

EFEITOS DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL EM POPULAÇÕES DE *Euglossa securigera* Dressler: EVIDÊNCIAS ATRAVÉS DA VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA E ASSIMETRIA FLUTUANTE

**CAROLINA RABELO DE ALMEIDA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE - UENF  
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
FEVEREIRO DE 2018

EFEITOS DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL EM POPULAÇÕES DE *Euglossa securigera* Dressler: EVIDÊNCIAS ATRAVÉS DA VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA E ASSIMETRIA FLUTUANTE

**CAROLINA RABELO DE ALMEIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestra em Ecologia e Recursos e Naturais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Cristina Gaglianone

Coorientador: Prof. Dr. Leandro Rabello Monteiro

Campos dos Goytacazes – RJ

Fevereiro de 2018

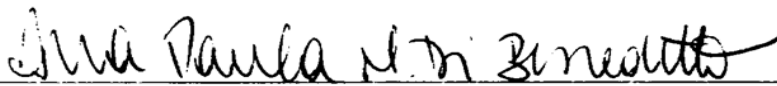
EFEITOS DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL EM POPULAÇÕES DE *Euglossa securigera* Dressler. EVIDÊNCIAS ATRAVÉS DA VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA E ASSIMETRIA FLUTUANTE

CAROLINA RABELO DE ALMEIDA

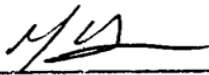
Dissertação apresentada ao Programa de Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestra em Ecologia e Recursos e Naturais.

Aprovada em: 20/02/18


Comissão Examinadora:



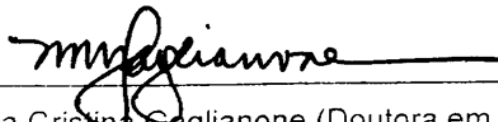
Dra. Ana Paula Madeira Di Benedetto (Doutora em Biotecnologia e Biociências e Biotecnologia) - UENF



Dr. Marcelo Rodrigues Nogueira (Doutor em Biologia Animal) - UENF



Dra. Silvia Helena Sofia (Doutora em Zoologia) – UEL



Dra. Maria Cristina Saglianone (Doutora em Entomologia) – UENF  
(Orientadora)



Dr. Leandro Rabello Monteiro (Doutor em Zoologia) – UENF (Coorientador)

*Dedico este trabalho aos meus pais, Geraldo e Aláides, e ao Márcio Lamenza,  
por todo amor e apoio.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Laboratório de Ciências Ambientais (LCA) pelo apoio para a realização deste trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao programa PROCAD/CAPES pelo auxílio financeiro para desenvolvimento das atividades vinculadas ao projeto.

À Secretaria de Agricultura Pecuária Pesca e Abastecimento do Rio de Janeiro (SEAPPA): Programa de Desenvolvimento Rural Sustentável em Microbacias Hidrográficas / Rio-Rural.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Maria Cristina Gaglianone pela oportunidade de orientação e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Leandro Rabello Monteiro, pela oportunidade de coorientação e pelo auxílio precioso nas análises e no entendimento sobre morfometria e assimetria flutuante.

Ao Prof. Dr. Guilherme do Carmo Silveira, pelos dados de estrutura da vegetação e paisagem utilizados na elaboração deste estudo.

Aos membros da banca, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Madeira Di Benedetto, Dr. Marcelo Nogueira e Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Helena Sofia por terem aceitado o convite.

À minha família, meus pais e meus irmãos, mesmo distantes estão sempre me apoiando e me fortalecendo em todas as minhas escolhas. Obrigada por tudo!

Ao meu amigo, amor, parceiro de vida e marido, Márcio Lamenza. Seu suporte e dedicação foram essenciais. Obrigada, amor!

Às amigas, aos amigos e colegas de laboratório (Setor de Ecologia de Abelhas e Polinização), Caíque Barcellos, Fernanda Del Penho, Fernanda Werneck, Júlio Araújo, Maira Moura, Marcelita França, Mariana Scaramussa, Sônia Guimarães e Vivian Manhães, pelo companheirismo, apoio, troca de conhecimento, risadas, cafés e lanches, e pelo suporte e em especial à Ellen Pessoa e Ulli Barros, mais do que colegas de trabalho, são amigas que aguentam o tranco comigo dignamente e divertidamente.

À Maria de Fátima (Fatinha) pelo carinho e cuidados não apenas com o prédio, mas com todas as pessoas que frequentam ali.

À toda equipe do setor de Ecologia Experimental. Obrigada a todos e todas!

*De todas as batalhas, a interna é a  
mais difícil, porém a mais gratificante.  
Vença a si mesma e você vencerá o  
mundo.*

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1.1- INTRODUÇÃO.....	1
1.1.1- Bionomia de <i>Euglossa securigera</i> (Dressler, 1982) Apidae, Euglossini .....	2
1.1.2- Morfometria e sua utilização em estudos ecológicos.....	4
1.2- OBJETIVO.....	8
1.3- HIPÓTESE.....	8
1.4- METODOLOGIA.....	8
1.4.1- Local de coleta.....	8
1.4.2- Obtenção dos dados morfométricos.....	12
1.4.3- Morfometria linear.....	12
1.4.4- Morfometria geométrica.....	13
1.4.5- Análise dos dados.....	14
1.4.5.1- Morfometria linear.....	14
1.4.5.2- Morfometria geométrica.....	15
1.4.5.2.1- Métodos de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes.....	15
1.4.5.2.2- ANOVA de Procrustes – assimetria flutuante da forma e do tamanho do centroide.....	16
1.4.5.2.3- ANOVA convencional – diferenças entre AF da forma e tamanho entre os espécimes de cada fragmento.....	17
1.4.5.2.4- Análise discriminante.....	17
1.4.5.2.5- Análise de regressão.....	18
1.5- RESULTADOS.....	18
1.5.1- Morfometria linear.....	18
1.5.2- Morfometria geométrica.....	22
1.5.2.1- Assimetria no tamanho do centroide das asas.....	23
1.5.2.2- Correlação entre variáveis morfométricas e variáveis ambientais.....	26



1.6- DISCUSSÃO.....	28
1.7- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
1.8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
APÊNDICE I e II.....	44

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Macho de *Euglossa securigera* Dressler, 1982, depositado na Coleção de Zoologia do Laboratório de Ciências Ambientais (LCA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.....3
- Figura 2** – Localização da Mesorregião da Zona da Mata, MG e indicação dos pontos de amostragem nos nove fragmentos florestais estudados (F1 a F9).....10
- Figura 3** – Medidas de tamanho corporal dos espécimes de *E. securigera* utilizadas para obtenção dos dados de morfometria linear. A – Distância intertegular (DI). B – Largura da cabeça (LC).....13
- Figura 4** – Representação das etapas aplicadas para a obtenção dos dados de morfometria geométrica utilizando as asas de *E. securigera*, com os marcos anatômicos pontuados em vermelho na imagem da asa anterior direita.....15
- Figura 5** – Variação das medidas de distância intertegular para os nove fragmentos (F1 a F9) estudados. Linhas em negrito indicam a mediana. Limites inferior e superior à mediana indicam o quartil inferior e superior. As hastes delimitam valores extremos. Valores fora dos limites estão representados individualmente (*outliers*).....20
- Figura 6** – Variação das medidas de largura da cabeça para os nove fragmentos (F1 a F9) estudados. Linhas em negrito indicam a mediana. Limites inferior e superior à mediana indicam o quartil inferior e superior. As hastes delimitam valores extremos. Valores fora dos limites estão representados individualmente (*outliers*).....20
- Figura 7** – Relação entre as médias de largura da cabeça de machos de *E. securigera* e as variáveis ambientais: A – Cobertura florestal e B – Percentual de Áreas Antrópicas (PAA) nos nove fragmentos estudados na região da Zona da Mata-MG.....21
- Figura 8** – Relação entre as médias de distância intertegular de machos de *E. securigera* e as variáveis ambientais: A – Cobertura florestal (%) e B – Percentual de Áreas Antrópicas (PAA), nos nove fragmentos estudados na região da Zona da Mata-MG.....22
- Figura 9** – Variação dos escores de assimetria flutuante para forma da asa entre cada um dos nove fragmentos estudados (F1 a F9) na região da Zona da Mata-MG.....24
- Figura 10** – Variação dos escores de assimetria flutuante para o tamanho do centroide da asa entre cada um dos nove fragmentos (F1 a F9) estudados na região da Zona da Mata-MG.....25
- Figura 11** – ANOVA com as diferenças entre o tamanho do centroide para cada um dos nove fragmentos (F1 a F9) estudados na região da Zona da Mata-MG.....25
- Figura 12** – Análise de função discriminante com a associação entre a forma de cada asa proveniente dos nove fragmentos estudados (F1 a F9).....26
- Figura 13** – Representação das correlações entre os efeitos das variáveis ambientais e as variáveis morfométricas.....28
- Figura 14** – Análise de regressão com as variáveis ambientais (PAA local, cobertura florestal e conectividade) e o primeiro PC usado como variável independente na regressão dos nove fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual Submontana na região da Zona da Mata-MG.....29

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Coordenadas geográficas e tamanho em hectares dos nove fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual amostrados na Zona da Mata-MG.....10
- Tabela 2** – Variáveis da estrutura da vegetação e paisagem realizadas para os nove fragmentos (F1 a F9) de Floresta Estacional Semidecidual amostrados na Zona da Mata, MG. (Retirado de Silveira, 2014).....12
- Tabela 3** – Análise de Variância (ANOVA para dois fatores: Indivíduo e lado) relativo as medidas repetidas de *E. securigera* coletadas em nove fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual na região da Zona da Mata-MG.....23
- Tabela 4** – Matriz de confusão com a classificação das formas das asas de cada indivíduo de *E. securigera* coletado nos nove fragmentos (F1 a F9) de Floresta Estacional Semidecidual na região da Zona da Mata-MG. Destaque para os valores baixos de associação correta para as formas das asas de cada fragmento.....27

## RESUMO

Ações antrópicas causam modificações nos ecossistemas e provocam estresse ambiental. Condições de estresse severo podem ocasionar alterações morfológicas e tornar os indivíduos assimétricos. As abelhas Euglossini ocorrem em vários biomas, sendo mais comuns nas florestas úmidas, por isso são consideradas abelhas florestais e podem ser influenciadas pela estrutura ambiental dos habitats. Técnicas de morfometria linear e geométrica permitem analisar a influência de fatores ambientais sobre o fenótipo dos indivíduos utilizando medidas corporais e de assimetria flutuante (AF). O objetivo deste trabalho foi analisar as diferenças morfométricas e de AF em populações de *E. securigera* em nove fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual, um tipo de fitofisionomia do bioma Mata Atlântica, relacionando as variáveis morfométricas com as diferentes variáveis ambientais dos fragmentos. Foram analisados 30 machos de *E. securigera* de cada fragmento. Os dados de morfometria linear foram obtidos por meio de medidas do tamanho corporal (largura da cabeça e distância intertegular). Os dados de morfometria geométrica foram obtidos através de 18 pontos anatômicos marcados nas asas anteriores esquerda e direita de cada macho. Os índices de tamanho e AF foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e regressão. A ANOVA não encontrou diferenças significativas no tamanho corporal e AF entre fragmentos. Nas análises de regressão apenas o tamanho corporal e a AF da forma se relacionaram significativamente com as variáveis ambientais. Os resultados foram inversos ao esperado, fragmentos considerados ambientalmente desfavoráveis (menor cobertura florestal e maior porcentagem de áreas antrópicas) apresentaram abelhas de maior tamanho corporal e com menores índices de AF, enquanto fragmentos considerados mais favoráveis apresentaram abelhas de menor tamanho corporal e com maiores índices de AF para a forma. A AF do tamanho não foi significativa. Esses resultados foram discutidos com base na teoria de estratégias de vida relativas ao investimento parental. Sugere-se que estudos de ninhos desta espécie sejam realizados a fim de elucidar com maior precisão estes resultados.

Palavras-chave: Abelhas-das-orquídeas, Asas, Estresse ambiental, Morfometria

## ABSTRACT

Anthropic actions cause changes in ecosystems and cause environmental stress. Severe stress conditions can cause morphological changes and render individuals asymmetrical. Euglossini bees occur in several biomes, being more common in the tropical forests, therefore considered bees, and can be influenced by the environmental structure of the habitats. Linear and geometric morphometric techniques allow the analysis of the influence of environmental factors on the phenotype of individuals using body measurements and fluctuating asymmetry (FA). The objective of this work was to analyze the morphometric and FA differences in populations of *E. securigera* collected in fragments of Seasonal Semideciduous Forest correlating the morphometric variables with different environmental variables in their environment. Thirty males of *E. securigera* were analyzed from each fragment. Linear morphometry data were obtained through measures of body size (head width and intertegular span). The geometric morphometric data were obtained through 18 anatomical points marked on the left and right anterior wings of each male. The size and FA values were submitted to analysis of variance (ANOVA) and regression. ANOVA did not find significant differences in body size and asymmetry between fragments. In regression analyzes only body size and shape FA were significantly related to environmental variables. Differently from the expected, environmentally unfavorable fragments presented bees with larger body size and with lower FA indexes, while environmentally favorable fragments showed bees of smaller body size and with higher FA indexes for the shape. The FA of the size was not significant. These results were discussed based on the theory of life strategies related to parental investment. We suggest that studies of nests of this species be carry out in order to elucidate with more precision these results.

Key-words: *Orchid-bees, Wings, Environmental stress, Morphometrics*

## 1.1- INTRODUÇÃO

As ações antrópicas causam modificações nos ecossistemas que podem exercer pressões ambientais sobre os organismos. Desse modo, tem se tornado cada vez mais importante compreender como as populações naturais respondem a estes eventos. A fragmentação florestal e consequente perda de habitats são algumas das modificações ambientais que ocasionam mudanças nos ecossistemas, como alterações de estruturas ambientais locais e da paisagem, o que pode diminuir a disponibilidade de recursos para a fauna. Estas alterações ambientais podem causar estresse durante o desenvolvimento dos organismos, tornando-os assimétricos e menores (Parsons, 1992; Moller & Swaddle, 1997).

As populações de insetos regulam seu tamanho em resposta às influências ambientais e às variações na quantidade de recursos disponíveis (Altieri & Letourneau 1984). Além disso, estas influências ambientais podem ser percebidas através de respostas biológicas devido a alteração na capacidade dos indivíduos em produzir um fenótipo com simetria bilateral ideal (Parsons, 1992). Estas respostas biológicas se caracterizam por alterações morfológicas que ocorrem em decorrência da instabilidade do desenvolvimento, que é a incapacidade de um genótipo em produzir o mesmo fenótipo em determinado ambiente ou em certas condições, indicando interferência na estabilidade do desenvolvimento do organismo (Moller & Swaddle, 1997).

Em teoria, sob condições de desenvolvimento estável e por estarem sob controle dos mesmos mecanismos genéticos, as estruturas morfológicas pareadas nos organismos de simetria bilateral apresentam uma forma ideal e, portanto, espera-se que elas sejam idênticas (Palmer & Strobeck, 1986). No entanto, apesar de pequenas assimetrias ocorrerem naturalmente nos caracteres biológicos bilaterais, alterações na estrutura corporal podem se manifestar nas populações em situações de estresse ambiental severo (Waddington, 2017), aumentando ou causando desvios no desenho do eixo bilateral (Leary & Allendorf, 1989). O aumento na frequência com que esses desvios ocorrem em determinada população pode influenciar negativamente a homeostase dos indivíduos ao longo do tempo (Markow, 1995). Portanto, as técnicas morfométricas têm sido muito úteis em

estudos onde se pretende avaliar a influência do estresse ambiental sobre as populações e o grau de perturbação em diferentes localidades.

### **1.1.1 – Bionomia de *Euglossa securigera* (Dressler, 1982) Apidae, Euglossini**

As abelhas da tribo Euglossini ocorrem amplamente distribuídas na região Neotropical, distribuídas do norte da Argentina ao sul dos Estados Unidos (Silveira *et al.* 2002). Esses organismos podem ocorrer em vários biomas, porém apresentam maior riqueza e abundância nas florestas úmidas (Roubik, 2004). As abelhas Euglossini constituem um ótimo grupo para estudo de respostas induzidas pelo ambiente uma vez que são indicadores de qualidade ambiental de áreas naturais e muitas espécies podem ter sua abundância e diversidade afetadas pelo tamanho e estrutura vegetacional do fragmento (Peruquetti *et al.* 1999; Ramalho *et al.* 2009; Aguiar *et al.* 2014; Silveira, 2014).

Nos ecossistemas onde estão presentes, espécies de Euglossini atuam como polinizadores de mais de 70 famílias botânicas e mais de 600 espécies da família Orchidaceae dependem exclusivamente destas abelhas para sua reprodução (Ramírez *et al.* 2002; Roubik & Hanson, 2004). São comumente conhecidas como abelhas-das-orquídeas, devido ao hábito dos machos de coletar substâncias aromáticas em flores de espécies desta família, comportamento que muitas vezes resulta na polinização. Dentro da tribo ocorrem espécies com grande habilidade de voo e que podem percorrer grandes distâncias dentro de florestas contínuas, o que confirma sua importância na polinização de espécies botânicas de distribuição esparsa (Janzen, 1971).

Dentre os cinco gêneros da tribo Euglossini, *Euglossa* Latreille, 1802 é o mais diversificado, contando com 107 espécies (Nemésio & Silveira, 2007) de abelhas de tamanho pequeno a moderado, podendo variar de 8 a 20 mm de comprimento total (Dressler, 1982). As abelhas deste gênero são facilmente reconhecidas pela coloração metálica, principalmente na cor verde (Figura 1), mas muitas espécies apresentam partes do corpo também de coloração azul, vermelha, acobreada ou violeta. Seus ninhos podem ser construídos em cavidades preexistentes em galhos e troncos de árvores, barrancos ou mesmo em construções antigas (Dressler, 1982; Michener, 2000). O comportamento de nidificação da maioria das espécies do gênero *Euglossa* ainda não é suficientemente elucidado, sendo que poucas têm

seus ninhos e comportamento descritos. Porém, das poucas espécies que se tem conhecimento a este respeito, a maioria apresenta algum tipo de comportamento social ou organização comunal (Soucy *et al.* 2003; Pech *et al.* 2008; Augusto e Garófalo, 2009).

*Euglossa securigera* Dressler, 1982 (Figura 1) encontra-se amplamente distribuída no Brasil, porém com populações não muito abundantes (Nemésio, 2009). Em estudo sobre a comunidade de Euglossini em fragmentos de Mata Atlântica, Aguiar & Gaglianone (2008) verificaram que a abundância desta espécie foi significativamente reduzida conforme se distanciava do fragmento florestal para dentro da matriz circundante, independentemente do tipo de matriz. Isto sugere que esta espécie seja pouco tolerante às condições fora das florestas, o que a torna um modelo interessante em estudos sobre respostas dos organismos a algum estressor ambiental.



**Figura 1** – Macho de *Euglossa securigera* Dressler, 1982, depositado na Coleção de Zoologia do Laboratório de Ciências Ambientais (LCA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro



### 1.1.2– Morfometria e sua utilização em estudos ecológicos

A morfometria pode ser conceituada como o estudo da variação da forma (Daly, 1985; Monteiro & Reis, 1999). Por forma entende-se virtualmente qualquer formato, tais como organelas celulares e crânios. A morfometria consiste em um conjunto de técnicas que podem ser aplicadas em várias áreas do conhecimento, tais como Citologia, Entomologia, Geologia e Paleontologia (Daly, 1985).

A morfometria pode ser analisada através da morfometria tradicional (linear) e da morfometria geométrica. Na morfometria tradicional as análises são realizadas por meio de medidas de distâncias lineares entre os pontos que são anatomicamente homólogos (Rohlf & Marcus, 1993). Portanto, por meio desta técnica é possível verificar a variação de forma com uma matriz de dados de medidas de distância, onde os resultados são demonstrados numericamente. Porém, as análises não são capazes de captar toda a informação sobre a forma dos organismos. Isto ocorre porque as variáveis utilizadas não fornecem a posição geométrica, somente as distâncias lineares.

A morfometria geométrica é uma técnica utilizada para analisar a forma dos organismos e de suas estruturas morfológicas e visa a descrição e representação da geometria das formas estudadas e também descrever e localizar regiões onde ocorrem mudanças e reconstruir tais mudanças da forma (Fornell, 2005). O conceito de forma é definido dentro da morfometria geométrica como sendo todas as características de uma determinada configuração de pontos sem a influência dos efeitos de tamanho, posição e orientação (Monteiro & Reis, 1999). A descrição da forma se baseia no uso de marcos anatômicos ou *landmarks*, pontos que ajudam a identificar mudanças ocorridas em estruturas morfológicas homólogas e, então, compará-las. As coordenadas dos pontos anatômicos são dispostas em um plano cartesiano e podem se apresentar em duas dimensões ou três dimensões. Elas são as variáveis que carregam a informação sobre a forma das estruturas analisadas, através das posições relativas, permitindo a reconstrução da forma após diversas análises, o que viabiliza bastante a detecção de diferenças na forma e possibilita identificar em quais locais e com qual intensidade estão incidindo as mudanças. Desse modo, a técnica de morfometria geométrica mostra-se bastante favorável para a aquisição da informação sobre a forma de organismos. Além disso, apresenta

grande robustez estatística ao excluir efeitos de posição, orientação e tamanho isométrico na análise da forma (Rohlf & Marcus, 1993; Monteiro & Reis, 1999).

Várias estruturas morfológicas dos organismos têm sido utilizadas para analisar a forma e o tamanho através das técnicas morfométricas. No estudo dos insetos existe, de modo geral, preferência pelo uso das asas. Isso se deve, em parte, à forma bidimensional e ao grande número de pontos determinados pela junção das nervuras alares. Em morfometria geométrica, um ponto marcado neste tipo de estrutura é denominado marco anatômico do tipo I, definido como pontos no espaço onde três estruturas se encontram, uma justaposição de tecidos (Monteiro & Reis, 1999).

A morfometria geométrica é uma metodologia útil e eficiente quando utilizada junto aos conhecimentos biológicos para responder questões relacionadas com variação de determinados caracteres morfológicos interespecíficos ou intraespecíficos, em organismos de diversos tamanhos. Estudos sobre diferenças geográficas intraespecíficas, morfologia funcional e evolução, sistemática e assimetria de organismos são exemplos de estudos que estimam a forma de organismos através dos métodos de morfometria geométrica (Marcus & Corti, 1996). Em estudos com abelhas do gênero *Bombus*, Klingenberg *et al.* (2001) utilizaram esta técnica para avaliar a variação morfológica entre módulos anterior e posterior e a assimetria no desenvolvimento das asas destes organismos. Utilizando esta abordagem é possível detectar diferenças morfológicas entre as espécies e relacionar essas diferenças com algum tipo de estresse. Ecólogos debatem que a forma e tamanho dos organismos deve caracterizar com certa precisão aspectos do seu comportamento como hábitos alimentares, uso de micro habitats, pressão seletiva, competição e predação, visto que a forma de um determinado organismo é, pelo menos em dado momento, o resultado final de sua evolução (Peres-Neto, *et al.* 1995).

Portanto, a utilização das técnicas morfométricas permite avaliar diferenças morfológicas de tamanho e forma em determinadas estruturas biológicas, visando detectar variações intra e interespecíficas e se mostram ferramentas eficientes para avaliar o efeito de influências ambientais sobre tamanho e forma dos organismos. Sabe-se que o tamanho é um fator que apresenta baixa herdabilidade (Roulston & Cane, 2000), sendo assim, em abelhas fatores ambientais como por exemplo a qualidade e a disponibilidade de recursos alimentares são importantes na regulação

do tamanho das populações. Além disso, o tamanho influencia várias características associadas ao *fitness* em abelhas. Em fêmeas, maior porte corporal pode representar maior capacidade de provisionamento de células e produção de ovos, enquanto em machos, pode garantir maiores vantagens competitivas na hora de se deslocar e reproduzir (Peruquetti, 2003).

Influências ambientais também podem afetar a habilidade do indivíduo em desenvolver um fenótipo com simetria bilateral perfeita. Dentre os fenômenos biológicos analisados por métodos morfométricos, a assimetria flutuante (AF) está sendo cada vez mais utilizada como indicador/a de perturbações ambientais nos organismos. Trata-se de um fenômeno populacional, caracterizado por sutis e aleatórias variações na simetria bilateral perfeita, ou seja, a diferença entre os lados direito e esquerdo (Palmer & Strobeck, 1986; Van Valen, 1962), sendo uma medida de instabilidade no desenvolvimento de indivíduos (Graham *et al.* 2010; Sanseverino & Nessimian, 2008). De modo geral ocorrem três formas de assimetria bilateral, reconhecidas como assimetria flutuante, assimetria direcional e antissimetria (Palmer 1994). Na assimetria flutuante a variação da simetria apresenta uma distribuição Gaussiana com média zero, na qual os desvios são aleatórios e não direcionais (Palmer & Strobeck, 2003). Porém, tais desvios podem apresentar tendência a ocorrerem em uma determinada direção, gerando duas outras formas de assimetria. Na assimetria direcional ocorre uma tendência para maior desenvolvimento de um lado em relação ao outro e tem distribuição com média diferente de zero. No caso da antissimetria um lado é maior, e neste caso o lado mais desenvolvido varia aleatoriamente na população e a distribuição das diferenças é bimodal (Palmer,1994). Porém, entre as três formas, somente a assimetria flutuante é utilizada como indicador de instabilidade no desenvolvimento, visto que as outras duas formas resultam do desenvolvimento normal dos organismos e refletem um controle genético na formação do fenótipo assimétrico (Leary & Allendorf, 1989).

Vários estudos realizados em áreas fragmentadas têm encontrado maiores valores para os índices de assimetria flutuante em caracteres de populações estabelecidas em áreas com algum estresse ambiental. Em estudo com aves, Lens *et al.* (1999) analisaram a AF através do comprimento do tarso e encontraram altos índices de AF em espécies de fragmentos mais degradados, enquanto Anciães & Marini, (2000) notaram maiores níveis de AF em aves de fragmentos menores do que naqueles de extensas áreas contínuas.

Estudos com invertebrados têm sido desenvolvidos em relação aos efeitos de estressores ambientais na assimetria destes organismos. Nunes *et al.* (2015), observaram que nos indivíduos de colônias de abelhas *Apis mellifera* provenientes de áreas com altos níveis de perturbação antrópica, os níveis de AF foram maiores do que em colônias de áreas menos perturbadas. Silva *et al.* (2009), estudando o efeito do clima e de influências antrópicas em populações de *Eulaema nigrita* e *Euglossa pleosticta* em fragmentos de Mata Atlântica, encontraram machos de *E. pleosticta* mais assimétricos durante a estação quente e úmida na borda dos fragmentos estudados do que no interior das florestas. Em estudo com besouros em gradiente zona rural-urbana, Weller *et al.* (2004) encontraram maiores níveis de AF em espécies de besouros conforme se aproximavam das regiões urbanas. Clarke (1993) avaliou o impacto sobre invertebrados em ecossistemas aquáticos marinhos e de água doce com instalação de produção de fertilizantes. Os resultados revelaram níveis altos de assimetria nos organismos destas áreas quando comparados aos da área controle. Estudos realizados com as larvas do mosquito *Chironomus riparius* mostram que os insetos provenientes de partes de um rio com altos valores de contaminação por metal tiveram maiores níveis de assimetria do que aqueles coletados em regiões mais limpas e afastadas da fonte de contaminantes (Groenendijk *et al.*, 1998).

Desse modo, a AF tem sido considerada um indicador de estresse em populações que vivem sob perturbações ambientais (Parsons, 1992) e pode ser uma ferramenta muito útil para o biomonitoramento (Sanseverino & Nessimian, 2008). Além disso, a utilização de um índice de AF pode apontar mudanças ambientais antes que influenciem as populações de forma drástica (Leary & Allendorf, 1989; Lens *et al.*, 2002), fato de grande valor para a conservação de espécies sujeitas a diferentes tipos de estresses ambientais. Além de todos estes fatores positivos, o baixo custo e relativa rapidez com que se alcançam os resultados, tornam a AF um método cada vez mais utilizado (Hódar, 2002).

## **1.2- OBJETIVO**

O objetivo deste estudo é analisar a variação morfométrica e a assimetria flutuante em populações de machos de *Euglossa securigera*, relacionando-as com variáveis ambientais de fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual.

## **1.3- HIPÓTESE**

Pressuposto – O estresse é mais severo em fragmentos florestais com condições ambientalmente desfavoráveis (Menor cobertura florestal e conectividade e maior percentual de áreas antrópicas).

Hipótese ecológica – Indivíduos de fragmentos com condições ambientalmente desfavoráveis estão mais sujeitos aos efeitos do estresse ambiental, o que compromete o seu desenvolvimento e pode resultar em indivíduos de tamanho corporal menor e mais assimétricos.

## **1.4- METODOLOGIA**

### **1.4.1- Local de coleta**

A amostragem foi realizada em nove fragmentos de Mata Atlântica com formação de Floresta Estacional Semidecidual na região da Zona da Mata-MG (Figura 2) no período de outubro/2010 a outubro/2012 com o uso de armadilhas atrativas, que possuem em seu interior algodão embebido em iscas aromáticas artificiais, conforme apresentado por Silveira (2014) e Ramalho *et al.* (2009). O material encontra-se depositado na Coleção Entomológica do Laboratório de Ciências Ambientais/Setor de Ecologia Experimental da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

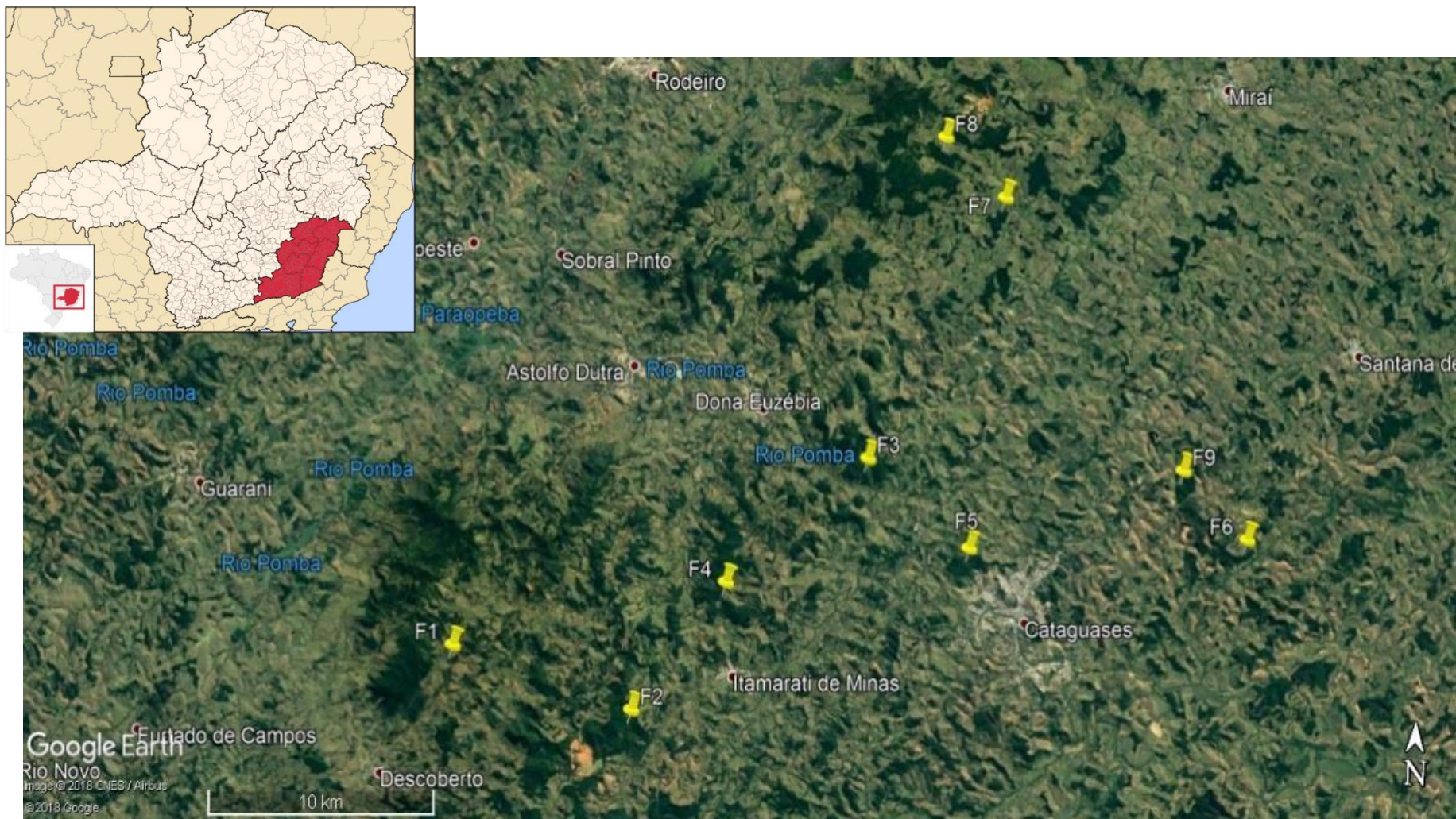
As áreas de amostragem foram caracterizadas com relação à estrutura da vegetação e da paisagem em seu entorno (Tabela 1 e 2, adaptadas a partir de Silveira, 2014). As variáveis da vegetação utilizadas neste estudo foram: altura

média das árvores e DAP (medidas obtidas utilizando todas as árvores com circunferência de 15cm acima do peito em transectos) e cobertura do dossel e quantidade de sub-bosque. Para estes dois últimos parâmetros foi utilizada uma tela medindo  $0,25m^2$  (0,50 x 0,50 m) a qual foi dividida por arame em 100 quadrados vazados. Através dessa técnica é possível estimar a porcentagem de cobertura vegetal a partir da quantidade de quadrados abertos ou fechados ao visualizar um ponto dentro da área avaliada (Freitas *et al.*, 2002).

As variáveis de estrutura da paisagem foram obtidas através de vetorização e classificação com auxílio do programa QGIS. Com o auxílio do programa ArcGIS, os vetores produzidos foram analisados e assim foram obtidos os parâmetros de estrutura da paisagem em escala local (500m a partir do raio de coleta) e paisagem (1500m a partir do raio de coleta). As variáveis da paisagem utilizadas neste estudo foram: tamanho do fragmento (ha), cobertura florestal (%) local (500m a partir do ponto de coleta) e cobertura florestal (%) da paisagem (1500m a partir do ponto de coleta), conectividade (%), PAA local (Percentual de Áreas Antrópicas: áreas de cultivo, pastagem, estradas rurais e áreas urbanizadas) em uma escala local (500m a partir do ponto de coleta) e o PAA em escala da paisagem (1500m a partir do ponto de coleta).

**Tabela 1** – Coordenadas geográficas e tamanho em hectares dos nove fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual amostrados na Zona da Mata-MG.

Local	Coordenadas geográficas	Tamanho (ha)
F1	21°24.5'S 42°56.2'W	1793.7
F2	21°26.6'S 42°50.8'W	425.7
F3	21°20.6'S 42°45.7'W	363.2
F4	21°23.4'S 42°49.1'W	147
F5	21°22.3'S 42°43.0'W	133.1
F6	21°21.8'S 42°35.9'W	91.75
F7	21°14.6'S 42°42.6'W	70.1
F8	21°13.5'S 42°44.1'W	70.0
F9	21°20.4'S 42°37.6'W	62.02



**Figura 2-** Localização da Mesorregião da Zona da Mata, MG e indicação dos pontos de amostragem nos nove fragmentos florestais estudados (F1 a F9).

**Tabela 2** – Variáveis da estrutura da vegetação e paisagem realizadas para os nove fragmentos (F1 a F9) de Floresta Estacional Semidecidual amostrados na Zona da Mata, MG. (Retirado de Silveira, 2014).

<b>Variáveis ambientais de estrutura da vegetação</b>				<b>Variáveis ambientais de estrutura da paisagem</b>				
<b>Fragmentos (cm)</b>	<b>Altura (cm)</b>	<b>DAP (cm)</b>	<b>Cobertura do dossel (%)</b>	<b>Cobert. florestal (%)*</b>	<b>Cobert. florestal (%)**</b>	<b>Conectividade (%)</b>	<b>PAA *</b>	<b>PAA **</b>
<b>F1</b>	11,51	12,88	91,14	71,63	67,51	66,99	28,36	32,83
<b>F2</b>	12,40	16,12	77,78	74,70	53,54	50,90	25,30	46,82
<b>F3</b>	9,84	15,24	90,80	96,15	56,94	52,04	3,67	46,05
<b>F4</b>	9,52	14,11	65,63	71,67	37,17	32,86	28,4	66,28
<b>F5</b>	9,89	12,35	91,08	81,67	24,03	16,82	18,33	82,83
<b>F6</b>	9,98	12,73	90,31	65,17	28,35	23,75	34,83	75,94
<b>F7</b>	8,95	11,89	76,74	47,81	28,41	25,99	52,19	73,70
<b>F8</b>	8,63	12,18	86,68	56,85	29,42	25,99	42,59	73,70
<b>F9</b>	11,32	14,98	88,19	50,95	19,15	15,17	54,38	83,78

PAA – Percentual de Áreas Antrópicas

\*Escala local – raio de 500 metros a partir do ponto de coleta

\*\*Escala da paisagem – raio de 1500 metros a partir do ponto de coleta



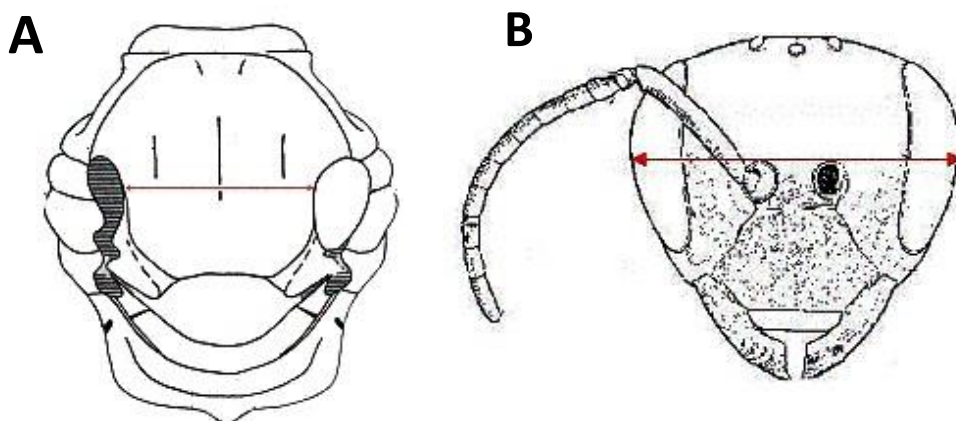
#### 1.4.2- Obtenção dos dados morfométricos

Os espécimes utilizados neste estudo são provenientes de nove fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual na região da Zona da Mata-MG. Foram escolhidos aleatoriamente o maior número possível de machos de *E. securigera* nas amostras provenientes dos fragmentos estudados e assim obtivemos 30 machos de *Euglossa securigera* de cada fragmento (n=270), os quais foram utilizados para obtenção dos dados morfométricos.

#### 1.4.3- Morfometria linear

Em 30 machos de *E. securigera* de cada fragmento foram realizadas as medidas de tamanho corporal utilizando a distância intertegular (DI) e a largura da cabeça (LC) (Figura 3) com o auxílio de microscópio estereoscópico e ocular micrométrica. Cada estrutura foi medida duas vezes pelo mesmo pesquisador e com espaço de tempo de 5 dias entre uma etapa de medida e outra. Estas medidas são amplamente utilizadas em estudos que pretendem avaliar o tamanho corporal em abelhas (Cane, 1987). Além disso, tais medidas variam de tamanho de maneira dependente e dessa forma podem ser utilizadas de maneira segura.

As medidas obtidas de DI e LC foram então relacionadas com as variáveis ambientais da vegetação e paisagem.

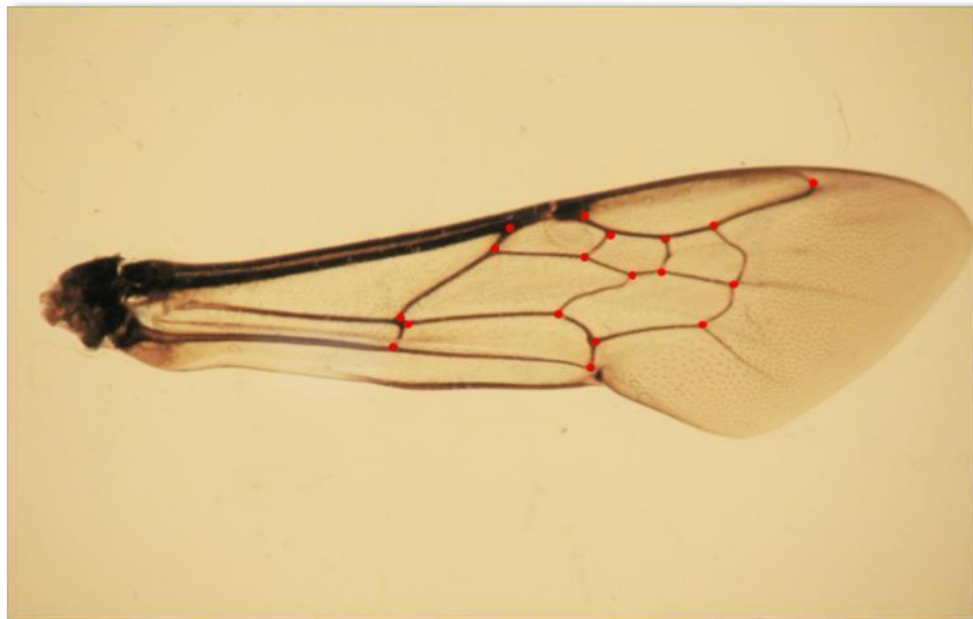
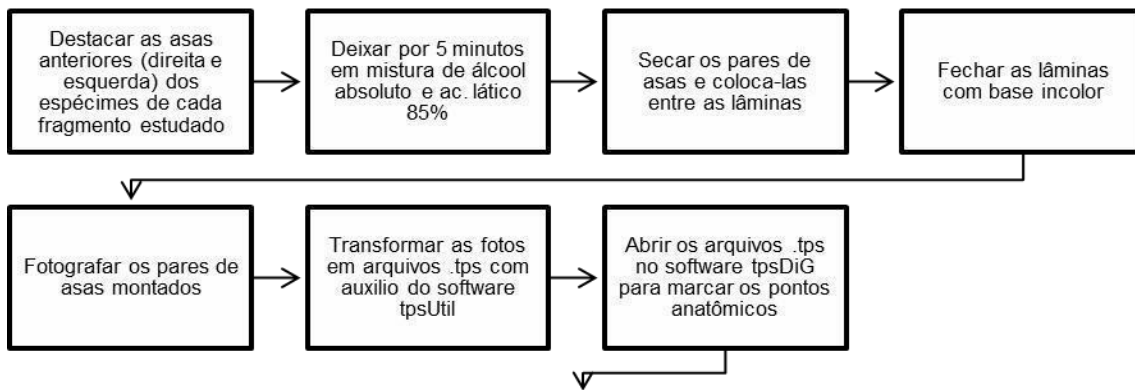


**Figura 3** – Medidas de tamanho corporal dos espécimes de *E. securigera* utilizadas para obtenção dos dados de morfometria linear. A – Distância intertegular (DI). B – Largura da cabeça (LC).

#### **1.4.4- Morfometria geométrica**

Como marcadores morfológicos, foram utilizadas as asas anteriores direita e esquerda dos mesmos 30 espécimes de cada fragmento analisado no item 4.1.1. As asas foram destacadas com o auxílio de pinça entomológica e colocadas entre lâminas e fixadas com mistura de álcool absoluto e ácido láctico 85% 1:1 (Figura 4). Essa solução auxilia na disposição plana das asas na lâmina, visto que causa o amolecimento das regiões esclerotizadas das asas.

Após fixadas, as lâminas foram fotografadas com o auxílio de câmera fotográfica acoplada ao estereoscópio. As fotos foram, então, transferidas para o programa tpsUtil 1.28 (Rohlf, 1998) e convertidas em arquivos de extensão “\*.tps”. Após esse passo, os arquivos “\*.tps” foram abertos no software tpsDig 1.65 (Rohlf, 1998) e os 18 marcos anatômicos foram marcados nas intersecções das nervuras de cada par de asas em cada arquivo gerado (Figuras 3 e 4). Estes pontos foram transformados em matrizes de coordenadas e utilizados nas análises estatísticas. Cada um dos 18 pontos marcados em uma asa é uma coordenada no eixo xy em um plano cartesiano e o conjunto de pontos em cada asa forma uma matriz com as 18 coordenadas.



**Figura 4-** Representação das etapas aplicadas para a obtenção dos dados de morfometria geométrica utilizando as asas de *E. securigera*, com os marcos anatômicos pontuados em vermelho na imagem da asa anterior direita.

#### 1.4.5 – Análise dos dados

##### 1.4.5.1- Morfometria linear

Para testar o efeito dos diferentes fragmentos sobre o tamanho corporal das abelhas, foi realizada análise de variância (ANOVA), onde os fragmentos foram as variáveis categóricas com efeito fixo e as medidas de tamanho corporal como as variáveis contínuas dependentes. Uma regressão linear simples foi utilizada para

verificar a associação entre o tamanho médio das abelhas de cada fragmento e as variáveis ambientais.

#### **1.4.5.2- Morfometria geométrica**

Para análises iniciais de assimetria e para testar o erro de mensuração, foram escolhidos 100 indivíduos dos 270 utilizados, nos quais os pontos foram marcados duas vezes pelo mesmo pesquisador em dias diferentes. De acordo com Palmer (1994), esse procedimento deve ser utilizado para verificar a medida do erro de mensuração utilizando pelo menos 30 indivíduos. O objetivo final desta análise é verificar se a assimetria flutuante é maior que o erro de mensuração através do resultado da interação lado e indivíduo. Para a análise de AF um teste multivariado é realizado para a forma e um teste univariado para o tamanho. Quando a interação é significativa, a assimetria flutuante é maior que o erro de mensuração.

Os dados obtidos com o programa TPSDig foram transferidos para o programa MorphoJ (Klingenberg, 2011) para realizar as análises de morfometria geométrica. Nesse ponto foi realizada a Superposição de Procrustes (listadas abaixo no item 4.5.1). Esse ajuste é realizado como referência à configuração média (consenso): cada espécime é sobreposto à configuração média, com o objetivo de minimizar a distância quadrada entre os pontos das configurações. Assim, as configurações finais alinhadas resultam em um conjunto de dados que apresentam informações apenas sobre a forma da estrutura utilizada, pois os efeitos de posição, tamanho e orientação foram eliminados durante a etapa de Superposição de Procrustes, e são empregadas como variáveis nas análises (Monteiro & Reis, 1999). Portanto, a assimetria da forma é estimada como o desvio da disposição dos pontos anatômicos entre as configurações de lado esquerdo e direito após reflexão das coordenadas.

##### **1.4.5.2.1- Métodos de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes**

Para gerar as mudanças de forma das asas a partir dos marcos anatômicos foi realizado o Método de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes (Monteiro & Reis, 1999), o que consiste nas quatro seguintes etapas:

**1-Refletir:** reflete-se a configuração de pontos de um lado. Nessa etapa muda-se o sinal das coordenadas do eixo x das configurações de pontos anatômicos de um dos lados das asas. Após a escolha de um dos lados a ser refletido, as configurações de todas as asas direitas e esquerdas serão colocadas em uma única matriz de dados para os espécimes de cada fragmento. Por fim, esta matriz contendo as configurações de ambos os lados e as réplicas de cada população será utilizada nas próximas etapas.

**2-Translação:** as configurações das asas de ambos os lados são sobrepostas. É realizada deslocando-se o centroide para a origem do sistema de eixos cartesianos, o que elimina os efeitos de posição.

**3-Proporcionalização:** padronização tamanho de todas as configurações. O tamanho, em morfometria geométrica, é determinado pelo tamanho do centroide da configuração de marcos anatômicos. Esta etapa é feita tornando o tamanho do centroide de cada configuração igual a 1. Desse modo, com as configurações situadas em sua origem, elimina-se o efeito de posição e tamanho.

**4-Rotação:** as configurações sobrepostas e proporcionadas são rotacionadas umas contra as outras em torno de seu centroide para obter o melhor ajuste entre os seus marcos correspondentes, retirando o efeito da orientação nas coordenadas.

#### **1.4.5.2.2- ANOVA de Procrustes – assimetria flutuante da forma e do tamanho do centroide**

A ANOVA de Procrustes é um método que utiliza as coordenadas de Procrustes alinhadas de todos os dados (538 asas provenientes dos 270 indivíduos utilizados neste estudo) para calcular as distâncias entre médias e entre indivíduos e médias amostrais. Isto é possível devido ao fato das distâncias de Procrustes serem baseadas em desvios de forma a partir da forma consenso, o que em outras palavras refere-se ao cálculo de soma dos quadrados. Isso torna possível a utilização das coordenadas de Procrustes de forma análoga aos desvios de uma média de uma ANOVA convencional (Klingenberg & McIntyre, 1998).

No programa Morphoj (Klingenberg, 2011), o método de ANOVA de Procrustes gera duas matrizes de dados: um componente simétrico com as diferenças entre médias individuais (entre lados), e um componente assimétrico com

as diferenças entre lados dentro dos indivíduos. Esta ANOVA foi utilizada para verificar as possíveis diferenciações na assimetria flutuante da forma e tamanho do centroide das asas entre as diversas populações (Klingenberg e McIntyre, 1998, Palmer e Strobeck, 2003). O tamanho do centroide e a forma foram usados como variáveis independentes, o lado do corpo como um efeito fixo e os indivíduos como um efeito aleatório (Klingenberg e McIntyre, 1998). Assim, o efeito do indivíduo representa a variação individual na forma, e o efeito do lado do corpo representa a assimetria direcional das asas. O valor do efeito da assimetria flutuante será obtido através da comparação das somas de quadrados da interação de lado do corpo X indivíduos com as somas de quadrados da medida do erro (Klingenberg e McIntyre, 1998).

Este método gerou duas matrizes: uma com componentes simétricos e uma com componentes assimétricos. Os componentes simétricos são as coordenadas médias dos lados direito e esquerdo de cada indivíduo. Os componentes assimétricos são as diferenças entre as coordenadas dos pontos anatômicos direito e esquerdo em cada indivíduo. O índice de assimetria, proposto por Klingenberg & Monteiro (2005), utiliza as coordenadas deste componente assimétrico e realiza uma análise de componentes principais, calcula escores e soma os escores de todos componentes principais para cada indivíduo. Quanto mais assimétricos, maior o escore individual.

#### **1.4.5.2.3- ANOVA convencional – diferenças entre AF da forma e tamanho entre os espécimes de cada fragmento**

No programa R (3.3.3) os escores foram tratados como variáveis e comparados através de ANOVA convencional: as médias de AF da forma e do tamanho das populações foram comparadas entre os diferentes fragmentos.

#### **1.4.5.2.4- Análise discriminante**

Em seguida foi realizada a análise discriminante do componente simétrico da forma da asa, classificando por fragmentos. Os resultados das funções discriminantes foram verificados por validação cruzada (*cross-validation*) para a

proporção de indivíduos classificados corretamente em suas devidas localidades a partir da forma de suas asas. Esta análise foi realizada no software R através do pacote MASS (Venables & Ripley, 2002) (versão 3.3.3).

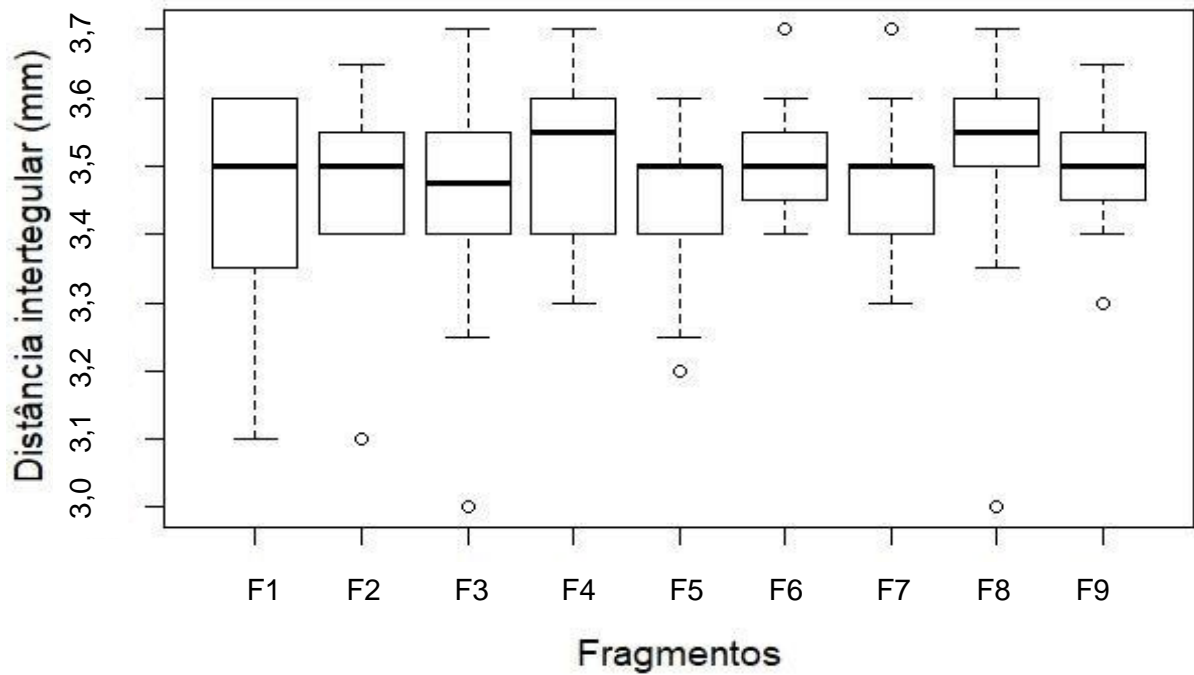
#### **1.4.5.2.5- Análise de regressão**

Uma PCA com as variáveis ambientais foi realizada e o primeiro PC (componente principal) de cada variável ambiental foi utilizado como variável dependente. Estes escores tratados como variáveis dependentes foram comparados com os métodos estatísticos tradicionais univariados: a AF das populações de cada fragmento foi associada através de modelos de regressão linear às variáveis ambientais de estrutura local e da paisagem de cada fragmento.

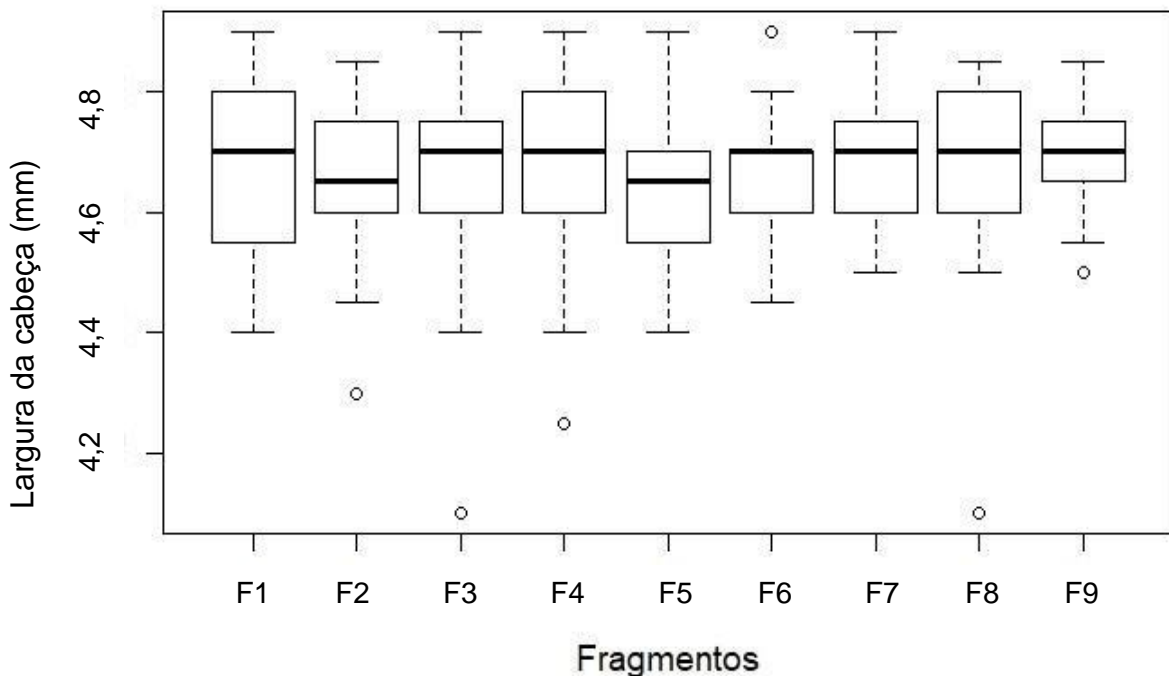
### **1.5- RESULTADOS**

#### **1.5.1- Morfometria linear**

A ANOVA não indicou diferenças significativas para nenhuma das medidas de tamanho corporal das abelhas entre os fragmentos, distância intertegular (DI) ( $F= 0,4226$ ;  $p= 0,907$ , figura 5) e largura da cabeça (LC) ( $F= 1,638$ ;  $P= 0,1142$ , figura 6).



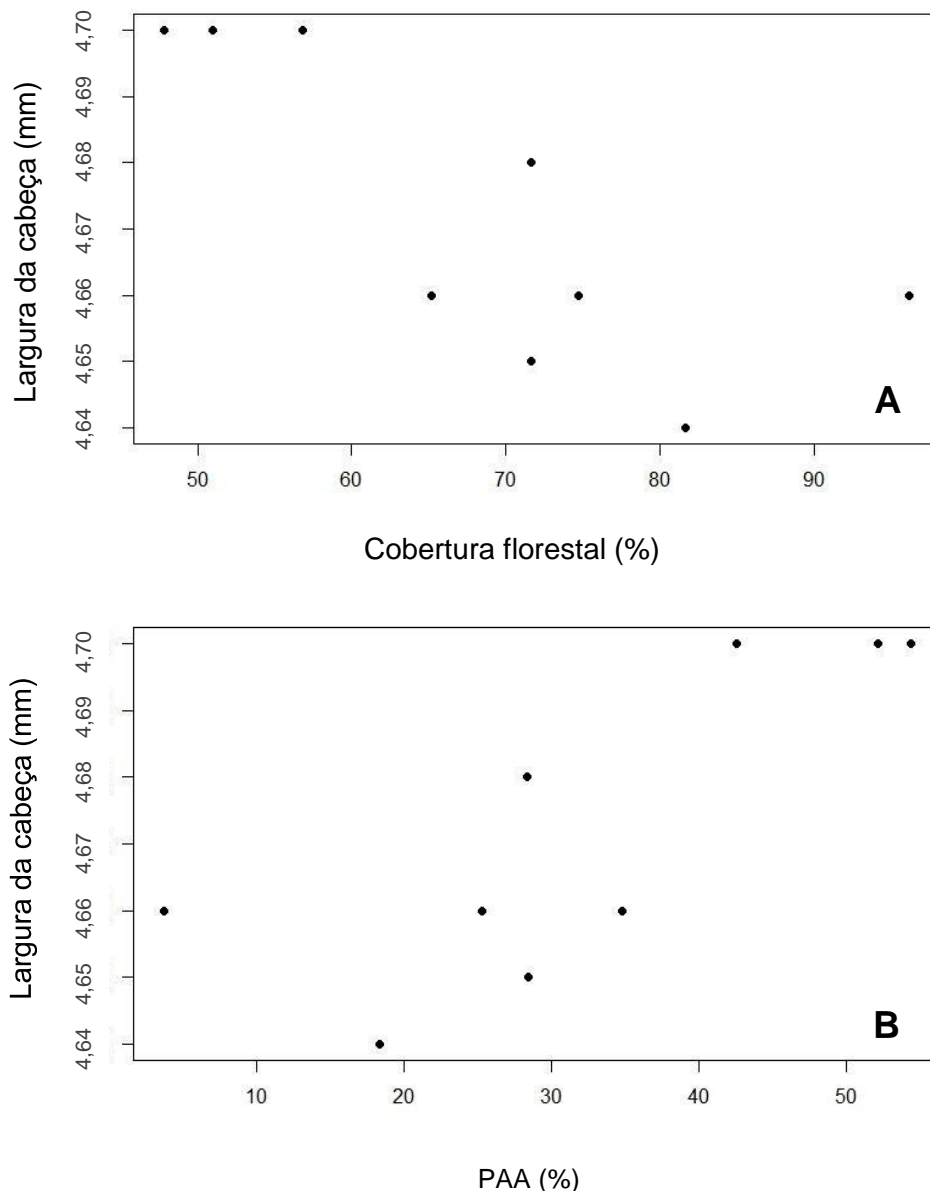
**Figura 5** – Variação das medidas de distância intertegmentar para os nove fragmentos (F1 a F9) estudados. Linhas em negrito indicam a mediana. Limites inferior e superior à mediana indicam o quartil inferior e superior. As hastes delimitam valores extremos. Valores fora dos limites estão representados individualmente (*outliers*).



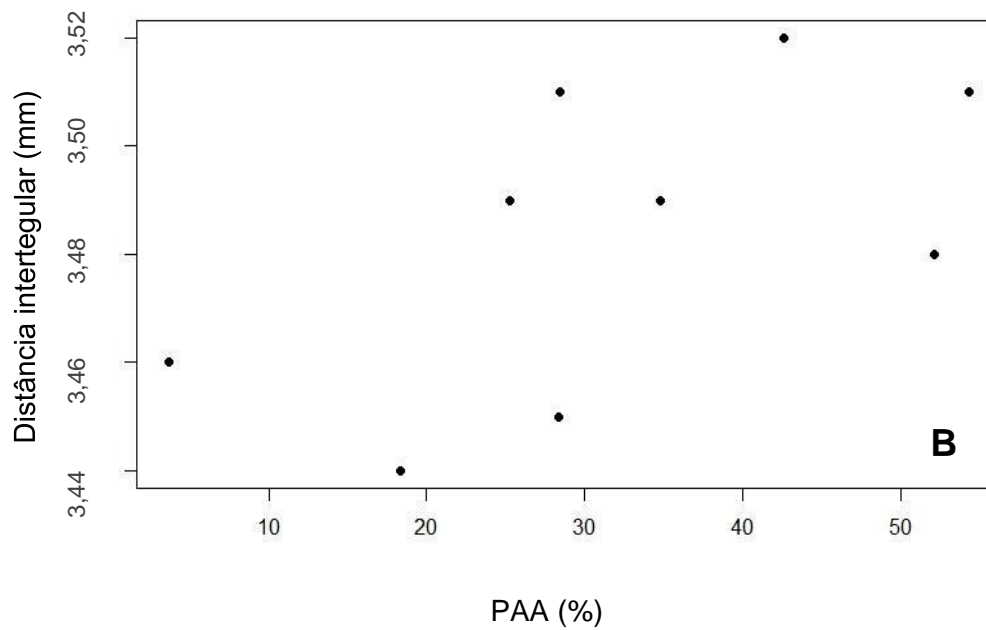
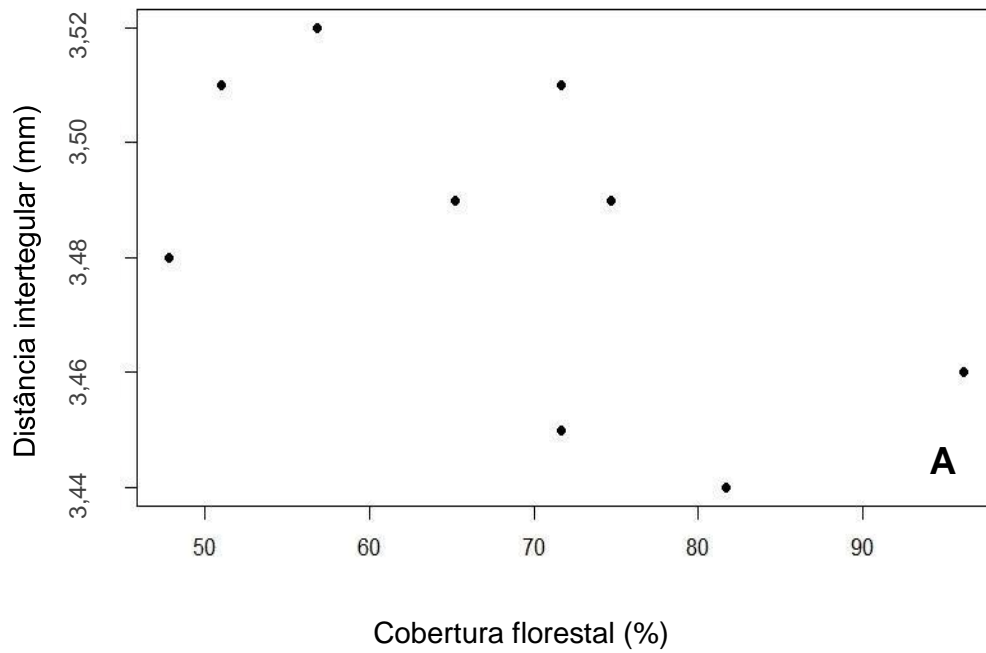
**Figura 6** – Variação das medidas de largura da cabeça para os nove fragmentos (F1 a F9) estudados. Linhas em negrito indicam a mediana. Limites inferior e superior à mediana indicam o quartil inferior e superior. As hastes delimitam valores extremos. Valores fora dos limites estão representados individualmente (*outliers*).



A regressão linear mostrou associação significativa entre as médias de LC e as variáveis de cobertura florestal ( $r^2=0,50$ ;  $p= 0,03$ ) e de percentual de ambientes antrópicos (PAA local) ( $r^2=0,53$ ;  $p= 0,02$ ) e marginalmente significativa entre DI e cobertura florestal local ( $r=0,39$ ;  $p=0,06$ ) e PAA local ( $r^2=0,40$ ;  $p= 0,06$ ) (Figuras 7 e 8). Em relação à cobertura florestal a relação foi inversa, quanto maior a cobertura florestal, menor o tamanho corporal das abelhas. Em relação ao PAA a associação foi direta, quanto maior o percentual de ambientes antrópicos, maior o tamanho corporal das abelhas.



**Figura 7** – Relação entre as médias de largura da cabeça de machos de *E. securigera* e as variáveis ambientais: **A** – Cobertura florestal e **B** – Percentual de Áreas Antrópicas (PAA) em nove fragmentos estudados na região da Zona da Mata-MG.



**Figura 8** – Relação entre as médias de distância intertegular de machos de *E. securigera* e as variáveis ambientais: **A** – Cobertura florestal (%) e **B** – Percentual de Áreas Antrópicas (PAA), nos nove fragmentos estudados na região da Zona da Mata-MG.

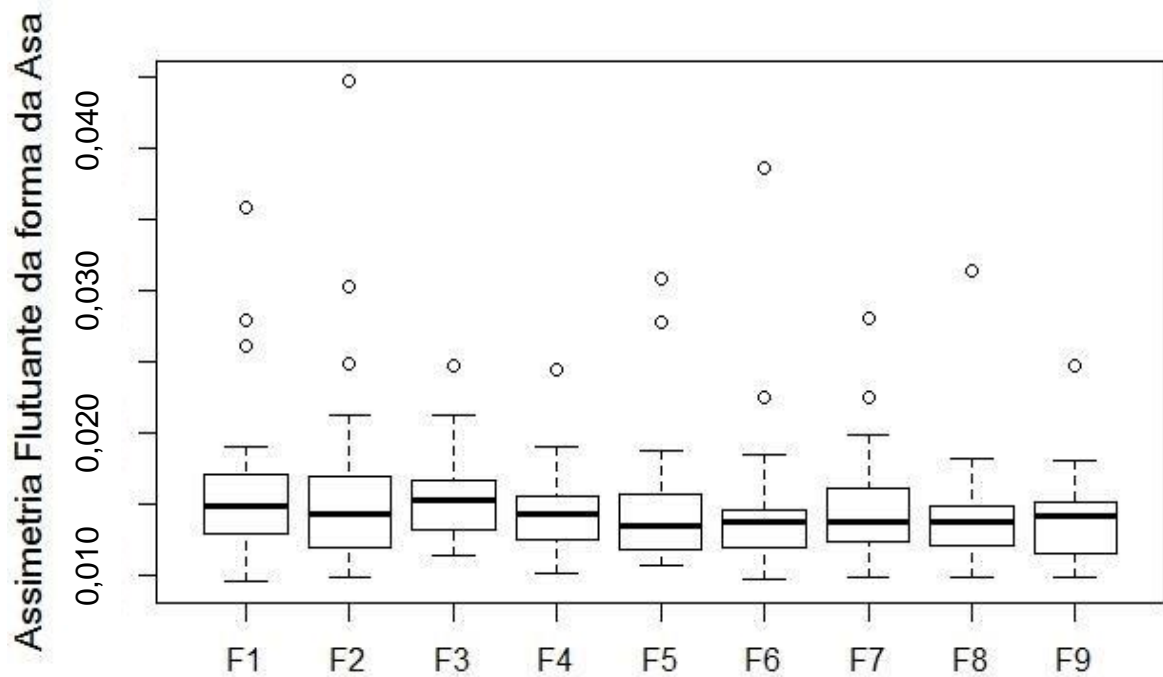
### 1.5.2- Morfometria geométrica

O resultado da ANOVA mostrou que a assimetria flutuante foi maior que o erro de medição através da análise das medidas repetidas das asas anteriores de *E. securigera*. A diferença entre lado direito e esquerdo pode ser considerada confiável, como indicado pela interação significativa entre lado x indivíduo (Tabela 3). Desse modo, foi possível seguir com todas as outras análises.

**Tabela 3** – Análise de Variância (ANOVA para dois fatores: Indivíduo e lado) relativo as medidas repetidas de *E. securigera* coletadas em nove fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual na região da Zona da Mata-MG.

Fatores	Tamanho do centroide da asa					Forma da asa				
	SQ	QM	g.l	F	p	SQ	QM	g.l	F	p
Indivíduo	10,851	0,109	99	12,17	<.0001	0,159	0,000	3168	7,39	<.0001
Lado	0,010	0,010	1	1,17	0,2827	0,001	0,000	32	7,33	<.0001
Indivíduo*Lado	0,891	0,009	99	7,93	<.0001	0,021	0,000	3168	2,55	<.0001
Resíduo	0,226	0,001	199			0,017	0,000	6368		

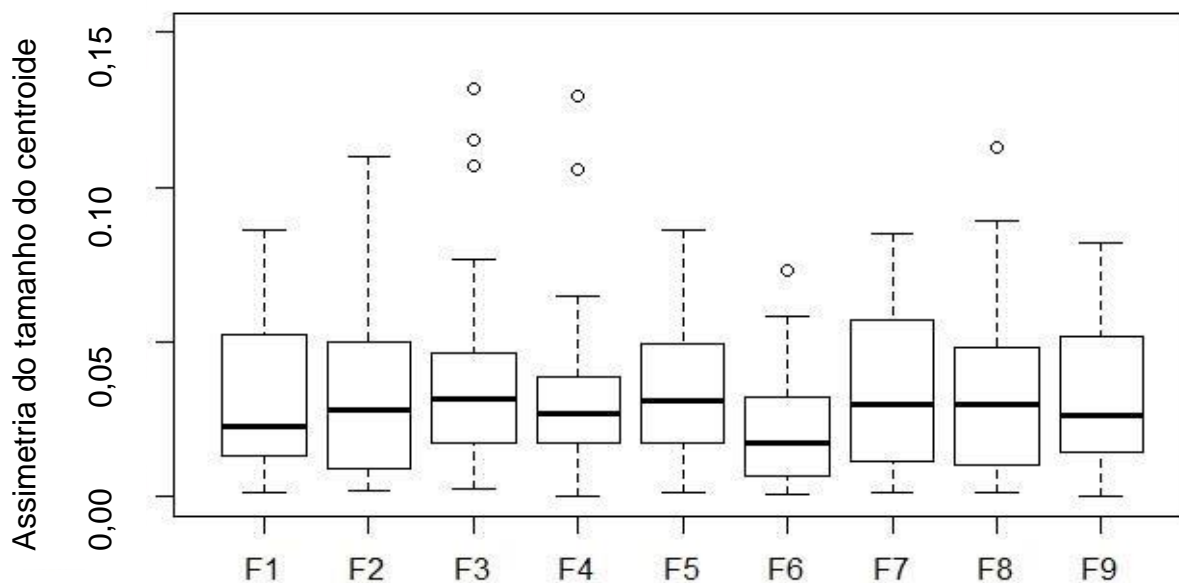
Embora tenham ocorrido algumas diferenças nos escores de AF da forma da asa, com a presença de alguns *outliers*, estas diferenças não foram significativas ( $F= 0,975$ ;  $p= 0,45$ ). Desse modo, embora a análise de erro de medição tenha detectado a presença de assimetria nas populações, não foi possível dizer que houve diferença na AF da forma da asa entre os fragmentos estudados (Figura 9).



**Figura 9** – Variação dos escores de assimetria flutuante para forma da asa entre cada um dos nove fragmentos estudados (F1 a F9) na região da Zona da Mata-MG.

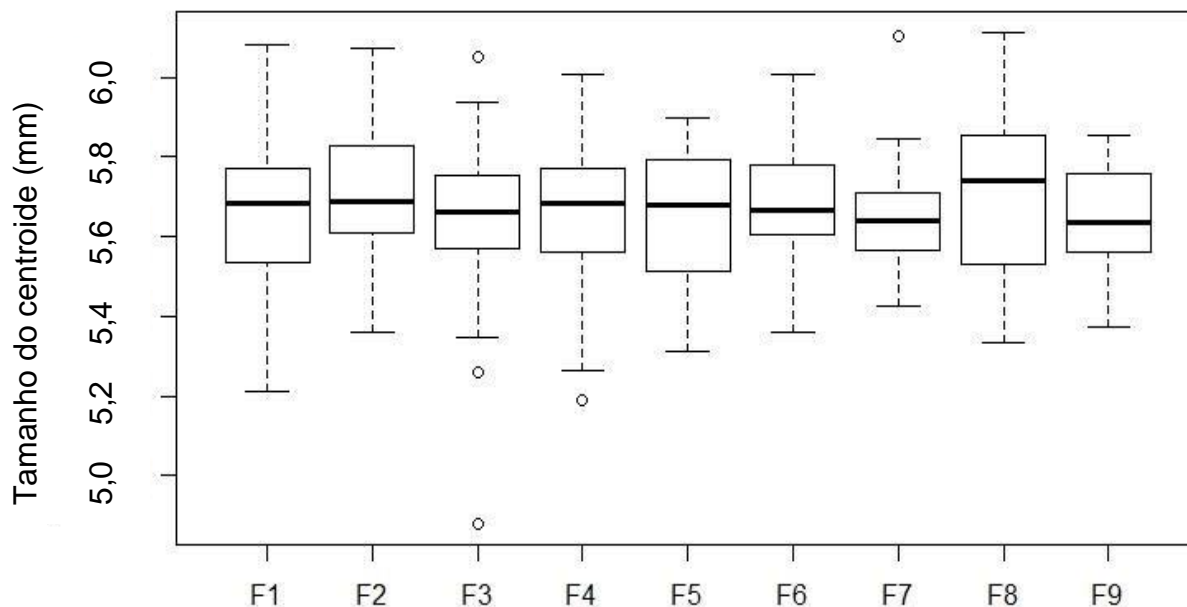
### 1.5.2.1- Assimetria no tamanho do centroide das asas

A AF encontrada para o tamanho do centroide apresentou padrão semelhante ao encontrado para a forma. Apesar da presença de alguns *outliers*, e de apresentar variabilidade, as diferenças de assimetria para o tamanho encontradas entre os fragmentos não foram significativas ( $F= 1,623$ ;  $p= 0,12$ ) (Figura 10).



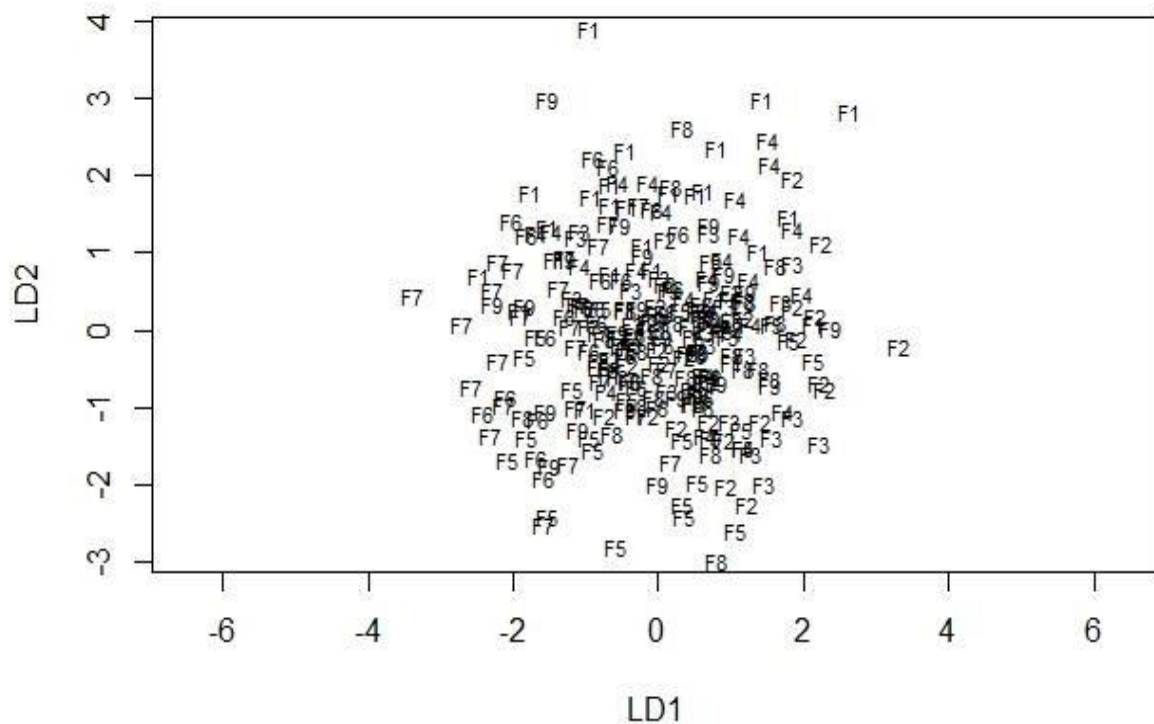
**Figura 10** – Variação dos escores de assimetria flutuante para o tamanho do centroide da asa entre cada um dos nove fragmentos (F1 a F9) estudados na região da Zona da Mata-MG.

O efeito na ANOVA para as diferenças no tamanho do centroide entre os fragmentos não foi significativo ( $F= 0,521$ ;  $p= 0,83$ ) (Figura 11).



**Figura 11** – ANOVA com as diferenças entre o tamanho do centroide para cada um dos nove fragmentos (F1 a F9) estudados na região da Zona da Mata-MG.

Através da análise discriminante é possível verificar que não há uma distinta variação de forma da asa entre os fragmentos (Figura 12). Desse modo, não é possível determinar a que fragmento o indivíduo pertence a partir da forma de suas asas. O gráfico representa um resumo com as duas dimensões que mais explicam a variabilidade, porém não de maneira total, portanto é interessante analisar também a matriz de confusão (Tabela 4). Na matriz de confusão é possível verificar a distribuição relativamente uniforme da forma das asas dos indivíduos de cada fragmento estudado. A classificação correta de cada forma em seu respectivo fragmento foi baixa, pois esperaria-se numa situação de distinção morfológica satisfatória que a matriz apresentasse números na diagonal bem mais altos.



**Figura 12** – Análise de função discriminante com a associação entre a forma de cada asa proveniente dos nove fragmentos estudados (F1 a F9).

**Tabela 4** – Matriz de confusão com a classificação das formas das asas de cada indivíduo de *E. securigera* coletado nos nove fragmentos (F1 a F9) de Floresta Estacional Semidecidual na região da Zona da Mata-MG. Destaque para os valores baixos de associação correta para as formas das asas de cada fragmento.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
F1	6	1	2	5	1	4	4	3	3
F2	1	9	6	6	2	1	1	1	3
F3	2	7	3	4	3	2	4	4	1
F4	5	5	5	3	3	2	0	2	4
F5	0	6	4	2	7	3	5	2	1
F6	4	1	1	2	4	3	7	6	2
F7	5	1	3	2	4	5	6	1	3
F8	1	6	2	3	3	3	3	4	5
F9	2	3	3	2	3	4	3	9	0

#### 1.5.2.2- Correlação entre variáveis morfométricas e variáveis ambientais

Um gráfico com as correlações entre as variáveis ambientais e os índices de assimetria de forma e assimetria de tamanho foi gerado e mostrou forte relação entre os índices de assimetria da forma das asas e as variáveis PAA da paisagem, conectividade, cobertura florestal da paisagem, e tamanho dos fragmentos. O padrão para a assimetria da forma da asa em relação à conectividade e cobertura florestal da paisagem foi diferente do que se esperaria. Os indivíduos com maiores valores de assimetria para a forma da asa foram encontrados nos fragmentos de maior conectividade e cobertura florestal. Conforme aumentou o PAA da paisagem, diminuiu a conectividade, cobertura florestal da paisagem, tamanho do fragmento e também os índices de assimetria da forma. A assimetria flutuante está indo em direção contrária ao PAA da paisagem. Para assimetria do tamanho a correlação foi alta apenas com a variável ambiental tamanho do fragmento, porém isso ocorreu devido à presença de um único grande fragmento que apresentou alto valor de assimetria para o tamanho do centroide (Figura 13).

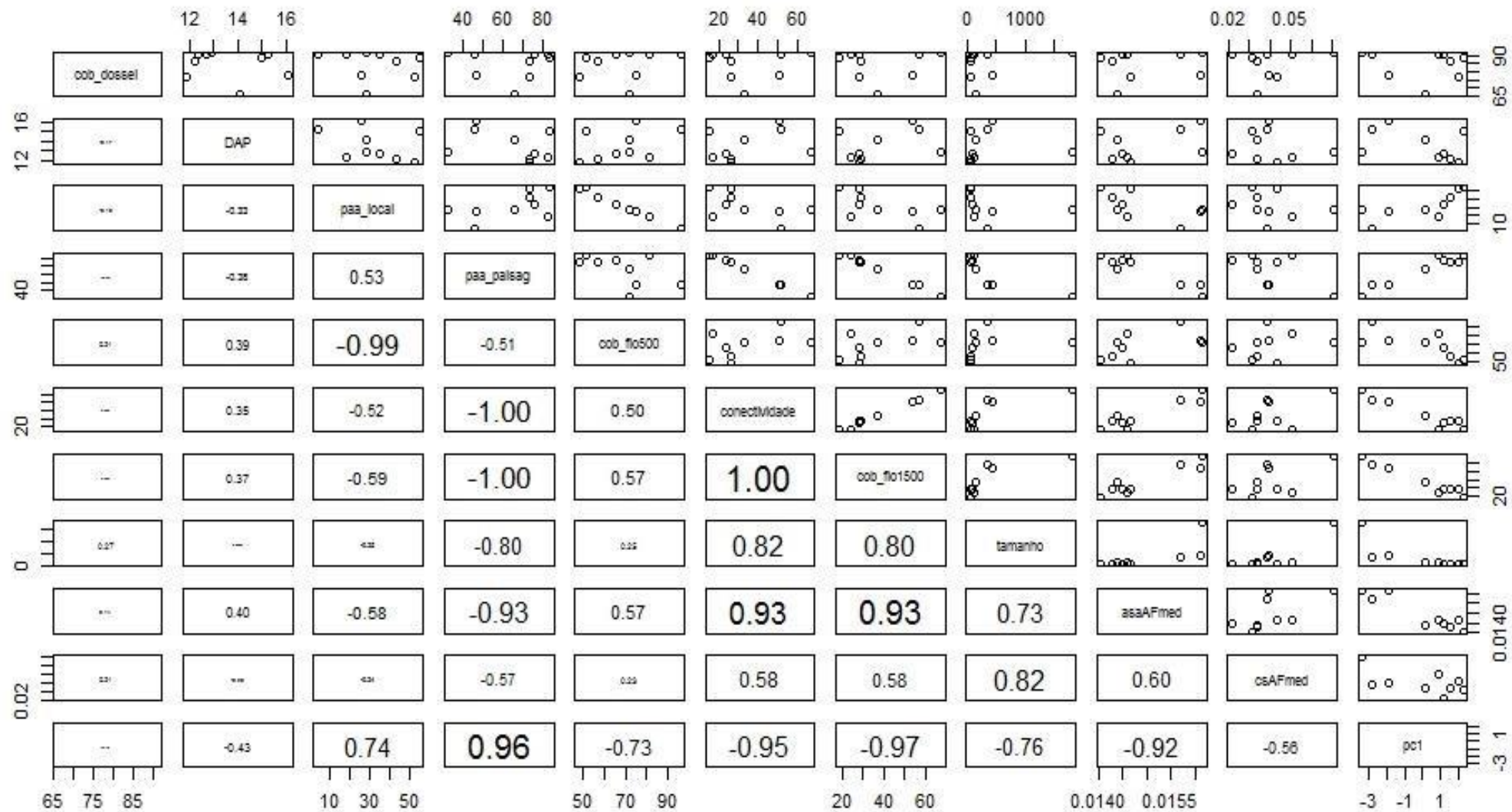
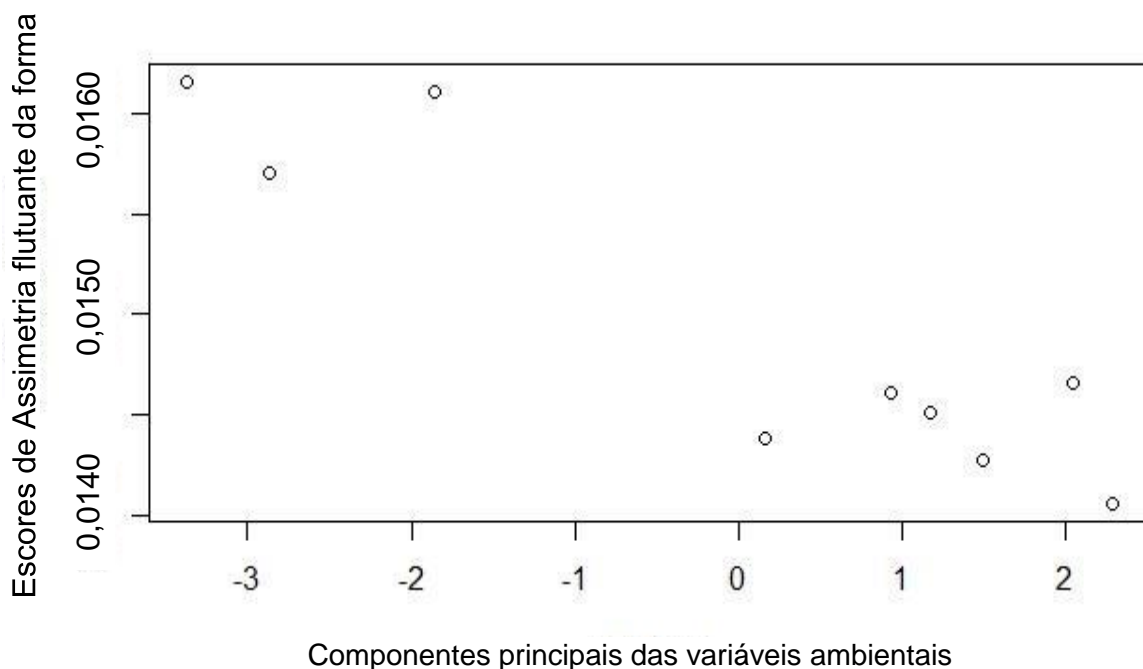


Figura 13- Representação das correlações entre os efeitos das variáveis ambientais e as variáveis morfométricas.



Foi realizada uma análise de regressão utilizando as variáveis ambientais PAA local, cobertura florestal da paisagem e conectividade e o primeiro PC usado como variável independente na regressão da AF da forma. Este resultado indicou a formação de dois grupos: um formado por fragmentos com maiores índices de AF da forma e um grupo com menores índices de assimetria. A relação encontrada foi estatisticamente significativa ( $F= 40,47$ ;  $p<0,001$ ) figura 14.



**Figura 14-** Análise de regressão com as variáveis ambientais (PAA local, cobertura florestal e conectividade) e o primeiro PC usado como variável independente na regressão dos nove fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual Submontana na região da Zona da Mata-MG.

## 1.6- DISCUSSÃO

O tamanho do corpo é uma variável importante em abelhas, na medida em que resulta da quantidade de alimento provisionado na célula de cria pela mãe e utilizado pela larva. Indivíduos de maior tamanho têm maior vantagem na dispersão em busca de alimento, áreas de nidificação ou parceiros (Peruquetti, 2003). A ausência de diferença significativa nas variáveis morfométricas lineares (e que refletem o tamanho do corpo) observada nos machos de *Euglossa securigera* dos fragmentos avaliados neste estudo indica que provavelmente a área de

forrageamento desta espécie pode ser maior do que o isolamento entre os fragmentos. Desse modo, indivíduos de fragmentos próximos podem ter sido atraídos pelos odores das armadilhas com iscas aromáticas. Algumas espécies da tribo Euglossini são capazes de voar longas distâncias em florestas contínuas (Dressler, 1968; Janzen, 1971). Esta capacidade de deslocamento de algumas espécies da tribo conduziu Janzen (1981) e Janzen *et al.* (1982) à hipótese de que machos de Euglossini atraídos por fragrâncias podem vir de outras áreas que podem incluir até mesmo diferentes habitats. Em estudos utilizando radiotelemetria, Wikelski *et al.*, (2010) encontraram machos de *Exaerete frontalis* utilizando diariamente grandes áreas de floresta (42 a 115 ha) e indivíduos a mais de 5km do local onde foram marcados. Em estudo realizado na Costa Rica utilizando sinais de marcação e raspagem e marcação química, Pokorny *et al.* (2015) encontraram distâncias ainda maiores. Machos de *Euglossa dillema* e *Euglossa viridissima* percorreram até 50km de distância em terrenos planos. Além disso, este mesmo estudo sugere que locais como vales, que separam cumes de montanhas, não consistiram em obstáculos ao trajeto destas abelhas.

Apesar da recorrente associação da tribo Euglossini com ambientes florestais (Roubik & Hanson, 2004), algumas espécies são capazes de se deslocar por grandes distâncias mesmo em matrizes. Tonhasca *et al.*, (2002) encontraram machos se dispersando em até 1,7 km entre fragmentos florestais com matrizes de pastagem em seus entornos. Através de métodos captura e recaptura foi relatada a presença de machos *Eulaema nigrita* a 16 km do fragmento florestal em que foram marcadas, sendo que na distância percorrida encontravam-se matrizes de pastagem e plantios de cana-de-açúcar. *Euglossa cordata* e *Eufriesea surinamensis* também foram recapturadas em distâncias de até 2 km do local onde foram marcadas (W.M, Aguiar, comunicação pessoal). Além disso, o fato de machos não estarem associados aos sítios de nidificação permite que estes se desloquem por extensões maiores do que as fêmeas, com distâncias que podem alcançar até 40 km em poucos dias (Williams e Dodson, 1972).

As análises de regressão entre as métricas lineares e as variáveis medidas para os fragmentos florestais mostraram um padrão inverso ao esperado. Conforme aumentaram os percentuais de cobertura florestal nos fragmentos florestais estudados, menores foram as médias de tamanho corporal das respectivas

populações de *E. securigera*, enquanto que machos de fragmentos com maior percentual de áreas antrópicas ao redor dos fragmentos (PAA local), tiveram as maiores médias de tamanho corporal. Estes padrões observados mostram que as populações de *E. securigera* apresentam machos de maior tamanho corporal nas áreas com piores condições ambientais.

Uma possível explicação para estes resultados é que, sob a influência de condições ambientalmente desfavoráveis (menor cobertura florestal e maior PAA local), o investimento em indivíduos de maior tamanho corporal seria contrabalanceado por tamanhos populacionais pequenos; isso levaria ao maior investimento individual, porém, com investimento em populações menores. Isso seria vantajoso em situações de escassez ou imprevisibilidade de recursos, na medida em que esses machos maiores poderiam ser capazes de voar maiores distâncias ou poderiam ter vantagem reprodutiva sobre outros. Neste sentido, é possível sugerir que as fêmeas de *E. securigera* estejam investindo em um menor número de células por ninho e com maior quantidade de recursos alimentares por célula. Analisando o anexo I deste estudo é possível notar que os fragmentos com menores populações de *E. securigera* foram os que apresentaram as maiores médias de tamanho corporal. Estudos mostram que abelhas de maior porte apresentam maior sucesso reprodutivo, o que seria relevante principalmente em populações menores, uma vez que estas podem estar mais propensas à extinção do que populações maiores (Peruquetti, 2003).

Assim, nestes locais onde o ambiente é considerado desfavorável (menor cobertura florestal e maior PAA) poderia estar ocorrendo um *trade-off* ou compensação energética entre tamanho corporal e densidade de indivíduos. A relação inversa obtida entre tamanho do corpo e condições do fragmento, aliada às estimativas de tamanho populacional de *E. securigera* nos fragmentos estudados, corroboram com a possível ocorrência deste *trade-off* (Apêndices I e II). Outros estudos com insetos mostraram relações similares entre tamanho corporal e densidade de indivíduos (*Musca domestica*: Lomônaco & Germanos, 2001; *Myrzus persicae*: Kanegae & Lomônaco, 2003).

Outra explicação para a relação inversa à esperada está na possível seleção para maior tamanho corporal em fragmentos em situações ambientalmente ruins. As pressões locais favoreceriam os indivíduos de maior porte corporal, com

capacidade de se deslocar a maiores distâncias, o que seria uma vantagem competitiva em situações desfavoráveis localmente. Warzecha *et al.*, (2016) estudando duas espécies de abelhas solitárias, encontraram resultados semelhantes ao do presente estudo. Neste trabalho os autores encontram o tamanho médio corporal aumentando com a fragmentação, sugerindo uma seleção intraespecífica para maior capacidade de dispersão nos fragmentos.

Os resultados obtidos avaliando a morfometria geométrica não mostraram diferenças significativas na assimetria do tamanho das asas (utilizando o tamanho do centroide) e assimetria da forma das asas entre os fragmentos. Esta ausência de diferença pode ser explicada pelo fato da distância entre os fragmentos de coleta não ter sido suficiente para isolar as áreas de forrageamento destes indivíduos, mesma explicação dada à ausência de diferença nas medidas lineares. As espécies de abelhas se distinguem em suas características bionômicas e por sua vez podem apresentar diferenças em suas respostas frente as condições de estresse ambiental (Cane, 2001). É possível que para *E. securigera* as distintas condições ambientais em macro-escala (cobertura florestal, conectividade, PAA, entre outras) abordadas neste estudo não tenham se constituído distúrbios suficientemente intensos para estes organismos. Dessa forma, os efeitos destas condições ambientais podem ter sido tamponados através de ajustes fisiológicos que garantem a estabilidade homeostática no desenvolvimento dentro da normalidade para estes indivíduos. Silva (2009), estudando a influência da antropização sobre duas espécies de Euglossini em fragmentos de mata atlântica não encontrou diferenças significativas nos níveis de AF em relação às diferenças ambientais.

Apesar de algumas espécies da tribo Euglossini conseguirem transpor barreiras formadas por matrizes entre fragmentos florestais (Raw, 1989; Tonhasca *et al.*, 2002; Silveira, 2014; Pokorny *et al.*, 2015), este fato não é uma realidade para todas as espécies. Devido à escassez de informações específicas sobre as limitações para a capacidade de deslocamento de *E. securigera*, é possível inferir nestes fragmentos mais isolados que estes indivíduos poderiam estar conseguindo tamponar estes efeitos.

A análise discriminante para a forma da asa indicou a ausência de distinção morfológica entre os fragmentos florestais estudados. Estes resultados enfatizam os resultados anteriores, mostrando que as populações estão se comportando de

maneira uniforme no que diz respeito às diferenças de AF. Desse modo, não é possível dizer a que fragmento determinado macho de *E. securigera* pertence a partir da forma da sua asa. Estes resultados mostram a necessidade de informações a respeito da bionomia de *E. securigera*, como informações da biologia de nidificação (descrição de ninhos, preferências de habitats, recursos utilizados, entre outros) e a influência de alterações ambientais sobre esses aspectos, a fim de entender as razões para a ausência de distinção espacial.

As condições ambientais diversas podem influenciar de formas distintas diferentes espécies, pois as respostas a estas condições dependem de outros fatores, como a capacidade para tolerar alterações ambientais (Calvillo *et al.*, 2010). Através da análise dos estudos existentes, *E. securigera* parece apresentar um caráter mais generalista, com ampla ocorrência em vários tipos de habitat: áreas abertas como Cerrado (Ferreira *et al.*, 2007), Amazônia (Storck-Tonon *et al.*, 2009) e Mata Atlântica (Peruquetti, 1999).

Aguiar e Gaglianone (2011) e Silveira (2014), estudando a comunidade de Euglossini em fragmentos de Mata Atlântica nos estados do Rio de Janeiro e sul de Minas Gerais, observaram que nenhuma das espécies amostradas em pequenos fragmentos foi exclusiva destas áreas. A composição de Euglossinia nos fragmentos estudados por aqueles autores foi formada em grande parte por espécies com ampla distribuição geográfica, e de hábitos generalistas, possivelmente incluindo *E. securigera*.

Os dados de correlação mostraram que as médias de AF da forma da asa aumentaram conforme aumentou a cobertura florestal e conectividade, enquanto que para o PAA a relação foi inversa, quanto maior o percentual de áreas antrópicas, menores foram as médias de AF da forma da asa. Conforme os resultados para morfometria linear, estes resultados foram inversos ao que se esperava. Porém, as médias entre os fragmentos não foram significativas, o que indica uma alta variabilidade, logo, pode ser que este seja um resultado mais aleatório do que um padrão real.

A análise de regressão entre as variáveis ambientais e AF da forma indicou a formação de dois grupos: Um grupo com maiores índices de AF da forma, menores valores de PAA e maiores de cobertura florestal e um grupo com menores índices de AF da forma, maiores valores de PAA e menores valores de cobertura florestal,

nitidamente ordenados em função das diferenças nas variáveis ambientais. Quando analisados no mapa, é possível notar que os fragmentos com os maiores valores de assimetria estão espacialmente próximos e representam os três maiores fragmentos estudados. Porém a presença de F4 (um fragmento consideravelmente menor) neste mesmo espaço e que está ordenado no grupo com menores assimetrias e com condições ambientais mais desfavoráveis (maior PAA e menor cobertura florestal mostra uma relação distinta.

Embora estes fragmentos tenham estruturas ambientais (local e paisagem) distintas, a diferença entre a AF foi pequena e não significativa, como apresentado através dos resultados de ANOVA. Os fatores ambientais em escala mais ampla, como as variáveis ambientais consideradas neste estudo, são importantes para caracterizar diferenças nas comunidades. Entretanto, é possível que outros fatores não mensurados neste estudo possam ter influenciado estes resultados, como fatores abióticos de temperatura e umidade do micro-habitat e bióticos, como composição florística.

## **1.7- CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Foi possível detectar a presença de assimetria flutuante na população de *E. securigera* em todos os fragmentos estudados, porém sem um padrão claro de diferenciação. É provável que esta seja uma espécie de hábito generalista, apresentando maior plasticidade fenotípica, com populações mais tolerantes às alterações ambientais. Um estudo envolvendo fatores microclimáticos e de micro-habitat poderiam elucidar os padrões encontrados nos fragmentos aparentemente melhor preservados e que apresentaram maiores índices de assimetria de forma. Além disso, estudos dos ninhos da espécie, bem como estudos mais específicos sobre sua capacidade de dispersão poderiam esclarecer tais padrões.

Uma sugestão final, com base nos resultados estatísticos da regressão aqui aplicada, seria avaliar maior número de fragmentos, eliminando a possibilidade de estar evidenciando um padrão espúrio.

Estudos como estes são importantes pois ampliam o conhecimento a respeito dos mecanismos que podem ou não produzir estresse nos organismos, causando assimetria flutuante significativa.

## 1.8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, W.M. (2011). *Estrutura das comunidades de abelhas Euglossina (Hymenoptera; Apidae) e variabilidade genética de Eulaema cingulata (Fab.) em fragmentos florestais no estado do Rio de Janeiro*. Tese de doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes – RJ. 146p.
- Aguiar, W. M., de Melo, G. A. R., & Gaglianone, M. C. (2014). Does Forest physiognomy affect the structure of orchid bee (Hymenoptera, Apidae, Euglossini) communities? A study in the Atlantic forest of Rio de Janeiro state, Brazil. *Sociobiology*, 61(1), 68-77.
- Aguiar, W. M., & Gaglianone, M. C. (2008). Comunidade de abelhas Euglossina (Hymenoptera: Apidae) em remanescentes de mata estacional semidecidual sobre tabuleiro no estado do Rio de Janeiro. *Neotropical Entomology*, 37(2), 118-125.
- Augusto, S. C., & Garófalo, C. A. (2009). Nesting biology and social structure of *Euglossa (Euglossa) townsendi* Cockerell (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). *Insectes Sociaux*, 51(4), 400-409.
- Anciães, M., & Marini, M. A. (2000). The effects of fragmentation on fluctuating asymmetry in passerine birds of Brazilian tropical forests. *Journal of Applied Ecology*, 37(6), 1013-1028.
- Altieri, M. A., Letourneau, D. K., & Risch, S. J. (1984). Vegetation diversity and insect pest outbreaks. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2(2), 131-169.
- Cane, J. H. (1987). Estimation of bee size using intertegular span (Apoidea). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 145-147.
- Cane, J. (2001). Habitat fragmentation and native bees: a premature verdict? *Conservation Ecology*, 5(1).



- Clarke, G. M. (1993). Fluctuating asymmetry of invertebrate populations as a biological indicator of environmental quality. *Environmental Pollution*, 82(2), 207-211.
- Calvillo, L. M., Ramírez, V. M., Parra-Tabla, V., & Navarro, J. (2010). Bee diversity in a fragmented landscape of the Mexican neotropic. *Journal of Insect Conservation*, 14(4), 323-334.
- Daly, H. V. (1985). Insect morphometrics. *Annual Review of Entomology*, 30(1), 415-438.
- Dressler, R. L. (1968). Pollination by euglossine bees. *Evolution*, 22(1), 202-210.
- Dressler, R. L. (1982). Biology of the orchid bees (Euglossini). *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13(1), 373-394.
- Ferreira, P. E., Freitas, R. F., & Augusto, S. C. (2007). Diversidade de Euglossini (Hymenoptera: Apidae) em áreas de cerrado do triângulo mineiro, MG. *Bioscience Journal*, 23.
- Fornel, R. (2005). *Estudo da variação morfológica craniana entre quatro blocos populacionais de Ctenomys lami (Rodentia, Ctenomyidae) através de morfometria geométrica*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS. 78p.
- Freitas, S.R.; Cerqueira, R. & Vieira, M.V. (2002). A device and standard variables to describe microhabitat structure of small mammals based on plant cover. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4B), 795-800.
- Freitas & J.O.P Pereira (Eds.). Solitary bees. Conservation, rearing and management for pollination. Imprensa Universitária, Fortaleza. *Zootaxa* 2041, 1–242.
- Graham, J.H.; Raz, S.; Hel-Or, H., & Nevo, E. (2010). Fluctuating asymmetry: methods, theory, and applications. *Symmetry*, 2(2), 466-540.
- Groenendijk, D.; Zeinstra, L.W. & Postma, J.F. (1998). Fluctuating asymmetry and mentum gaps in populations of the midge *Chironomus riparius* (diptera:

Chironomidae) from a metal-contaminated river. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(10), 1999-2005.

Hódar, J.A. (2002). Leaf fluctuating asymmetry of Holm oak in response to drought under contrasting climatic conditions. *Journal of Arid Environments*, 52(2), 233-243.

Janzen, D.H. (1971). Euglossine bees as long-distance pollinators of tropical plants. *Science*, 171(3967), 203-205.

Janzen, D. H. (1981). Bee arrival at two Costa Rican female *Catasetum* orchid inflorescences, and a hypothesis on euglossine population structure. *Oikos*, 177183.

Janzen, D. H., DeVries, P. J., Higgins, M. L., & Kimsey, L. S. (1982). Seasonal and site variation in Costa Rican euglossine bees at chemical baits in lowland deciduous and evergreen forests. *Ecology*, 63(1), 66-74.

Kanegae, A. P., & Lomônaco, C. (2003). Plasticidade morfológica, reprodutiva e assimetria flutuante de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) sob diferentes temperaturas. *Neotrop. Entomol*, 32(1), 37-43.

Klingenberg, C. P., & McIntyre, G. S. (1998). Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution*, 52(5), 1363-1375.

Klingenberg, C.P.; Badyaev, A.V.; Sowry, S.M. & Beckwith, N.J. (2001). Inferring developmental modularity from morphological integration: analysis of individual variation and asymmetry in bumblebee wings. *The American Naturalist*, 157(1), 11-23.

Klingenberg, C.P. & Monteiro, L.R. (2005). Distances and directions in multidimensional shape spaces: implications for morphometric applications. *Systematic Biology*, 54(4), 678-688.

Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources*, 11(2), 353-357.

- Lens, L.; van Dongen, S.; Wilder, C.M.; Brooks, T.M. & Matthysen, E. (1999). Fluctuating asymmetry increases with habitat disturbance in seven bird species of a fragmented afro-tropical forest. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 266(1425), 1241-1246.
- Lens, L.; Van Dongen, S. & Matthysen, E. (2002). Fluctuating asymmetry as an early warning system in the critically endangered Taita thrush. *Conservation Biology*, 16(2), 479-487.
- Leary, R.F. & Allendorf, F.W. (1989). Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 4(7), 214-217.
- Lomônaco, C., & Germanos, E. (2001). Variações fenotípicas em *Musca domestica* L.(Diptera: Muscidae) em resposta à competição larval por alimento. *Neotropical Entomology*, 30(2), 223-231.
- Marcus, L. F., & Corti, M. (1996). Overview of the new, or geometric morphometrics. *In Advances in morphometrics* (pp. 1-13). Springer, Boston, MA.
- Markow, T.A. (1995). Evolutionary ecology and developmental instability. *Annual Review of Entomology*, 40(1), 105-120.
- Michener, C. D. (2000). *The bees of the world* (Vol. 1). JHU press.
- Monteiro, L.R. & Reis, S.F. (1999). *Princípios de Morfometria Geométrica*. Holos Editora, Ribeirão Preto, Brasil. 189p.
- Møller, A.P. & Swaddle, J.P. (1997). Asymmetry, developmental stability and evolution. *Oxford University Press*, UK.
- Nemésio, A., & Silveira, F. A. (2007). Diversity and distribution of orchid bees (Hymenoptera: Apidae) with a revised checklist of species. *Neotropical Entomology*, 36(6), 874-888.
- Nemésio A. (2009). Orchid bees (Hymenoptera: Apidae) of the Brazilian Atlantic Forest. *Zootaxa*, 2041(1), 1–242.

- Nunes, L.A.; Araújo, E.D.D. & Marchini, L.C. (2015). Fluctuating asymmetry in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) as bioindicator of anthropogenic environments. *Revista de Biología Tropical*, 63(3), 673-682.
- Palmer, A. R. (1994). Fluctuating asymmetry analyses: a primer. In *Developmental instability: its origins and evolutionary implications* (pp. 335-364). Springer, Dordrecht.
- Palmer, A. R., & Strobeck, C. (1986). Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual review of Ecology and Systematics*, 17(1), 391-421.
- Palmer, A. R., & Strobeck, C. (2003). CH 17. Fluctuating asymmetry analyses revisited. *Developmental Instability: Causes and Consequences*, Oxford University Press, Oxford, 279-319.
- Parsons, P.A. (1992). Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. *Heredity*, 68(4), 361-364.
- Pech, M. C., May-Itzá, W. D. J., Medina, L. M., & Quezada-Euán, J. J. G. (2008). Sociality in *Euglossa* (*Euglossa*) *viridissima* Friese (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). *Insectes sociaux*, 55(4), 428-433.
- Peres-Neto, P. (1995). Introdução a análises morfométricas. *Oecologia Brasiliensis*, 2(1), 3.
- Peruquetti, R.C.; Campos, L.D.O.; Coelho, C.P.; Abrantes, C.M. & Lisboa, L.D.O. (1999). Abelhas Euglossini (Apidae) de áreas de Mata Atlântica: abundância, riqueza e aspectos biológicos. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16(Supl 2), 101-118.
- Peruquetti, R. C. (2003). Variação do tamanho corporal de machos de *Eulaema nigrita* Lepelletier (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). Resposta materna à flutuação de recursos? *Revista Brasileira de Zoologia*, 20(2), 207.
- Pokorny, T., Loose, D., Dyker, G., Quezada-Euán, J. J. G., & Eltz, T. (2015). Dispersal ability of male orchid bees and direct evidence for long-range flights. *Apidologie*, 46(2), 224-237.

- Ramalho, A.V., Gaglianone, M.C. & Oliveira, M.L.D. (2009). Comunidades de abelhas Euglossina (Hymenoptera, Apidae) em fragmentos de Mata Atlântica no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 53(1): 95-101.
- Ramírez, S., Dressler, R. L., & Ospina, M. (2002). Orchid bees (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) from the Neotropical Region: A species checklist with notes on their biology. *Biota Colombiana*, 3, 7-118.
- Raw, A. (1989). The dispersal of euglossine bees between isolated patches of eastern Brazilian wet forest (Hymenoptera: Apidae). *Revista Brasileira Entomologia*, 33(1), 103-107.
- Rohlf, F.J. (1998). On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. *Systematic Biology*, 47(1): 147-158.
- Rohlf, F. J., & Marcus, L. F. (1993). A revolution morphometrics. *Trends in Ecology & Evolution*, 8(4), 129-132.
- Roubik, D. W. (2004). Long-term studies of solitary bees: what the orchid bees are telling us. *Solitary bees*, 97-103.
- Roubik, D. W., & Hanson, P. E. (2004). Orchid bees of tropical America: biology and field guide. *Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), Heredia, Costa Rica*.
- Roulston, T. A. H., & Cane, J. H. (2000). The effect of diet breadth and nesting ecology on body size variation in bees (Apiformes). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 129-142.
- Sanseverino, A. M., & Nessimian, J. L. (2008). Assimetria flutuante em organismos aquáticos e sua aplicação para avaliação de impactos ambientais. *Oecologia Brasiliensis*, 12(3), 4.
- Silva, M. C., Lomônaco, C., Augusto, S. C., & Kerr, W. E. (2009). Climatic and anthropic influence on size and fluctuating asymmetry of Euglossine bees

(Hymenoptera, Apidae) in a semideciduous seasonal forest reserve. *Genetics and Molecular Research*, 8(2), 730-737.

Silveira, F. A., Melo, G. A., & Almeida, E. A. (2002). *Abelhas brasileiras: sistemática e identificação*.

Silveira, G. C. (2014). *Estrutura de comunidades de abelhas da subtribo Euglossina (Hymenoptera; Apidae) e análise da distribuição em Florestas Estacionais Semideciduais e em paisagens fragmentadas no sudeste do Brasil*. Tese de doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense. 117 p.

Soucy, S. L., & Giray, T. (2003). Solitary and group nesting in the orchid bee *Euglossa hyacinthina* (Hymenoptera, Apidae). *Insectes Sociaux*, 50(3), 248-255.

Storck-Tonon, D., Morato, E. F., & Oliveira, M. L. (2009). Fauna de Euglossina (Hymenoptera: Apidae) da Amazônia Sul-Ocidental, Acre, Brasil. *Acta Amazonica*, 39(3), 693-706.

Tonhasca Jr, A., Blackmer, J. L., & Albuquerque, G. S. (2002). Abundance and diversity of euglossine bees in the fragmented landscape of the Brazilian Atlantic Forest. *Biotropica*, 34(3), 416-422.

Van Valen, L. (1962). A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*, 125-142.

Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2013). *Modern applied statistics with S-PLUS*. Springer Science & Business Media.

Waddington, C. H. (2017). *The principles of embryology*. Routledge.

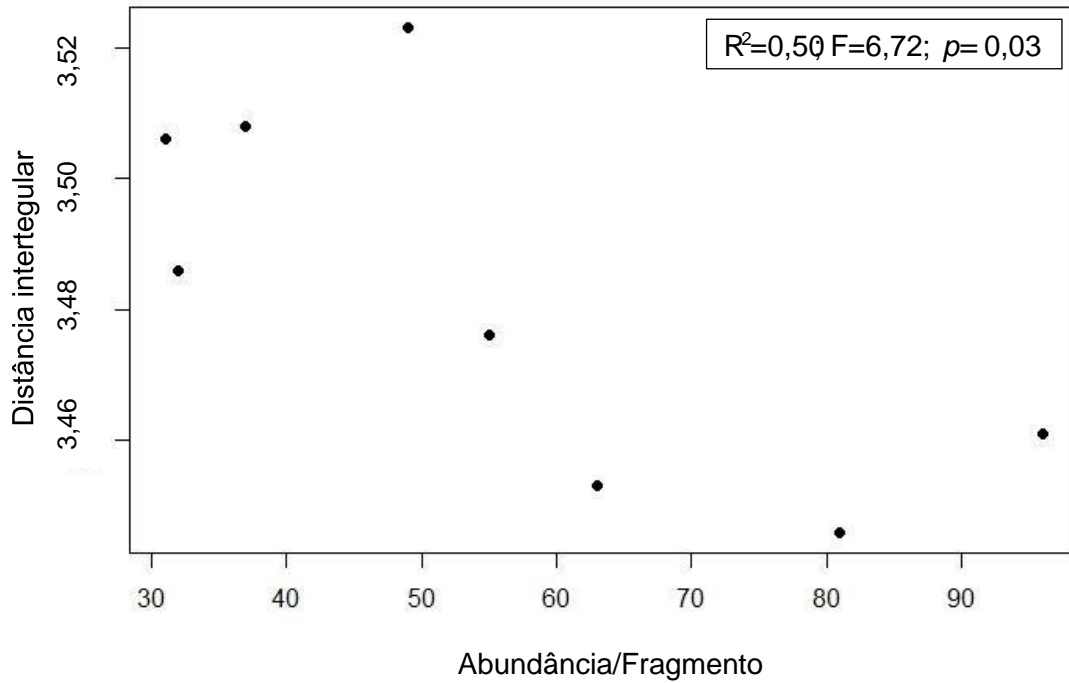
Warzecha, D., Diekötter, T., Wolters, V., & Jauker, F. (2016). Intraspecific body size increases with habitat fragmentation in wild bee pollinators. *Landscape ecology*, 31(7), 1449-1455.

- Weller, B., & Ganzhorn, J. U. (2004). Carabid beetle community composition, body size, and fluctuating asymmetry along an urban-rural gradient. *Basic and Applied Ecology*, 5(2), 193-201.
- Williams, N. H., & Dodson, C. H. (1972). Selective attraction of male euglossine bees to orchid floral fragrances and its importance in long distance pollen flow. *Evolution*, 26(1), 84-95.
- Wikelski, M., Moxley, J., Eaton-Mordas, A., Lopez-Uribe, M. M., Holland, R., Moskowitz, D., ... & Kays, R. (2010). Large-range movements of neotropical orchid bees observed via radio telemetry. *PLoS one*, 5(5), e10738.

## **APÊNDICES**



**Apêndice I** – Relação entre o tamanho corporal (distância intertegular) e abundância de *E. securigera* em cada um dos nove fragmentos estudados



**Apêndice II** – Relação entre o tamanho corporal de *E. securigera* (distância intertegular) e percentual de áreas antrópicas (PAA) dos nove fragmentos estudados.

