; Berbert-Born, M. L. C. (Edit.) DNPM/CPRM - Comissão Brasileira de Sítios Geológicos e Paleobiológicos (SIGEP) - Brasília, p. 401-413, 2002.

KENDALL, D. G. Shape manifolds, procrustean metrics, and complex projective spaces. **Bulletin of the London Mathematical Society**, v. 16, n. 2, p. 81-121, 1984.

KIRSCHNER, M.; GERHART, J. Evolvability. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 15, p. 8420-8427, 1998.

KIMSEY, L. S. An illustrated key to the genus *Exaerete* with descriptions of male genitalia and biology (Hymenoptera: Euglossini, Apidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 52, p. 735-746, 1979.

KIMSEY, L. S. The behaviour of male orchid bees (Apidae, Hymenoptera, Insecta) and the question of leks. **Animal Behaviour**, v. 28, n. 4, p. 996-1004, 1980.

KIMSEY, L. S. **Systematics of bees of the genus Eufriesea (Hymenoptera, Apidae).** Univ of California Press, 1982.

KIMSEY, L. S. Generic relationships within the Euglossini (Hymenoptera: Apidae). **Systematic Entomology**, v. 12, n. 1, p. 63-72, 1987.

KLEIN, A-M et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the royal society B: biological sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

KLINGENBERG, C. P.; MCINTYRE, G. S. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. **Evolution**, v. 52, n. 5, p. 1363-1375, 1998.

KLINGENBERG, C. P.; ZAKLAN, S. D. Morphological integration between developmental compartments in the *Drosophila* wing. **Evolution**, v. 54, n. 4, p. 1273-1285, 2000.

KLINGENBERG, C. P. Developmental instability as a research tool: using patterns of fluctuating asymmetry to infer the developmental origins of morphological integration. In: **Developmental instability: causes and consequences**, p. 427-442, 2003.

KLINGENBERG, C. P. Integration, modules, and development: molecules to morphology to evolution. **Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes**, See Pigliucci & Preston, p. 213-230, 2004.

KLINGENBERG, C. P. Morphological integration and developmental modularity. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v. 39, p. 115-132, 2008.

KLINGENBERG, C. P. Morphometric integration and modularity in configurations of landmarks: tools for evaluating a priori hypotheses. **Evolution & development**, v. 11, n. 4, p. 405-421, 2009.

KLINGENBERG, C. P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. **Molecular ecology resources**, v. 11, n. 2, p. 353-357, 2011.

KLINGENBERG, C. P. Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. **Symmetry**, v. 7, n. 2, p. 843-934, 2015.

KLINGENBERG, C. P. Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. **Development genes and evolution**, v. 226, n. 3, p. 113-137, 2016.

KLINGENBERG, C. P. et al. Inferring developmental modularity from morphological integration: analysis of individual variation and asymmetry in bumblebee wings. **The American Naturalist**, v. 157, n. 1, p. 11-23, 2001.

KNOLL, F. R. N. Variation in the Abundance of Neotropical Bees in an Unpredictable Seasonal Environment. **Neotropical entomology**, v. 45, n. 2, p. 129-138, 2016.

KOPIT, A. M.; PITTS-SINGER, T. L. Routes of pesticide exposure in solitary, cavity-nesting bees. **Environmental Entomology**, v. 47, n. 3, p. 499-510, 2018.

KÖPPEN, W. **Climatologia**. Mexico City: Editora Fondo Cultura Economica, 1948.

KOWNER, R. Psychological perspective on human developmental stability and fluctuating asymmetry: Sources, applications and implications. **British Journal of Psychology**, v. 92, n. 3, p. 447-469, 2001.

KROODSMA, D. E. Flight distances of male Euglossine bees in orchid pollination. **Biotropica**, v. 7, p. 71-72, 1975.

LACHENBRUCH, P. A. An almost unbiased method of obtaining confidence intervals for the probability of misclassification in discriminant analysis. **Biometrics**, v. 23, n. 4, p. 639-45, 1967.

LEARY, R. F.; ALLENDORF, F. W. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 4, n. 7, p. 214-217, 1989.

LABANDEIRA, C. C. Early history of arthropod and vascular plant associations. **Annual Review of Earth and Planetary Sciences**, v. 26, n. 1, p. 329-377, 1998.

LEPSCH, I. F. et al. Macrozoneamento das terras da região do rio Ribeira de Iguape, SP. **Boletim Científico Instituto Agrônômico (Campinas)**, Campinas - SP, v. 19, p. 1-181, 1990.

LIMA, C. B. S. et al. Morphometric differences and fluctuating asymmetry in *Melipona subnitida* Ducke 1910 (Hymenoptera: Apidae) in different types of housing. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 4, p. 845-850, 2016.

ŁOPUCH, S.; TOFILSKI, A. The relationship between asymmetry, size and unusual venation in honey bees (*Apis mellifera*). **Bulletin of entomological research**, v. 106, n. 3, p. 304-313, 2016.

LUDWIG, W. **Das rechts-links-problem im tierreich und beim menschen: mit einem anhang rechts-links-merkmale der pflanzen.** Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH, 1932.

MACHADO, C. A. S.; COSTA, C. P.; FRANCOY, T. M. Different Physiognomies and the Structure of Euglossini Bee (Hymenoptera: Apidae) Communities. **Sociobiology**, v. 65, n. 3, p. 471-481, 2018.

MAGURRAN, A. E. **Measuring biological diversity.** Blackwell Publishing, Oxford, 2003.

MANSEGUIAO, M. R. S. et al. Describing Modularity in the Forewings of the Mango Leafhopper (*Idioscopus clypealis*). **Journal of Informatics and Mathematical Sciences**, v. 9, n. 4, p. 999-1004, 2017.

MARCUS, L. F.; CORTI, M. Overview of the new, or geometric morphometrics. In: **Advances in morphometrics.** Springer, Boston, MA, 1996. p. 1-13.

MARKOW, T. A. Evolutionary ecology and developmental instability. **Annual Review of Entomology**, v. 40, n. 1, p. 105-120, 1995.

MARTINS, F. C.; SOUZA, A. K. P. Estratificação vertical de abelhas Euglossina (Hymenoptera, Apidae) em uma área de Mata Atlântica, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 4, p. 913-918, 2005.

MARTINS, D. C.; SILVA, F. S.; REBÊLO, J. M. M. First record of *Aglae caerulea* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini) in Brazilian cerrado east of the Amazon region, Maranhão state, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 554-556, 2016.

MAY, M. L.; CASEY, T. M. Thermoregulation and heat exchange in euglossine bees. **Physiological Zoology**, v. 56, n. 4, p. 541-551, 1983.

MAZEED, A. M. Anomalies and asymmetry of wing venation pattern in Carniolan and Egyptian bee populations in Egypt. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology**, v. 4, n. 1, p. 149-161, 2011.

MENDES, F. N.; RÊGO, M. M. C.; CARVALHO, C. C. Abelhas Euglossina (Hymenoptera, Apidae) coletadas em uma monocultura de eucalipto circundada por Cerrado em Urbano Santos, Maranhão, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 98, n. 3, p. 285-290, 2008.

MESQUITA, T. M. S. **Diversidade de abelhas solitárias (Hymenoptera, Apoidea) que nidificam em ninhos-armadilha em áreas de Cerrado, MG.** 2009. 43 p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG. 2009.

MESSIER, S.; MITTON, J. B. Heterozygosity at the malate dehydrogenase locus and developmental homeostasis in *Apis mellifera*. **Heredity**, v. 76, n. 6, p. 616-622, 1996.

MICHENER, C. D. **The social behavior of the bees. A comparative study.** Cambridge: Harvard University Press, 1974.

MICHENER C. D. **The bees of the World**. Baltimore, London: The John Hopkins Univ Press, 2000. 913 p.

MICHENER, C. D. **The Bees of the World**. Baltimore: 2nd Edition, John Hopkins University Press, 2007. 992p.

MILET-PINHEIRO, P.; SCHLINDWEIN, C. Do euglossine males (Apidae, Euglossini) leave tropical rainforest to collect fragrances in sugarcane monocultures? **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 4, p. 853-858, 2005.

MINCKLEY, R. L.; REYES, S. G. Capture of the orchid bee, *Eulaema polychroma* (Friese) (Apidae: Euglossini) in Arizona, with notes on northern distributions of other Mesoamerican bees. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 69, p. 102-104, 1996.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/mata-atlantica/mapa-da-area-de-aplicacao>. Acesso em: 14 de outubro de 2016. 2016.

MITTEROECKER, P.; BOOKSTEIN, F. The conceptual and statistical relationship between modularity and morphological integration. **Systematic biology**, v. 56, n. 5, p. 818-836, 2007.

MLODINOW, L. **Euclid's Window: The story of geometry from parallel lines to hyperspace**. New York – NY: The Free Press, 2001. 320 p.

MLODINOW, L. **A janela de Euclides – A história da geometria: das linhas paralelas ao hiperespaço**. 3ªed. São Paulo: Geração Editorial, 2005.

MØLLER, A. P.; SWADDLE, J. P. **Asymmetry, developmental stability and evolution**. Oxford University Press, UK, 1997.

MØLLER, A. P. Developmental stability and fitness: a review. **The American Naturalist**, v. 149, n. 5, p. 916-932, 1997.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. **Princípios de Morfometria Geométrica**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 1999. 189p.

MONTEIRO, L. R.; BORDIN, B.; REIS, S. F. Shape distances, shape spaces and the comparison of morphometrics methods. **Trends in Ecology and Evolution**, v.15, n.6, p.217-220. 2000.

MONTEIRO, L. R.; BONATO, V.; DOS REIS, S. F. Evolutionary integration and morphological diversification in complex morphological structures: mandible shape divergence in spiny rats (Rodentia, Echimyidae). **Evolution & Development**, v. 7, n. 5, p. 429-439, 2005.

MORAES, D. A. A Morfometria geométrica e a “revolução na morfometria”: localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. **Bioletim**, Ano III, n. 3, p. 1-5, 2003.

MORATO, E. F.; CAMPOS, L. A. O.; MOURE, J. S. Abelhas Euglossina (Hymenoptera, Apidae) coletadas na Amazônia Central. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 36, n. 4, p. 767-771, 1992.

MORATO, E. F. Abundância e riqueza de machos de Euglossini (Hymenoptera: Apidae) em mata de terra firme e áreas de derrubada, nas vizinhanças de Manaus (Brasil). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v. 10, n. 1, p. 95-105, 1994.

MOUNTCASTLE, A. M.; COMBES, S. A. Wing flexibility enhances load-lifting capacity in bumblebees. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 280, n. 1759, p. 1-8, 20130531, 2013.

MOURE, J. S. et al. Abelhas de Monte Alegre (Est. S. Paulo) (Hym.-Apoidea). **Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia**, v. 6, n. 10, p. 103-126, 1944.

MOURE, J. S. As espécies do gênero *Eulaema* Lepeletier, 1841 (Hymenoptera, Apidae, Euglossinae). **Acta Biológica Paranaense**, v. 29, p. 1-70, 2000.

MOURE, J. S.; NEVES, E. L.; VIANA, B. F. Uma nova espécie de *Euplusia* da Bahia, Brasil (Hymenoptera: Apoidea: Euglossinae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 3, p. 841-844, 2001.

MOURE, J. S.; SCHLINDWEIN, C. Uma nova espécie de *Euglossa* (*Euglossella*) Moure do Nordeste do Brasil (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, n. 2, p. 585-588, 2002.

MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. (Eds.). **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical region**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Entomologia, 2007. 1058 p.

MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. (Eds.). **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical region – online version**. 2013. Disponível em: <<http://moure.cria.org.br/catalogue>>. Last update: 17 jun. 2013. Acesso em: 10 jan. 2020.

MOURE, J. S.; MELO, G. A. R.; FARIA JR, L. R. R. Euglossini Latreille, 1802. In: Moure, J. S., Urban, D., Melo, G. A. R. (eds.), **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**. 2008. Available online: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>

MULLIN, C. A. et al. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. **PLoS One**, v.5, n. 3, 2010.

MURLIS, J.; ELKINTON, J. S.; CARDE, R. T. Odor plumes and how insects use them. **Annual review of entomology**, v. 37, n. 1, p. 505-532, 1992.

MYERS, J. G. Ethological observations on the citrus bee *Trigona silvestriana* Vachal and other neotropical bees. (Hym. Apoidea). **Transaction of the Royal Entomological Society of London**, v. 83, p. 131-142, 1935.

NEMÉSIO, A. Preliminary sampling of Euglossina (Hymenoptera: Apidae: Apini) of Reserva Particular do Patrimônio Natural “Feliciano Miguel Abdala”, Caratinga, Minas Gerais, southeastern Brazil. **Lundiana**, v. 4, n. 2, p. 121-124, 2003.

NEMESIO, A. Three new species of *Euglossa* Latreille (Hymenoptera: Apidae) from Brazil. **Zootaxa**, v. 1547, n. 1, p. 21-31, 2007.

NEMESIO, A. Orchid bees (Hymenoptera: Apidae) of the Brazilian Atlantic Forest. **Zootaxa**, v. 2041, n. 1, p. 1-242, 2009.

NEMESIO, A. et al. *Euglossa marianae* sp. n. (Hymenoptera: Apidae): A new orchid bee from the Brazilian Atlantic Forest and the possible first documented local extinction of a forest-dependent orchid bee. **Zootaxa**, v. 2892, p. 59-68, 2011.

NEMESIO, A. et al. Species of *Euglossa* Latreille, 1802 (Hymenoptera: Apidae: Euglossina) belonging to the purpurea species group occurring in eastern Brazil, with description of *Euglossa monnei* sp. n. **Zootaxa**, v. 3151, p. 35-52, 2012.

NEMÉSIO, A.; SILVEIRA, F. A. Edge effects on the orchid-bee fauna (Hymenoptera: Apidae) at a large remnant of Atlantic Rain Forest in Southeastern Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 3, p. 313-323, 2006.

NEMESIO, A.; ENGEL, M. S. Three new cryptic species of *Euglossa* from Brazil (Hymenoptera, Apidae). **ZooKeys**, n. 222, p. 47-68, 2012.

NEMESIO, A.; SANTOS JÚNIOR, J. E.; SANTOS, F. R. *Eufriesea zhangii* sp. n. (Hymenoptera: Apidae: Euglossina), a new orchid bee from Brazil revealed by molecular and morphological characters. **Zootaxa**, v. 3609, n. 6, p. 568-582, 2013.

NEVES, E. L.; VIANA, B. F. Inventário da fauna de Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) do baixo Sul da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 14, p. 831-837, 1997.

NEWBOLD, T. et al. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. **Nature**, v. 520, p. 45-50, 2015.

NOGUEIRA-NETO, P. Proteção à Biodiversidade na Federação Brasileira Após a Rio 92. In: CORDANI, U. G.; MARCOVITCH, J.; SALATI, E. **Rio 92 Cinco Anos Depois - Avaliação das Ações Brasileiras em Direção ao Desenvolvimento Sustentável Cinco Anos Após a Rio 92**. São Paulo, SP: Alphagraphics, 1997.

NUNES, L. A.; ARAÚJO, E. D. de; MARCHINI, L. C. Fluctuating asymmetry in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) as bioindicator of anthropogenic environments. **Revista de biologia tropical**, v. 63, n. 3, p. 673-682, 2015.

O'DONNELL, S.; BESHERS, S. N. The role of male disease susceptibility in the evolution of haplodiploid insect societies. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 271, n. 1542, p. 979-983, 2004.

OLDROYD, B. P. T. E.; RINDERER, T.; BUCO, S. Heritability of morphological characters used to distinguish European and Africanized honeybees. **Theoretical and applied genetics**, v. 82, n. 4, p. 499-504, 1991.

OLIVEIRA, M. L. Sazonalidade e horário de atividade de abelhas Euglossinae (Hymenoptera, Apidae), em florestas de terra firme na Amazônia Central. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 1, p. 83-90, 1999.

OLIVEIRA, M. L. **O gênero *Eulaema* Lepeletier, 1841 (Hymenoptera: Apidae: Euglossini): filogenia, biogeografia e relações com as Orchidaceae.** 2000. 159 p. Tese de Doutorado. Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

OLIVEIRA, M. L. Três novas espécies de abelhas da Amazônia pertencentes ao gênero *Eulaema* (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). **Acta Amazônica**, v. 36, n. 1, p. 121-128, 2006.

OLIVEIRA, M. L. Taxonomic notes on *Exaerete* (Hymenoptera: Apidae: Euglossina), with the description of a new species. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 129-132, 2011.

OLIVEIRA, M. L. O.; CAMPOS, L. A. O. Abundância, riqueza e diversidade de abelhas Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) em florestas contínuas de terra firme na Amazônia Central, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 12, n. 3, p. 547-556, 1995.

OLIVEIRA, M. L.; NEMÉSIO, A. *Exaerete lepeletieri* (Hymenoptera: Apidae: Apini: Euglossina): a new cleptoparasitic bee from Amazonia. **Lundiana**, v. 4, n. 2, p. 117- 120, 2003.

OLSON, E. C.; MILLER, R. L. *Morphological Integration*. Chicago: University of Chicago Press. 1958.

OTERO, J. T.; SANDINO, J. C. Capture Rates of Male Euglossine Bees across a Human Intervention Gradient, Chocó Region, Colombia. **Biotropica**, v. 35, n. 4, p. 520-529, 2003.

PACÍFICO-DA-SILVA, I. et al. Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**, v. 46, n. 6, p. 703–715, 2015.

PACÍFICO-DA-SILVA, I.; MELO, M. M.; SOTO-BLANCO. Efeitos tóxicos dos praguicidas para abelhas. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, n. 1, p. 142-157, 2016.

PACKER, L. et al. Barcoding the bees of the world. **In: Anais do VIII Encontro sobre Abelhas**, Ribeirão Preto - SP, p. 276-282, 2008.

PALMER, A. R. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. **In: Developmental instability: its origins and evolutionary implications**. Springer Netherlands, 1994. p. 335-364.

PALMER, A. R. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. **In: Developmental instability: its origins and evolutionary implications**. Markow, T.A. (eds.). Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers. p. 335-364. 1994.

PALMER, A. R. Waltzing with asymmetry. **BioScience**, v. 46, n. 7, p. 518-532, 1996.

PALMER, A. R. Quasi-replication and the contract of error: lessons from sex ratios, heritabilities and fluctuating asymmetry. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 31, n. 1, p. 441-480, 2000.

PALMER, A. R. Antisymmetry. **In: Variation**. Hallgrímsson, B.; Hall, B.K. (eds.). Elsevier. p. 359-384. 2005.

PALMER, A. R. Animal asymmetry. **Current Biology**, v. 19, n. 12, p. 473-477, 2009.

PALMER, A. R.; STROBECK, C. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. **Annual review of Ecology and Systematics**, v. 17, n. 1, p. 391-421, 1986.

PALMER, A. R.; STROBECK, C. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: implications of non-normal distributions and power of statistical tests. **Acta Zoologica Fennica**, v. 191, n. 5772, p. 55-70, 1992.

PALMER, A. R.; STROBECK, C. Fluctuating asymmetry analyses revisited. **Developmental instability: causes and consequences**, p. 279-319, 2003.

PARRA-H, A.; OSPINA-TORRES, R.; RAMÍREZ, S. *Euglossa natesi* n. sp., a new species of orchid bee from the Chocó region of Colombia and Ecuador (Hymenoptera: Apidae). **Zootaxa**, v. 12, n. 98, p. 29-36, 2006.

PARSONS, P. A. The metabolic cost of multiple environmental stresses: implications for climatic change and conservation. **Trends in ecology & evolution**, v. 5, n. 9, p. 315-317, 1990a.

PARSONS, P. A. Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress. **Biological reviews**, v. 65, n. 2, p. 131-145, 1990.

PARSONS, P. A. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. **Heredity**, v. 68, n. 4, p. 361-364, 1992.

PEARSON, D. L.; DRESSLER, R. L. Two-year study of male orchid bee (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) attraction to chemical baits in lowland south-eastern Peru. **Journal of Tropical Ecology**, v. 1, p. 37-54, 1985.

PERGER R. The highest known euglossine bee community from a garden in the Bolivian Andes (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). **Journal of Hymenoptera Research**, v. 45, p. 65-73, 2015.

PERUQUETTI, R. C. et al. Abelhas Euglossini (Apidae) de áreas de Mata Atlântica: abundância, riqueza e aspectos biológicos. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 2, p. 101-118, 1999.

PETTIS, J. S. et al. Crop pollination exposes honey bees to pesticides which alters their susceptibility to the gut pathogen *Nosema ceranae*. **PLoS One**, v. 8, n. 7, 2013.

PIELOU, E. C. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession. **Journal of theoretical biology**, v. 10, n. 2, p. 370-383, 1966.

PIELOU, E. C. **Ecological diversity**. New York: John Wiley & Sons, 1975. 165p.

PIGLIUCCI, M. E.; PRESTON, K. **Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes**. New York: Oxford University Press, Oxford, 2004.

PINTO, N. S.; SILVA, D. P.; GUINATO, J.; DE MARCO, P. The size but not the symmetry of the wings of *Eulaema nigrita* Lepeletier (Apidae: Euglossini) is affected by human-disturbed landscapes in the Brazilian Cerrado Savanna. **Neotropical Entomology**, v.44, p. 439-447, 2015.

POKORNY, T. et al. Dispersal ability of male orchid bees and direct evidence for long-range flights. **Apidologie**, v. 46, p. 224–237, 2015.

POLAK, M. Parasites increase fluctuating asymmetry of male *Drosophila nigrospiracula*: implications for sexual selection. **Genetica**, v. 89, p. 255–265, 1993.

PORTO, A. et al. The evolution of modularity in the mammalian skull I: morphological integration patterns and magnitudes. **Evolutionary Biology**, v. 36, n. 1, p. 118-135, 2009.

POTTS, S. G. et al. Role of nesting resources in organising diverse bee communities in a Mediterranean landscape. **Ecological Entomology**, v. 30, p. 78-85, 2005.

POTTS, S. G. et al. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, v.25, p. 345-353, 2010.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da Conservação**. Londrina - PR: Editora Planta, 2001. 328 p.

QGIS SOFTWARE 2.18.9. Quantum GIS (geographic information system). Open Source Geospatial Foundation. Versão 2.18.9 <http://qgis.osgeo.org> . 2017

RAFAEL, J. A. et al. (Ed.) **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos, 2012.

RAFF, R. A. **The shape of life: genes, development and the evolution of animal form**. Chicago: University of Chicago Press, 1996.

RAMALHO, A. V.; GAGLIANONE, M. C.; OLIVEIRA, M. L. Comunidades de abelhas Euglossina (Hymenoptera, Apidae) em fragmentos de Mata Atlântica no Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira Entomologia**, v. 53, n. 1, p. 95-101, 2009.

RAMÍREZ, S. *Euglossa paisa*, a new specie of orchid bee from the Colombian Andes (Hymenoptera: Apidae). **Zootaxa**, v. 1065, p. 51-60, 2005.

RAMÍREZ, S.; DRESSLER, R. L.; OSPINA, M. Abejas euglossinas (Hymenoptera: Apidae) de la región Neotropical: listado de especies con notas sobre su biología. **Biota Colombiana**, v. 3, n. 1, p. 7-118, 2002.

RATTANAWANNEE, A.; DUANGPAKDEE, O.; ROD-IM, P.; HEPBURN, R. Discrimination of two *Tetragonula* (Apidae: Meliponini) species in Thailand using geometric morphometric analysis of wing venation. **Kasetsart Journal - Natural Science**, v. 49, p. 700–710, 2015.

RAW, A. The dispersal of euglossine bees between isolated patches of eastern Brazilian wet forest (Hymenoptera: Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.33, p. 103-107, 1989.

REBÊLO, J. M. M. **História natural das Euglossíneas – As abelhas das orquídeas**. São Luís - Maranhão: Lithograf Editora, 152p. 2001.

REBÊLO, J. M. M.; GARÓFALO, C. A. Diversidade e sazonalidade de machos de Euglossini (Hymenoptera, Apidae) e preferências por iscas-odores em um fragmento de floresta no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 4, p. 787-799, 1991.

REBÊLO, J. M. M.; GARÓFALO, C. A. Comunidades de machos Euglossini (Hymenoptera: Apidae) em matas semidecíduas do nordeste de Estado de São Paulo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 243-255, 1997.

REBÊLO, J.M.M.; MOURE, J.S. As espécies de *Euglossa Latreille* do nordeste de São Paulo (Apidae, Euglossinae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 12, n. 3, p. 445-466, 1995.

REIS, S. F. Morfometria e estatística multivariada em biologia evolutiva. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 5, n. 4, p. 571-580, 1988.

RICKLEFS, R. E.; ADAMS, R. M.; DRESSLER, R. L. Species diversity of *Euglossa* in Panama. **Ecology**, v. 50, n. 4, p. 713-716, 1969.

ROCHA-FILHO, L.C., et al. Genetic differentiation of the Euglossini (Hymenoptera, Apidae) populations on a mainland coastal plain and an island in southeastern Brazil. **Genética**, v. 141, p. 65-74, 2013.

ROCHA-FILHO, L. C.; GARÓFALO, C. A. Phenological Patterns and Preferences for Aromatic Compounds by Male Euglossine Bees (Hymenoptera, Apidae) in Two Coastal Ecosystems of the Brazilian Atlantic Forest. **Neotropical Entomology**, v. 43, p. 9-20, 2014.

RODRIGUES, L. A.; SANTOS, V. F. Morfometria geométrica–aplicações em paleobiologia de Dinossáurios. **Ciências da Terra (UNL)**, v. 5, p. 141-145, 2003.

RODRIGUES, J. D. **Construção civil e relações geométricas: um caminho para aprender e ensinar matemática?** 2013. 203 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2013.

ROHLF, F. J.; MARCUS, L. F. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 8, n. 4, p. 129-132, 1993.

ROHLF, F. J. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. **Journal of Classification**, v. 16, n. 2, p. 197-223, 1999.

ROHLF, F. J. **tpsUtil64, tps file utility program, version 1.74**. Department of Ecology and Evolution, State University of New York. Stony Brook, NY, USA. 2017a.

ROHLF, F. J. **tpsDig2w32, digitize landmarks and outlines from images files, version 2.30**. Department of Ecology and Evolution, State University of New York. Stony Brook, NY, USA. 2017b.

- ROHLF, F. J. **tpsRelw, Relative warps, version 1.69**. Department of Ecology and Evolution, State University of New York. Stony Brook, NY, USA. 2017c.
- ROHLF, F. J. Relative warp analysis and an example of its application to mosquito. **Contributions to morphometrics**, v. 8, 131 p., 1993.
- ROHLF, F. James. Morphometric spaces, shape components and the effects of linear transformations. In: **Advances in morphometrics**. Springer, Boston, MA, 1996. p. 117-129.
- ROLIAN, C.; WILLMORE, K. E. Morphological integration at 50: patterns and processes of integration in biological anthropology. **Evolutionary Biology**, v. 36, p. 1-4. 2009.
- ROSS, K. G.; ROBERTSON, J. L. Developmental stability, heterozygosity, and fitness in two introduced fire ants (*Solenopsis invicta* and *S. richteri*) and their hybrid. **Heredity**, v. 64, n. 1, p. 93–103, 1990.
- ROUBIK, D. W. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge: University Press, 1989.
- ROUBIK, D. W.; HANSON, P. E. **Orchid bees of tropical America. Biology and field guide**. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica: INBio Press, 2004. 370 p.
- SANTANA, S. E.; LOFGREN, S. E. Does nasal echolocation influence the modularity of the mammal skull? **Journal of evolutionary biology**, p. 1-7, 2013.
- SÃO PAULO (ESTADO). **Plano de Manejo do Parque Estadual do Morro do Diabo**: Coord. Editorial Helder Henrique de Faria e Andréa Soares Pires. Vários autores. Instituto Florestal. Secretaria de Estado de Meio Ambiente. Santa Cruz do Rio Pardo, SP: Editora Viena, 2006. 311 p.
- SÃO PAULO (ESTADO). **Plano de Manejo Espeleológico do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira**: Fundação Florestal do Estado de São Paulo. Núcleo Planos de Manejo. São Paulo, SP: Fundação Florestal, 2010. 84 p.
- SARRE, S.; DEARN, J. M. Morphological Variation and Fluctuating Asymmetry Among Insular Populations of the Sleepy Lizard, *Trachydosaurus rugosus* Gray (Squamata, Scincidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 39, n. 1, p. 91-104, 1991.
- SARRE, S., DEARN, J.D.; GEAORGES, A. The application of fluctuating asymmetry in the monitoring of animal populations. **Pacific Conservation Biology**, v. 1, n. 2, p. 118-122, 1994.
- SAVRIAMA, Y.; KLINGENBERG, C. P. Beyond bilateral symmetry: geometric morphometric methods for any type of symmetry. **BMC evolutionary biology**, v. 11, n. 1, p. 280, 2011.
- SCHEINER, S. M.; CAPLAN, R. L.; LYMAN, R. F. The genetics of phenotypic plasticity. III. Genetic correlations and fluctuating asymmetries. **Journal of evolutionary biology**, v. 4, n. 1, p. 51-68, 1991.

SCHMELLER, D. S. et al. The effect of conservation efforts on morphological asymmetry in a butterfly population. **Journal for nature conservation**, v. 19, n. 3, p. 161-165, 2011.

SGOLASTRA, F. et al. Pesticide exposure assessment paradigm for solitary bees. **Environmental Entomology**, v. 48, n. 1, p. 22-35, 2019.

SHEFFIELD, C. S. et al. DNA barcoding a regional bee (Hymenoptera: Apoidea) fauna and its potential for ecological studies. **Molecular Ecology Resources**, v. 9, p. 196-207, 2009.

SILVA, D. P. et al. Amazonian species within the Cerrado savanna: new records and potential distribution for *Aglae caerulea* (Apidae: Euglossini). **Apidologie**, v. 44, n. 6, p. 673-683, 2013.

SILVA, F. S.; REBÊLO, J. M. M. Euglossine bees (Hymenoptera: Apidae) of Buriticupu, Amazonia of Maranhão, Brazil. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 29, n. 4, p. 587-599, 1999.

SILVA, F. S.; REBÊLO, J. M. M. Population dynamics of Euglossinae bees (Hymenoptera, Apidae) in an early second-growth forest of Cajual Island, in the State of Maranhão, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 1, p. 15-23, 2002.

SILVA, M. C. et al. Climatic and anthropic influence on size and fluctuating asymmetry of Euglossine bees (Hymenoptera, Apidae) in a semideciduous seasonal forest reserve. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 2, p. 730-737, 2009.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas Brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte: IDMAR, 2002a. 253 p.

SILVEIRA, F. A.; PINHEIRO-MACHADO, C.; ALVES-DOS-SANTOS, I.; KLEINERT, A.M.P. & IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. 2002b. Taxonomic constraints for the conservation and sustainable use of wild pollinators – the Brazilian wild bees. In: KEVAN, P. G.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Pollinating Bees: the conservation link between agriculture and nature**. Ministério do Meio Ambiente - Brasília - DF: Barbara Bela Editora Gráfica e Pap. Ltda, 2006. p. 41-50.

SILVEIRA, G. S. **A fauna de abelhas da Subtribo Euglossina Latreille (Hymenoptera, Apidae) em duas áreas de Mata Estacional Semidecidual no domínio do Cerrado em Uberlândia, MG**. 2010. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. 2010.

SISTEMA AMBIENTAL PAULISTA. Disponível em: <http://www.ambiente.sp.gov.br/parque-morro-do-diabo/sobre-o-parque/>. Acesso em: 12 de outubro de 2016. 2016a.

SISTEMA AMBIENTAL PAULISTA. Disponível em: <http://www.ambiente.sp.gov.br/petar/sobre-o-parque/>. Acesso em: 12 de outubro de 2016. 2016b.

SKOV, C.; WILEY, J. Establishment of the neotropical orchid bee *Euglossa viridissima* (Hymenoptera: Apidae) in Florida. **The Florida Entomologist**, v. 88, n. 2, p. 225-227, 2005.

- SOFIA, S. H.; SANTOS, A. M.; SILVA, C. R. M. Euglossine bees (Hymenoptera, Apidae) in a remnant of Atlantic Forest in Paraná State, Brazil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 94, n. 2, p. 217-222, 2004.
- SOFIA, S. H.; SUZUKI, K. M. Comunidades de Machos de Abelhas Euglossina (Hymenoptera: Apidae) em Fragmentos Florestais no Sul do Brasil. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 6, p. 693-702, 2004.
- SOUZA, K. P.; HERNÁNDEZ, M. I. M.; MARTINS, C. F. Riqueza, abundância e diversidade de Euglossina (Hymenoptera, Apidae) em três áreas da Reserva Biológica Guaribas, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira Zoologia**, v. 22, n. 2, p. 320-325, 2005.
- SOUZA, R. O. et al. Conservation genetics of neotropical pollinators revisited: microsatellite analysis suggests that diploid males are rare in orchid bees. **Evolution**, v. 64, p. 3318–3326, 2010.
- STATSOFT, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 8.0 www.statsoft.com. 2007
- STEHMANN, J. R. et al. (Eds.). **Plantas da Floresta Atlântica**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2009. 516 p.
- STEWART, S. S.; VODOPICH, D. S. Variation in fluctuating asymmetry among nine damselfly species. **International Journal of Odonatology**, v. 16, n.1, p. 67-7, 2013.
- STORCK-TONON, D.; MORATO, E. F.; OLIVEIRA, M. L. Fauna de Euglossina (Hymenoptera: Apidae) da Amazonia sul-ocidental, Acre, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 3, p. 693- 706, 2009.
- SUNI, S. S.; BROSI, B. J. Population genetics of orchid bees in a fragmented tropical landscape. **Conservation genetics**, v. 13, n. 2, p. 323-332, 2012.
- SUZUKI, T. K. Modularity of a leaf moth-wing pattern and a versatile characteristic of the wing-pattern ground plan. **BMC evolutionary biology**, v. 13, n. 1, p. 158, 2013.
- TOFILSKI, A. Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. **Apidologie**, v. 39, n. 5, p. 558-563, 2009.
- TONHASCA, A.; BLACKMER, J. L.; ALBUQUERQUE, G. S. Abundance and diversity of euglossine bees in the fragmented landscape of the Brazilian Atlantic forest. **Biotropica**, v. 34, n. 3, p. 416-422, 2002.
- TONHASCA, A. JR.; ALBUQUERQUE, G. S.; BLACKMER, J. L. Dispersal of euglossine bees between fragments of the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Tropical Ecology**, v.19, p. 99–102, 2003.
- TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL CLARO, K. Behavior of visitors and reproductive biology of *Campomanesia pubescens* (Myrtaceae) in cerrado vegetation. **Ciência e Cultura**, v. 50, p. 281-284, 1998.

- TROTTA, V. et al. Fluctuating asymmetry as a measure of ecological stress in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). **European journal of Entomology**, v. 102, n. 2, p. 195-200, 2005.
- TRUMAN, J. W.; RIDDIFORD, L. M. The evolution of insect metamorphosis: a developmental and endocrine view. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 374, n. 1783, 20190070, 2019.
- VAN DER PIJL, L.; DODSON, C. H. **Orchid Flowers: their Pollination and Evolution**. Coral Gables, FL: Fairchild Tropical Garden and the University of Miami Press, 1966.
- VAN DONGEN, S. et al. The statistical analysis of fluctuating asymmetry: REML estimation of a mixed regression model. **Journal of evolutionary Biology**, v. 12, n. 1, p. 94-102, 1999.
- VAN VALEN, L. A study of fluctuating asymmetry. **Evolution**, v. 16, n. 2, p. 125-142, 1962.
- VILLEMANT, C.; SIMBOLOTI, G.; KENIS, M. Discrimination of *Eubazus* (Hymenoptera, Braconidae) sibling species using geometric morphometrics analysis of wing venation. **Systematic Entomology**, v. 32, p. 625-634, 2007.
- VON DASSOW, G.; MUNRO, E. Modularity in animal development and evolution: elements of a conceptual framework for EvoDevo. **Journal of Experimental Zoology**, v. 285, n. 4, p. 307-325, 1999.
- WAGNER, G. P. Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. **American Zoologist**, v. 36, n. 1, p. 36-43, 1996.
- WAGNER, G. P.; ALTENBERG, L. Perspective: complex adaptations and the evolution of evolvability. **Evolution**, v. 50, n. 3, p. 967-976, 1996.
- WAGNER, G. P.; PAVLICEV, M.; CHEVERUD, J. M. The road to modularity. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 12, p. 921-931, 2007.
- WAYNE, R. K.; MODI, W. S.; O'BRIEN, S. J. Morphological variability and asymmetry in the cheetah (*Acinonyx jubatus*), a genetically uniform species. **Evolution**, v. 40, n. 1, p. 78-85, 1986.
- WEIS-FOGH, T. Molecular interpretation of the elasticity of resilin, a rubber-like protein. **Journal of molecular biology**, v. 3, n. 5, p. 648-667, 1961.
- WHITTEN, W. M.; YOUNG, A. M.; STERN, D. L. Nonfloral sources of chemicals that attract male euglossine bees (Apidae: Euglossini). **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 12, p. 3017-3027, 1993.
- WILLIAMS, N. H. The biology of orchids and euglossine bees. In: ARDITTI, J. **Orchid biology: reviews and perspectives II**. Ithaca: Cornell University Press, 1982. p. 119-171.
- WILLIAMS, N. H.; WHITTEN, W. M. Orchid floral fragrances and male euglossine bees: Methods and advances in the last sesquidecade. **Biol. Bull.**, v. 164, p. 355-395, 1983.

WINFREE, R. et al. Native bees provide insurance against ongoing honey bee losses. **Ecology Letters**, v. 10, p. 1105-1113, 2007.

ZELDITCH, M. L.; LUNDRIGAN, B. L.; GARLAND JR, T. Developmental regulation of skull morphology. I. Ontogenetic dynamics of variance. **Evolution & development**, v. 6, n. 3, p. 194-206, 2004.

ZELDITCH, M. L. et al. Modularity of the rodent mandible: integrating bones, muscles, and teeth. **Evolution & development**, v. 10, n. 6, p. 756-768, 2008.

ZIMMERMANN, Y. et al. Population genetic structure of orchid bees (Euglossini) in anthropogenically altered landscapes. **Conservation Genetics**, v. 12, n. 5, p. 1183-1194, 2011.

ZUCCHI, R.; SAKAGAMI, S. F.; CAMARGO, J. M. F. Biological observations on a Neotropical parasocial bee, *Eulaema nigrita*, with a review on the biology of Euglossinae (Hymenoptera, Apidae): A comparative study. **Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoology**, v. 17, n. 2, p. 271-380, 1969.