

Universidade Federal do Piauí

**Diversidade populacional e assimetria flutuante de *Melipona subnitida* Ducke
(Hymenoptera, Apinae) em regiões semiáridas e costeiras do Nordeste do
Brasil**

Vanessa Gomes de Moura

**Dissertação apresentada à Universidade
Federal do Piauí como parte das exigências
do Programa de Pós-Graduação em Genética
e Melhoramento para obtenção do título de
“Mestre” em Genética e Melhoramento.**

**TERESINA
2020**

Vanessa Gomes de Moura
Licenciada em Ciências Biológicas

Diversidade populacional e assimetria flutuante de *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera, Apinae) em regiões semiáridas e costeiras do Nordeste do Brasil

Orientador:
Prof. Dr. Fábio Barros Britto

Coorientadora:
Dra. Fábila de Mello Pereira

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento para obtenção do título de “Mestre” em Genética e Melhoramento.

TERESINA
2020

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Serviço de Processamento Técnico

M929d Moura, Vanessa Gomes de.

Diversidade populacional e assimetria flutuante de *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera, Apinae) em regiões semiáridas e costeiras do Nordeste do Brasil. / Vanessa Gomes de Moura. – 2020.

90 p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Teresina, 2020.

Orientação: “Prof. Dr. Fábio Barros Britto”.

1. Abelha-sem-ferrão. 2. Jandaíra. 3. Morfometria geométrica. 4. Caatinga. 5. Delta do Parnaíba. Título I.

CDD 638.1

Diversidade populacional e assimetria flutuante de *Melipona subnitida* Ducke
(Hymenoptera, Apinae) em regiões semiáridas e costeiras do Nordeste do
Brasil

Licenciada em Ciências Biológicas

Aprovada em 19/03/20200

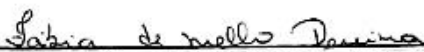
Comissão Julgadora:



Dr. Bruno de Almeida Sousa - Embrapa Meio-Norte



Profa. Dra. Lorena Andrade Nunes - UESB



Dra. Fábica de Mello Pereira - Embrapa Meio-Norte



Prof. Dr. Fábio Barros Britto - CCN/UFPI
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter proporcionado a conclusão desta etapa muito importante da minha vida. Sem o Senhor nada disso seria possível.

À Universidade Federal do Piauí por todo o apoio acadêmico, incentivo e investimento.

À CAPES pelo fornecimento da bolsa de estudos que foi muito importante para o meu desempenho no mestrado.

Aos meus pais, Deuzinha e Alberto, quem tanto amo, por serem exemplos de vida, por sempre me apoiarem e confiarem em mim. Eu faço tudo por vocês e para vocês.

Aos meus irmãos, Andressa, Samuel e Paulo Alberto, por todo o incentivo, esperança e por me propiciarem os momentos de descontração. Vocês tornaram tudo mais leve.

Ao meu namorado, Eduardo Araújo, pelo companheirismo, compreensão, dedicação e por me ajudar a enfrentar todas as dificuldades. Obrigada por sempre acreditar em mim.

Ao meu orientador, Dr. Fábio Barros Britto, pelo acolhimento, amizade, incentivo, dedicação e empenho para eu me tornar uma profissional melhor. Você é um grande exemplo para mim. Quando eu crescer quero ser igual a você.

A minha orientadora, Dra. Fábria de Mello Pereira, por transmitir tanta paz e tranquilidade durante essa jornada. Muito obrigada por ter me dado a oportunidade de desenvolver a pesquisa na EMBRAPA Meio-Norte. Você é maravilhosa.

Aos queridos professores da pós-graduação, em especial, Dr. Leonardo Castelo Branco Carvalho, Dr. Raimundo Nonato Oliveira Silva e Dr. Paulo Sarmanho da Costa Lima, pelo carinho, acolhimento e incentivo. Vocês são incríveis.

Ao coordenador do PPGM, professor Dr. José Evando Aguiar Beserra Júnior, pelo apoio e solicitude.

Ao secretário mais querido, César, por todo o empenho e por me ajudar nas burocracias do PPGM. Você é muito especial para todos os alunos do PPGM.

À Dra. Lorena Andrade Nunes, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, pela solicitude, paciência e por ter me ajudado na fase final da dissertação. Você foi essencial para este estudo. Muito obrigada!

Aos meus amigos da turma 2018-2020 do PPGM, em especial, Cleidiane Macêdo, Regina Silva, João Gabriel, Kelvin Teixeira, Breno Almeida e Aryanny Paula, por terem me ajudado a seguir em frente e mostrarem que a união é o principal componente para o sucesso. Vocês são incríveis. Obrigada pelos momentos de descontração e os churrascos aos finais de semana.

A todos que compõem o Núcleo de Estudos em Genética e Melhoramento (GEM) pela experiência e os momentos de aprendizado. Fazer parte da administração do GEM foi uma oportunidade que acrescentou muito no meu desenvolvimento profissional. Tenho certeza que a nossa gestão contribuiu para o crescimento do PPGM.

À EMBRAPA Meio-Norte, pelo acolhimento e pela oportunidade de passar mais um ano usando suas dependências.

Aos pesquisadores da EMBRAPA Meio-Norte, Dra. Maria Teresa do Rêgo Lopes e Dr. Bruno de Almeida Souza, que sempre me ajudaram no que foi preciso. Vocês contribuíram para a realização desse sonho.

Aos meus amigos do laboratório de Biologia Molecular, em especial, Joaquim e Leonardo, pelos ensinamentos e trocas de experiências. Vocês são brilhantes.

Aos grandes amigos que a EMBRAPA me deu, seu Francisco e seu Zé Maria, pelo carinho, confiança, generosidade e solicitude. Com certeza vocês tornaram tudo mais leve. Guardo vocês no coração.

À grande amiga, Dra. Aline Barbosa Negreiros, pelo exemplo de profissional, incentivo e carinho. Você é maravilhosa.

Ao querido amigo, Dr. Geice Ribeiro da Silva, pelo grande exemplo de superação, por acreditar em mim e por me ajudar nas horas mais difíceis. Você é uma pessoa muito iluminada e merece toda a felicidade do mundo.

Às grandes amigas, Ana Regina, Itana, Raiane, Verbena e Rosângela, por sempre me incentivarem a seguir em frente e, mesmo diante das dificuldades, não deixaram eu desistir. Vocês são muito importantes na minha vida.

Aos meus queridos orientadores da graduação em Biologia, Me. Jurecir da Silva e Dr. José Williams Gomes de Oliveira Filho, por sempre lembrarem de mim, acreditarem no meu potencial e se preocuparem com a minha passagem pelo mestrado. Muito obrigada por torcerem pelo meu sucesso.

A minha querida professora da graduação, Dra. Marlúcia da Silva Bezerra Lacerda, por confiar em mim e me fazer acreditar que posso realizar todos os meus sonhos. Você é uma das professoras mais especiais que o IFPI me deu.

Aos meliponicultores que forneceram as colônias de jandaíra, tornando possível esse lindo trabalho. Deixo aqui o meu muito obrigada.

Aos meus bebês de quatro patas, Spike e Sofia, pelo amor, carinho e diversão. Vocês são as pessoinhas mais queridas da minha vida.

E por fim, a todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização desse trabalho. Meus sinceros agradecimentos.

Minha Fulô

*Minha fulô
Ai que saudade
Ai, ai que dor
Ai, ai, ai, minha fulô*

*As fulô do meu sertão
São bonita e são cheirosa
O pau d' arco e o pau perêro
Faz inveja a qualquer rosa
Canafista e muçambê
Eu nem sei qual mais formosa*

*É por isso
Que as abêia
Mandaçáia e jandaíra
Sanharó e uruçú
Faz um mel que admira
Vendo as abêia
Bebê mel beijando as frô
Só rescordo o favo doce
Dos beijos do meu amor*

(Luiz Gonzaga & Zé Dantas, 1954)

SUMÁRIO

RESUMO.....	08
ABSTRACT.....	09
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Caracterização da <i>Melipona subnitida</i> Ducke.....	19
2.2 <i>Melipona subnitida</i> na Caatinga.....	21
2.3 <i>Melipona subnitida</i> na Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba.....	22
2.4 Morfometria geométrica e assimetria flutuante.....	25
Referências.....	29
CAPÍTULO 1	
DIVERSIDADE MORFOGEOMÉTRICA DE POPULAÇÕES DE <i>Melipona subnitida</i> DUCKE DISTRIBUÍDAS EM ÁREAS SEMIÁRIDAS E LITORÂNEAS DO NORDESTE DO BRASIL.....	36
Resumo.....	36
Introdução.....	37
Material e Métodos.....	39
Amostragem.....	39
Caracterização das áreas amostradas.....	40
Morfometria geométrica das asas.....	41

Resultados.....	42
Discussão.....	47
Conclusões.....	49
Agradecimentos.....	49
Referências.....	49
Material suplementar.....	54
CAPÍTULO 2	
ASSIMETRIA FLUTUANTE EM <i>Melipona subnitida</i> DUCKE EVIDENCIADA EM ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL.....	58
Resumo.....	58
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	62
Amostragem.....	62
Morfometria geométrica das asas.....	63
Resultados.....	64
Discussão.....	66
Conclusões.....	72
Agradecimentos.....	72
Contribuição dos autores.....	72
Referências.....	72
ANEXOS.....	77

RESUMO

MOURA, V. G. **Diversidade populacional e assimetria flutuante de *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera, Apinae) em regiões semiáridas e costeiras do Nordeste do Brasil**. 2020. 90p. Dissertação (Mestrado/Genética e Melhoramento) – UFPI, Teresina, 2020.

A abelha-sem-ferrão *Melipona subnitida*, conhecida como jandaíra, é típica da Caatinga e muito utilizada na meliponicultura da região Nordeste. Mesmo estando adaptada às condições da Caatinga, existem vários registros desta espécie em regiões litorâneas, como a Área de Proteção Ambiental (APA) do Delta do Parnaíba, onde há poucos estudos sobre a sua diversidade. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi caracterizar a diversidade populacional e assimetria flutuante de *Melipona subnitida* em regiões semiáridas e costeiras do Nordeste do Brasil, incluindo a APA do Delta do Parnaíba. Para isso, foi utilizada a morfometria geométrica das asas, sendo realizada a análise de variáveis canônicas (AVC), teste de validação cruzada, análise de variância para tamanho do centroide, análise discriminante de componentes principais (ADCP), método hierárquico de ligação média entre grupos (UPGMA), teste de Mantel e análise de variância de Procrustes. A morfometria geométrica evidenciou grande diversidade dentro e entre as populações; as distâncias quadradas de Mahalanobis e as distâncias de Procrustes confirmaram as diferenças morfométricas ($p < 0,05$). A AVC mostrou que as populações de Araiões e principalmente de João Pessoa são as mais distantes das demais. O teste de validação cruzada indicou que 69,7% dos indivíduos foram classificados de forma correta dentro de cada grupo. A análise de agrupamento UPGMA mostrou três grandes grupos, um formado pela população de João Pessoa, outro pelas populações de Granja e Mossoró e outro pelas demais populações. Algumas populações próximas geograficamente não fazem parte do mesmo grupo, o que pode estar relacionado às tipificações climáticas das localidades. A ADCP indica maior diversidade morfométrica na população de Araiões e menor diversidade nas populações de Granja e João Pessoa. Pelo teste de Mantel, foi identificada a correlação significativa ($p < 0,01$) entre forma da asa \times pluviosidade média anual forma da asa \times bioma predominante, nenhuma correlação foi observada para o tamanho. Verificou-se também assimetria flutuante nas duas populações do Delta do Parnaíba, sendo que os indivíduos de Cajueiro da Praia são mais assimétricos que os da Ilha das Canárias, logo, existem estresses ambientais na região que podem estar causando a instabilidade do desenvolvimento. A análise de variância de Procrustes identificou diferenças significativas entre os habitats e indivíduos ($p < 0,0001$). Portanto, não foi observado um padrão morfométrico entre as populações das regiões semiáridas e costeiras; a APA do Delta do Parnaíba parece contribuir para a conservação da diversidade de *M. subnitida*, confirmando a importância das unidades de conservação para biodiversidade; a assimetria flutuante maior na população de Cajueiro da Praia pode estar relacionada, principalmente, com o manejo das colônias e às atividades antrópicas na região.

Palavras-chave: abelha-sem-ferrão; jandaíra; morfometria geométrica; Caatinga; Delta do Parnaíba.

ABSTRACT

MOURA, V. G. **Population diversity and fluctuating asymmetry of *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera, Apinae) in semiarid and coastal regions of northeastern Brazil**. 2020. 90p. Dissertation (Master/Genetics and Breeding) - UFPI, Teresina, 2020.

The stingless bee *Melipona subnitida*, known as jandaíra, is typical of the Caatinga and widely used in the meliponiculture of the Northeast region. Even though it is adapted to the conditions of the Caatinga, there are several records of this species in coastal regions, such as the Environmental Protection Area (APA) of the Delta do Parnaíba, where there are few studies on its diversity. Thus, the aim of this study was to characterize the population diversity and fluctuating asymmetry of *Melipona subnitida* in semiarid and coastal regions of Northeast Brazil, including the Delta of Parnaíba APA. For that, the geometric morphometrics of the wings was used, being performed the canonical variables analysis (CVA), cross validation test, analysis of variance for centroid size, discriminant analysis of principal components (DAPC), Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages, Mantel test and Procrustes analysis of variance. Geometric morphometrics showed great diversity within and between populations. The square distances of Mahalanobis and the distances of Procrustes confirmed the morphometrics differences ($p < 0.05$). The CVA showed that the populations of Araiões and especially João Pessoa are the most distant from the others. The cross validation test indicated that 69.7% of the individuals were correctly classified within each group. The UPGMA cluster analysis showed three major groups, one formed by the population of João Pessoa, another by the populations of Granja and Mossoró and another by the other populations. Some geographically close populations are not part of the same group, which may be related to the climatic typifications of the localities. DAPC indicates greater morphometric diversity in the population of Araiões and less diversity in the populations of Granja and João Pessoa. By the Mantel test, a significant correlation ($p < 0.01$) was identified between wing shape \times average annual rainfall wing shape \times predominant biome, no correlation was observed for size. There was also a fluctuating asymmetry in the two populations of the Delta do Parnaíba, with individuals from Cajueiro da Praia being more asymmetrical than those from the Canary Islands, so there are environmental stresses in the region that may be causing the instability of the development. Procrustes analysis of variance identified significant differences between habitats and individuals ($p < 0.0001$). Therefore, a morphometric pattern was not observed among populations in semiarid and coastal regions; the Delta do Parnaíba APA seems to contribute to the conservation of *M. subnitida* diversity, confirming the importance of conservation units for biodiversity; the greater fluctuating asymmetry in the population of Cajueiro da Praia may be related, mainly, with colonies management and human activities in the region.

Keywords: stingless bees; jandaíra; geometric morphometrics; Caatinga; Delta do Parnaíba.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 -	Abelha-sem-ferrão <i>Melipona subnitida</i> . A: <i>M. subnitida</i> na entrada do ninho em colmeia racional; B: operária alimentando a rainha (Foto: Zé Maria Vieira Neto); C: potes de armazenamento de mel da colmeia; D: células de cria da colmeia (Fotos: Fábria Pereira).....	20
Figura 2.2 -	Estados e municípios que compõem a Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba, Nordeste do Brasil.....	23
Figura 2.3 -	Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba que ocupa municípios do Piauí, Maranhão e Ceará. Fonte: ICMBio, 2017.....	23
Figura 2.4 -	Sobreposição e alinhamento de asas de <i>Drosophila</i> sp. a partir dos marcos anatômicos. Fonte: KLINGENBERG, 2002.....	26

CAPÍTULO 1

Figura 1 -	Locais de coleta de operárias de <i>Melipona subnitida</i> na região Nordeste do Brasil. A Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba compreende a área entre os municípios de Araiões e Cajueiro da Praia, sendo Araiões a região mais preservada ecologicamente.....	40
Figura 2 -	Marcos anatômicos da asa anterior direita de operária de <i>Melipona subnitida</i> para análise de morfometria geométrica.....	41
Figura 3 -	Dispersão gráfica das amostras de <i>Melipona subnitida</i> obtida a partir das análises de variáveis canônicas dos 10 marcos anatômicos nos pontos de interseção das nervuras das asas de <i>Melipona subnitida</i>	43

- Figura 4 - Boxplot e teste de Tukey para tamanho do centroide de *Melipona subnitida*. As linhas horizontais representam as medianas e as verticais informam os intervalos de variação. Pelo teste de Tukey, letras iguais não diferem estatisticamente entre si..... 44
- Figura 5 - Agrupamento das colônias de *Melipona subnitida* pela análise discriminante de componentes principais (DAPC). Cada cor (N=5) representa um grupo morfológico distinto definido pelo Critério de Informação Bayesiano..... 46
- Figura 6 - Dendrograma evidenciando proximidade morfológica entre abelhas de diferentes municípios gerado pelo método UPGMA entre as sete populações de *Melipona subnitida*. Coeficiente de correlação cofenética = 0,98. ARA – MA: Araisos-MA; CPR – PI: Cajueiro da Praia-PI; GRA – CE: Granja-CE; APU – CE: Apuiarés-CE; MOS – RN: Mossoró-RN; SPP – RN: São Paulo do Potengi-RN; JPE – PB: João Pessoa-PB..... 47

MATERIAL SUPLEMENTAR

- Figura 1 - Resíduos de Procrustes dos 10 marcos anatômicos marcados nos pontos de interseção das nervuras das asas anteriores direita de operárias de *Melipona subnitida*. Os pontos azuis correspondem à média dos resíduos de Procrustes e os pretos representam os resíduos..... 54
- Figura 2 - Grades de deformação para variáveis canônicas obtidas a partir de marcos anatômicos da asa de sete populações de *Melipona subnitida*. A: forma para variável canônica 1 (CV1). B: Modificação da forma mostrada a partir da forma biológica (*outline* representada pela cor azul claro). Os marcos anatômicos são representados pelos pontos numerados..... 55

Figura 3 -	Grades de deformação para variáveis canônicas obtidas a partir de marcos anatômicos da asa de sete populações de <i>Melipona subnitida</i> . A: forma para variável canônica 2 (CV2). B: Modificação da forma mostrada a partir da forma biológica (<i>outline</i> representada pela cor azul claro). Os marcos anatômicos são representados pelos pontos numerados.....	56
------------	---	----

CAPÍTULO 2

Figura 1 -	Locais de coleta de <i>Melipona subnitida</i> na Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba, Nordeste do Brasil.....	63
Figura 2 -	Marcos anatômicos da asa anterior direita de operária de <i>Melipona subnitida</i> para análise de morfometria geométrica.....	64
Figura 3 -	Variação de assimetria flutuante entre as populações de <i>Melipona subnitida</i> da Ilha das Canárias – MA e Cajueiro da Praia – PI.....	66

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1 - Amostragem, informações geográficas e climáticas dos municípios de coleta de operárias de *Melipona subnitida* na região Nordeste, Brasil..... 39
- Tabela 2 - Distâncias de Procrustes (diagonal superior da matriz) e distâncias de Mahalanobis (diagonal inferior da matriz) obtidas a partir da análise de variáveis canônicas entre amostras de sete localidades de *Melipona subnitida*. ARA – MA: Araiõeses-MA; CPR – PI: Cajueiro da Praia-PI; GRA – CE: Granja-CE; APU – CE: Apuiarés-CE; MOS – RN: Mossoró-RN; SPP – RN: São Paulo do Potengi-RN; JPE – PB: João Pessoa-PB. ** ($p < 0,0001$); * ($p < 0,05$); ns ($p > 0,05$). 10.000 permutações..... 44
- Tabela 3 - Teste de dependência de Mantel para comparação entre matrizes de variação morfométrica (forma e tamanho da asa) de *Melipona subnitida* e variáveis ambientais..... 44

MATERIAL SUPLEMENTAR

- Tabela 1 - Variação dos seis eixos das variáveis canônicas obtidas a partir da forma da asa de sete populações de *Melipona subnitida*..... 57

CAPÍTULO 2

- Tabela 1 - Amostragem, coordenadas geográficas e altitude dos municípios de coleta de operárias de *Melipona subnitida* na Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba, Nordeste do Brasil..... 62

- Tabela 2 - Análise de variância (ANOVA) de Procrustes do tamanho do centroide e da forma da asa de colônias de *Melipona subnitida* de Cajueiro da Praia – PI..... 65
- Tabela 3 - Análise de variância (ANOVA) de Procrustes do tamanho do centroide e da forma da asa de colônias de *Melipona subnitida* da Ilha das Canárias..... 65
- Tabela 4 - Análise de variância (ANOVA) da análise de assimetria flutuante de populações de *Melipona subnitida* comparando amostras dos habitats das Ilha das Canárias – MA com Cajueiro da Praia – PI..... 66

1 INTRODUÇÃO

As abelhas-sem-ferrão (Hymenoptera, Apidae) são insetos eussociais responsáveis pela polinização da vegetação nativa e de várias culturas agrícolas de grande importância econômica. O seu mel tem propriedades medicinais e organolépticas que agregam alto valor comercial, sendo fonte de renda para famílias rurais.

Nos últimos anos, o papel ecológico destas abelhas tem ganhado ênfase devido às grandes perdas de colônias causadas pela degradação ambiental (FREITAS, 2009). A mortalidade generalizada pode mostrar como o clima está mudando e o quanto isso pode prejudicar a manutenção da biodiversidade vegetal e o equilíbrio dos ecossistemas. Outro fator preocupante é que as abelhas são animais mais vulneráveis à extinção que outros grupos, uma vez que o sistema de determinação sexual é do tipo haplodiploide, em que as fêmeas são diploides e heterozigotas, enquanto que os machos podem ser haploides ou diploides homozigotos, entretanto, estes últimos são estéreis. Dessa forma, em populações pequenas, onde ocorre a endogamia, a presença de machos diploides pode causar até a morte da colônia (ZAYED, 2009).

Um problema enfrentado atualmente é a falta de dados sobre a distribuição e abundância de abelhas-sem-ferrão, dificultando o desenvolvimento de medidas que auxiliam na conservação do grupo. Além disso, a maior parte das pesquisas se restringe às regiões sul e sudeste do Brasil, se limitando a poucos biomas.

Melipona subnitida Ducke, conhecida como jandaíra, é uma das espécies mais importantes da região Nordeste, ela é típica da Caatinga e se destaca pelo fácil manejo e saboroso mel que é comercializado em pequenas propriedades. A espécie adquiriu estratégias para sobreviver ao variável regime de chuvas e elevadas temperaturas da região, mas pode estar sofrendo com a degradação ambiental crescente. Ninhos naturais dela já foram encontrados em regiões litorâneas do Nordeste, onde foram constatadas diferenças genéticas que podem estar relacionadas aos fatores ambientais e climáticos (BONATTI *et al.*, 2014).

A *M. subnitida* está presente na Área de Proteção Ambiental (APA) do Delta do Parnaíba, que ocupa parte dos Estados do Maranhão, Piauí e Ceará. Não existem dados sobre a atual diversidade desta espécie na região, mas se sabe que ela convive há muito tempo com os moradores, sendo utilizada na meliponicultura local para a produção de

mel. Dessa forma, é importante conhecer a variabilidade populacional desta abelha na área de preservação e avaliar se existem estresses que podem estar influenciando a sua sobrevivência na APA.

Dentre as diversas técnicas utilizadas para estudos populacionais, tem-se a morfometria geométrica, que é uma das ferramentas utilizadas para acessar a diversidade genética de abelhas. Ela consiste em uma técnica eficiente na identificação de variações morfológicas a partir da configuração de marcos anatômicos em estruturas como asa, corbícula e cabeça (MORAES, 2003). A análise morfogeométrica é muito útil em estudos evolutivos, podendo mostrar divergências entre grupos, identificar subespécies e traçar rotas de colonização e expansão territorial (HURTADO-BURILLO *et al.*, 2016; FRANCOY *et al.*, 2016; NOGUEIRA *et al.*, 2019).

A morfometria geométrica permite identificar as variações fenotípicas causadas por fatores bióticos e abióticos por meio da análise de assimetria flutuante. Esta análise é uma medida de estabilidade do desenvolvimento e envolve o estudo das variações entre os lados direito e esquerdo de organismos bilaterais (PALMER, 1994).

Diferentes tipos de estresses podem afetar a estabilidade, tais como: temperatura, escassez de alimento, pesticidas, parasitismo, endocruzamento e a hibridização (PALMER; STROBECK, 1986). Desta forma, as alterações de simetria são bastante utilizadas para o monitoramento ambiental.

Considerando a importância ecossistêmica e econômica das abelhas-sem-ferrão, este estudo teve o objetivo principal de caracterizar as populações de *Melipona subnitida* Ducke de cinco Estados do Nordeste, compreendendo áreas semiáridas e costeiras, e avaliar as variações fenotípicas das asas em resposta aos estresses ambientais na APA do Delta do Parnaíba. Para tanto, este trabalho apresenta uma revisão de literatura que corresponde ao recorte teórico sobre *M. subnitida* na Caatinga e na APA do Delta do Parnaíba e a importância da morfometria geométrica e análise de assimetria flutuante no estudo de abelhas, em seguida, são apresentados dois capítulos no formato de revistas, as quais serão submetidos. O capítulo I apresenta a diversidade encontrada em populações de *M. subnitida* de sete localidades, estando no formato da revista PeerJ, e o capítulo II apresenta a assimetria flutuante evidenciada em colônias da Área de

Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba, estando no formato da revista *Neotropical Entomology*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As abelhas são insetos da ordem Hymenoptera, família Apidae, e se destacam por seu papel na manutenção da biodiversidade por meio da polinização de espécies vegetais nativas e agrícolas, podendo também atuar na dispersão de sementes (MICHENER, 2007; VENTURIERI *et al.*, 2012).

Dentre as diversas espécies de abelhas existentes no mundo, destacam-se as abelhas-sem-ferrão (tribo Meliponini), sendo consideradas o grupo mais diversificado. São eussociais e se caracterizam pela atrofia do ferrão, comumente utilizado em outras espécies (p.ex., *Apis mellifera*) para defesa da colônia (MICHENER, 2007). Entretanto, a atrofia do ferrão não exclui outros comportamentos defensivos, sendo comum utilizarem-se de mordidas para afastar os possíveis inimigos e evitar saques em seus ninhos (HRNCIR; KOEDAM; IMPERATRIZ-FONSECA, 2017).

Elas vivem em colônias perenes, com divisão de castas e geralmente com uma única rainha. Em geral, seus ninhos são construídos em troncos ocos de árvores, ninhos de cupins e formigas abandonados, cavidades no solo, fendas de rochas, calçadas e paredes ou formam ninhos expostos (NOGUEIRA-NETO, 1997; SIQUEIRA; MARTINES; NOGUEIRA-FERREIRA, 2007).

As abelhas-sem-ferrão estão amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Na região neotropical, estima-se que existam 33 gêneros exclusivos, correspondendo a 417 espécies classificadas (CAMARGO; PEDRO, 2013). Cerca de 200 espécies vivem no Brasil, onde são responsáveis por 40% a 90% da polinização das árvores nativas (BALLIVIÁN *et al.*, 2008).

A meliponicultura ou criação racional de abelhas-sem-ferrão tem crescido no Brasil não só devido aos produtos fornecidos por essas abelhas como mel, própolis e pólen, mas também por causa da sua eficiência na polinização de culturas de importância econômica (ROSELINO *et al.*, 2009; NUNES-SILVA *et al.*, 2013; SILVA-NETO *et al.*, 2019). Além de ser considerada uma atividade de lazer e entretenimento (MAIA *et al.*, 2015; HRNCIR; KOEDAM; IMPERATRIZ-FONSECA, 2017), é ainda importante para a conservação ambiental (BALLIVIÁN *et al.*, 2008; MAIA *et al.*, 2015).

Quanto ao seu mel, mais de 200 compostos já foram descritos, entre eles, vitaminas, aminoácidos e minerais (RAO *et al.*, 2016; JIBRIL; HILMI; MANIVANNAN, 2019). Muitos estudos verificaram propriedades antioxidantes (SILVA *et al.*, 2013; CAN *et al.*, 2015; TUKSITHA *et al.*, 2018; BEZERRA *et al.*, 2018), anti-inflamatórias (BORSATO *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2018; RUIZ; ESCOFFIÉ; CAMPOS, 2018), antimicrobianas (TORRES *et al.*, 2018; AKHIR; BAKAR; SANUSI, 2018), entre outras, no mel e na própolis.

Embora o mel seja ainda o principal produto comercializado, os serviços ecológicos oferecidos pelas abelhas são mais importantes do ponto de vista ambiental. Entretanto, atividades antrópicas como o desmatamento, a fragmentação de habitat, o uso de agrotóxicos, a introdução de espécies exóticas e a coleta predatória do mel têm ameaçado a diversidade de espécies de abelhas-sem-ferrão (FREITAS *et al.*, 2009).

Neste cenário, existe uma carência de estudos sobre as espécies de abelhas-sem-ferrão adaptadas às condições xerófitas da Caatinga, onde contribuem efetivamente para a manutenção desse bioma. Populações de *Melipona subnitida*, um dos meliponíneos mais importantes da região Nordeste e fonte de renda, especialmente, para comunidades rurais, estão sofrendo grande declínio devido aos impactos ambientais nos últimos anos. Dessa forma, pesquisas que visam a implementação de estratégias de manejo e conservação dessas abelhas precisam ser realizadas para evitar a perda de variabilidade genética, isolamento genético e limitação do potencial adaptativo.

2.1 Caracterização da *Melipona subnitida* Ducke

A *Melipona subnitida* Ducke, conhecida popularmente como jandaíra (Figura 2.1), é uma espécie típica da Caatinga, distribuída no Piauí, Bahia, Maranhão, Ceará, Rio Grande do Norte, Alagoas, Paraíba, Pernambuco e Sergipe (CAMARGO; PEDRO, 2013). O primeiro registro da espécie aconteceu no município de Alcântara, no Maranhão, com distribuição no semiárido nordestino do Brasil (DUCKE, 1910).

A atividade de voo de *M. subnitida* depende de vários fatores ambientais como temperatura, umidade relativa do ar e irradiação solar, sendo que as atividades externas ocorrem principalmente pela manhã, entre 5 e 6h, tanto no período chuvoso quanto no

seco, nesse horário, a temperatura está próxima a 20 °C, umidade acima de 90% e incidência de radiação próxima a zero (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

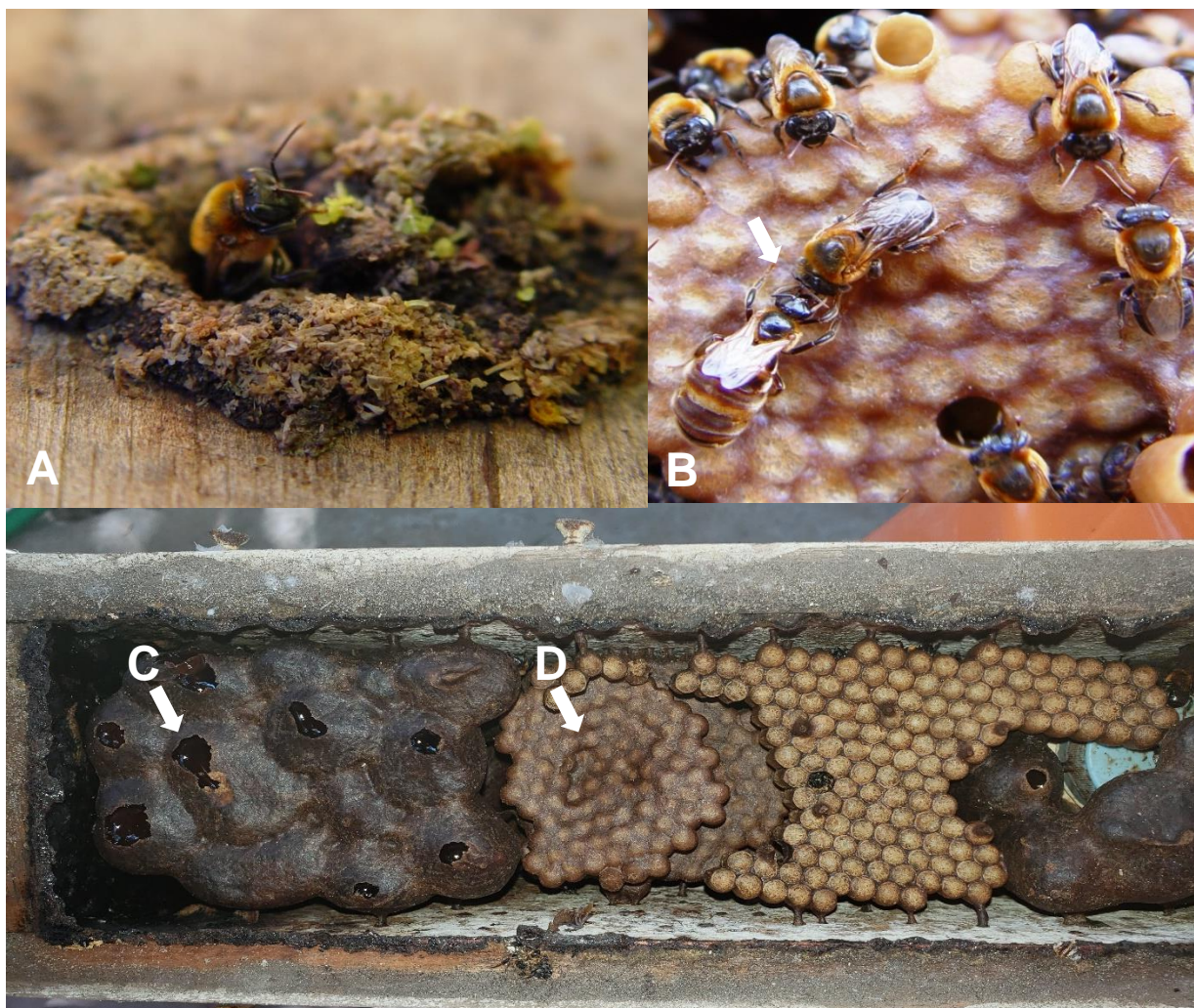


Figura 2.1 – Abelha-sem-ferrão *Melipona subnitida*. **A:** *M. subnitida* na entrada do ninho em colmeia racional; **B:** operária alimentando a rainha (Foto: Zé Maria Vieira Neto); **C:** potes de armazenamento de mel da colmeia; **D:** células de cria da colmeia (Fotos: Fábria Pereira).

A criação de jandaíra é de fácil manejo e teve um grande impulso a partir da década de 1960 (BRUENING *et al.*, 2006). O seu mel é de ótima qualidade e tem alto valor comercial devido às propriedades organolépticas (cor, sabor e consistência) e medicinais (CÂMARA *et al.*, 2004). Assim como no mel, também já foi encontrado potencial terapêutico na própolis, que apresenta atividades antioxidantes e anti-inflamatórias (SILVA *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2018).

Seu papel polinizador para culturas vegetais foi observado em plantações de pimentão (*Capsicum annuum* L.). Verificou-se que a presença destes insetos levou à produção de frutos de maior qualidade, mais pesados, mais largos e com número maior de sementes, sendo todas estas características desejadas do ponto de vista comercial (CRUZ *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2005).

Por muito tempo, a jandaíra foi considerada espécie exclusiva da Caatinga, no entanto, ela pode ser encontrada sob condições naturais em regiões litorâneas (RÊGO; ALBUQUERQUE, 2006; GOSTINSKI *et al.*, 2016). Porém, a sua presença no semiárido nordestino resultou, ao longo de milhares de anos, na evolução de várias características fisiológicas e comportamentais que a permitem sobreviver às condições extremas de seca e temperaturas elevadas (HRNCIR; KOEDAM; IMPERATRIZ-FONSECA, 2017).

2.2 *Melipona subnitida* na Caatinga

A Caatinga é predominante na região Nordeste do Brasil, ocupando aproximadamente 844 km² do território nacional (MMA, 2011). É um bioma com vegetação não homogênea, sendo comumente classificada como caatinga arbórea, caatinga arbustiva, mata seca ou carrasco, diferenciadas basicamente pela altura das árvores e aparência da vegetação nas estações secas. As plantas desse bioma apresentam características anatômicas e fisiológicas que possibilitam a resistência ao clima seco e às precipitações irregulares. O período de floração e produção de frutos varia de local para local, dependendo do período de chuvas (SENA, 2011).

Estima-se que existam cerca de 200 espécies de abelhas na Caatinga, entre elas, abelhas solitárias e a *Apis mellifera*, a espécie predominante (ZANELLA; MARTINS, 2003). Entre as abelhas-sem-ferrão, a *M. subnitida* é a maior polinizadora dessa região. Elas nidificam naturalmente em cavidades de troncos de árvores nativas da Caatinga, sendo generalistas na preferência floral, mas são encontradas frequentemente em imburana (*Commiphora leptophloeos* Mart.), catingueira (*Caesalpinia bracteosa* Tul.) e em aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva* Allem.) (CÂMARA *et al.*, 2004; BRUENING, 2006).

Como estratégia para sobreviver nesse ambiente, ela coleta o máximo possível de néctar e pólen durante a estação chuvosa, procura árvores com mais flores ou flores com

mais recursos, principalmente pólen, e estocam grande quantidade de alimento dentro dos ninhos para serem utilizados na estação seca (MAIA-SILVA *et al.*, 2015; HRNCIR *et al.*, 2019; MAIA-SILVA *et al.*, 2020).

Embora a jandaíra e outras espécies de abelhas-sem-ferrão que sobrevivem na Caatinga sejam adaptadas à oferta incerta de alimento, o bioma não permanece intacto e o desmatamento da vegetação nativa para plantações agrícolas ou para áreas de pastagens resulta na falta de plantas fornecedoras de recursos, dificultando ou impedindo a perpetuação desses polinizadores (HRNCIR; KOEDAM; IMPERATRIZ-FONSECA, 2017).

Existem registros de *M. subnitida* em áreas litorâneas, como os Lençóis Maranhenses e a Área de Proteção Ambiental (APA) do Delta do Parnaíba. Na APA do Delta do Parnaíba, não existem dados científicos sobre a atual distribuição da espécie e a variabilidade existente, sendo necessários estudos populacionais para a implementação de estratégias para a conservação desta abelha.

2.3 *Melipona subnitida* na Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba

A Área de Proteção Ambiental (APA) do Delta do Parnaíba foi criada pelo decreto s/n de 28.08.1996, sendo administrada pelo IBAMA. Ela corresponde a uma unidade de conservação que permite o uso racional dos recursos naturais pela população local. A área ocupa cerca de 313.800 ha, abrangendo municípios do Piauí, Maranhão e Ceará (Figura 2.2). É uma importante área da zona costeira brasileira, caracterizado por ser o único delta de mar aberto das Américas (SEMAR, 2010).

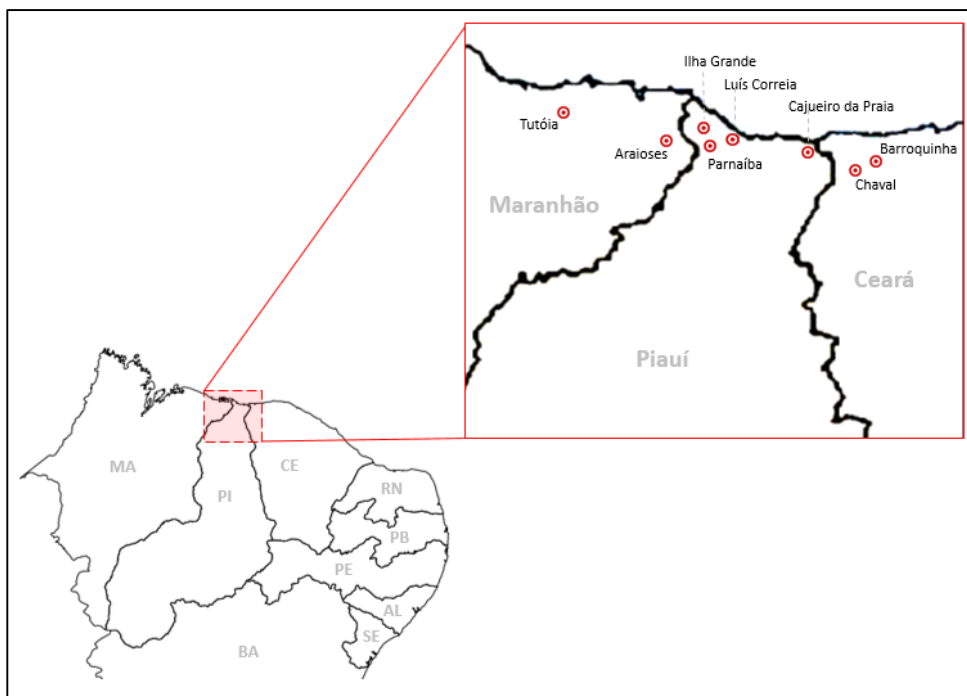


Figura 2.2 - Estados e municípios que compõem a Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba, Nordeste do Brasil.

O delta começa a ser formado a 30 km do oceano Atlântico, a partir da bifurcação do rio Parnaíba, que divide os Estados do Maranhão e Piauí, originando os rios Igarauçu, Canárias, Caju, Melancieira e Tutóia (LIMA, 2012). É composto por cerca de 75 ilhas, sendo uma área dinâmica, do ponto de vista geomorfológico, e de grande biodiversidade (MATTOS; IRVING, 2003) (Figura 2.3).



Figura 2.3 – Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba que ocupa municípios do Piauí, Maranhão e Ceará. Fonte: ICMBio, 2017.

A APA apresenta o complexo vegetacional de zona litorânea, formado por manguezal, dunas e restingas, onde existe vegetação pioneira psamófila, subperenifólia de dunas, perenifólia de mangue, vegetação de várzea, vegetação estacional de tabuleiros, estacional secundária do cerradão e vegetação do delta dos rios Parnaíba-Longá (CEPRO, 1996).

Na região do delta, *M. subnitida* foi encontrada em área de restinga e manguezal. Restinga é um termo usado para definir uma vegetação que ocorre em planície costeira, estabelecida sobre solos arenosos e instáveis, variando de acordo com a distância do mar, devido à salinidade, vento e temperatura (MARTINI *et al.*, 2014). O manguezal também está distribuído na faixa litorânea, ocupando regiões de estuário, baías, lagoas costeiras e deltas, onde há solos alagados e, geralmente, mistura de águas dulcícolas e oceânicas (ALVES; PEREIRA FILHO; PERES, 2001).

Em um estudo na área de restinga do Maranhão, verificou-se que a jandaíra demonstrou preferência pela planta *Humiria balsamifera*, conhecida como mirim, para nidificação (BARBOSA, 2013). Já no manguezal localizado no Delta do Parnaíba, o substrato mais utilizado para o estabelecimento de ninhos é o mangue branco (*Laguncularia racemosa*) (RÊGO *et al.*, 2017). Quanto à obtenção de néctar e pólen, na região de restinga do Maranhão, a *M. subnitida* prefere espécies das famílias botânicas Fabaceae, Melastomataceae, Myrtaceae e Dilleniaceae (PINTO; ALBUQUERQUE; RÊGO, 2014).

As plantas preferenciais da *M. subnitida* nas regiões litorâneas não são encontradas em outras áreas de sua ocorrência, no sertão nordestino. Desta forma, a espécie está se adaptando a novas condições de alimentação e nidificação. Portanto, identificar os sítios utilizados pela jandaíra para o estabelecimento de ninhos e obtenção de recursos florais, assim como compreender a influência de fatores ambientais e genéticos sobre a diversidade e distribuição desta abelha é muito importante para a sua conservação. Na Ilha das Canárias, região do Delta do Parnaíba, foi encontrada estrutura populacional em *M. subnitida* por meio de marcadores moleculares (SILVA *et al.*, 2014), indicando a importância de mais estudos nessa área de proteção ambiental.

Entre as diferentes ferramentas para acessar a diversidade biológica, está a análise morfométrica. Em um estudo utilizando esta técnica associada à análise

molecular, foram identificadas diferenças genéticas entre populações de jandaíra adaptadas a condições climáticas diversas (BONATTI *et al.*, 2014). Neste ponto, destaca-se a importância dos estudos populacionais para identificar possíveis variáveis adaptadas aos distintos biomas encontrados na região. Estas informações atuam, sobretudo, na conservação direta destes insetos, bem como dos ambientes onde estes estão inseridos.

2.4 Morfometria geométrica e assimetria flutuante

A morfometria pode ser definida como o estudo da forma, do tamanho e do modo como estas duas variáveis se relacionam. Ao longo dos anos, a maneira de medir as variações mudou bastante. Inicialmente, a morfometria tradicional era amplamente utilizada, a qual estuda a variação e covariação de medidas de distância entre pares de marcos anatômicos homólogos, pontos de tangência e extremos de estruturas (MORAES, 2003). Entretanto, este método não consegue comparar todas as estruturas de um organismo, visto que eles são multidimensionais. Desta forma, na década de 1980 surgiu a abordagem geométrica, sendo uma técnica mais eficiente por permitir a quantificação da variação da forma e ainda a visualização gráfica das diferenças entre as variáveis (BOOKSTEIN, 1991).

A morfometria geométrica pode auxiliar na identificação taxonômica, em estudos de diversidade genética, populacionais e evolutivos, representando uma alternativa rápida e de baixo custo comparada às técnicas moleculares (FRANCOY; IMPERATRIZ-FONSECA, 2010). A descrição morfológica por meio desta técnica pode ser feita pelo estabelecimento de marcos anatômicos (*landmarks*) de referência em estruturas homólogas ou por contornos de estruturas, sendo possível construir e reconstruir graficamente diferenças morfológicas, uma vez que utiliza coordenadas cartesianas que fornecem a posição relativa de cada ponto (BOOKSTEIN, 1991; MORAES, 2003).

Para a análise, inicialmente é realizada a sobreposição de imagens, por meio do método de Procrustes (Figura 2.4), em que são retirados os efeitos de tamanho, posição e orientação pelo alinhamento dos centroides, gerando uma configuração consenso ideal (KLINGENBERG, 2002).

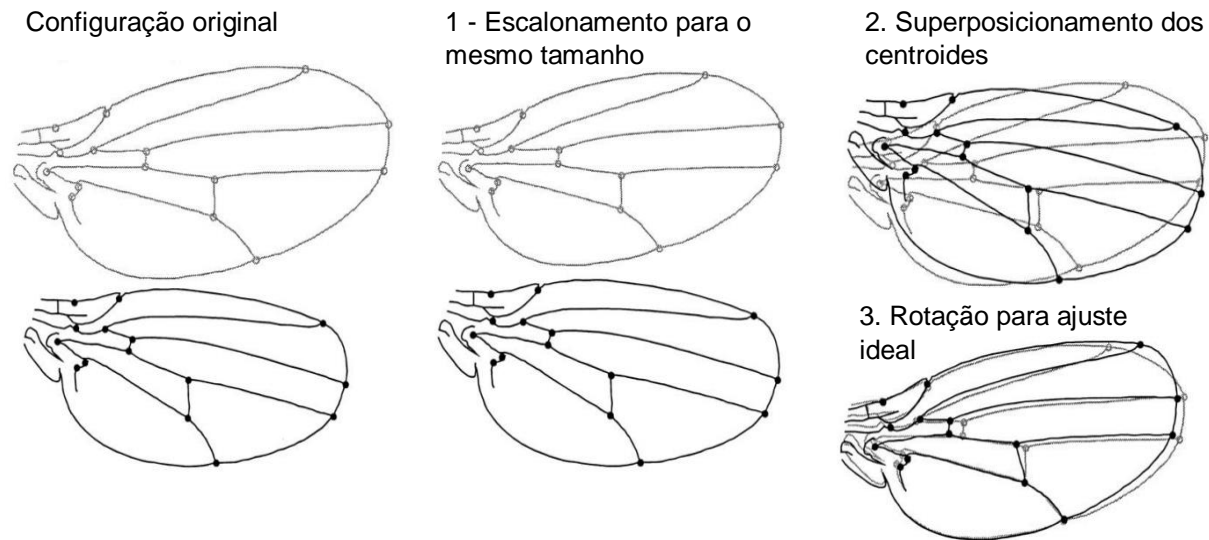


Figura 2.4 – Sobreposição e alinhamento de asas de *Drosophila* sp. a partir dos marcos anatômicos (KLINGENBERG, 2002).

Por meio do redimensionamento para a formação da configuração consenso, são gerados resíduos de Procrustes, que se referem às variações de distância de cada marco anatômico em relação à configuração consenso. Os resíduos formam uma matriz que deve ser utilizada nas análises de estatística multivariada para o estudo de populações (ROHFL, 1998).

O padrão de venação das asas anteriores de abelhas é muito utilizado nas análises de morfometria geométrica. Em espécies do gênero *Apis*, essa estrutura tem alta herdabilidade no sentido restrito ($h^2 \approx 1,0$), sofrendo pouca influência do ambiente, logo, é uma técnica adequada para estudos morfológicos (DINIZ-FILHO; BINI, 1994).

Por meio da morfometria geométrica foi constatada estruturação populacional em *M. mandacaia* da região semiárida da Bahia, o que pode ser devido à restrição de fluxo gênico causada pela fragmentação de habitat (PRADO-SILVA *et al.*, 2016). Esta ferramenta foi eficiente na diferenciação de grupos de *Scaura* Schwarz, um gênero Neotropical comum no Brasil, indicando divergências morfométricas entre populações da Mata Atlântica e da Floresta Amazônica (NOGUEIRA *et al.*, 2019). A morfometria geométrica também pode ser utilizada para avaliar o efeito da paisagem na forma e no tamanho da asa das abelhas. No estudo de Souza *et al.* (2018), foi possível verificar a influência das condições ambientais no padrão morfométrico intrasexual da abelha

solitária *Centris tarsata*. Em espécies de Euglossini, foram verificadas divergências morfométricas entre abelhas coletadas em áreas florestais com influência antrópica e em uma área de sistema agroflorestal da Bahia (RIBEIRO *et al.*, 2019).

De modo geral, as abelhas-sem-ferrão são muito sensíveis às perturbações ambientais e consequentes alterações climáticas, sendo necessária a aplicação de análises precisas para descrever a variação fenotípica causada pelo ambiente. Desta forma, é comum utilizar a assimetria flutuante (AF) para essa finalidade.

A AF corresponde à variação morfológica individual entre os lados direito e esquerdo de um organismo bilateral, sendo causada, principalmente, por fatores ambientais (PALMER; STROBECK, 1986; KLINGENBERG, 2015). Ela pode indicar instabilidade durante o desenvolvimento de um organismo devido às condições de estresses.

Os estresses que podem afetar a estabilidade estão classificados em duas categorias, estresses ambientais ou extrínsecos e estresses genéticos ou intrínsecos. Entre os estresses ambientais, estão os extremos de temperatura, a escassez de alimento, a poluição, o uso de pesticidas e o parasitismo. Entre os estresses genéticos, estão o endocruzamento, a hibridização, genes deletérios e anomalias cromossômicas (PALMER; STROBECK, 1986).

Se as características bilaterais de um indivíduo são codificadas pelo mesmo genoma e elas estão sob as mesmas condições ambientais, espera-se que as perturbações aleatórias tenham efeitos diferentes sobre os lados direito e esquerdo, levando a assimetria (DONGEN, 2006).

Outras diferenças de simetria também podem ser encontradas em estruturas bilaterais, as mais conhecidas são a assimetria direcional e a antissimetria, que surgem a partir de um desenvolvimento normal do organismo. A assimetria direcional se refere à tendência de um mesmo lado ser maior na maioria dos indivíduos de uma população, por exemplo, padrões no desenvolvimento de conchas de alguns gastrópodes; a antissimetria também apresenta diferenças entre os lados, no entanto, a variação é aleatória, sem uma tendência, por exemplo, as quelas de alguns crustáceos (PALMER, 1994).

Portanto, a AF é o indicador mais sensível para estimar estresses durante o desenvolvimento de um indivíduo. Ela tem sido eficiente para verificar as mudanças ontogenéticas em abelhas relacionadas a diferentes condições ambientais, como a criação em caixas e cortiços (LIMA *et al.*, 2016), antropização (BANASZAK-CIBICKA *et al.*, 2017) e o uso de pesticidas (PRADO-SILVA *et al.*, 2018). Quando uma população apresenta valores elevados de AF, significa que os indivíduos têm dificuldade em manter o desenvolvimento preciso, resultando em efeitos negativos sobre a população ao longo do tempo (MARKOW, 1995).

REFERÊNCIAS

AKHIR, R. A.; BAKAR, M. F. A.; SANUSI, S. B. Antioxidant and Antimicrobial Potential of Stingless Bee (*Heterotrigona itama*) By-Products. **Journal of Advanced Research in Fluid Mechanics and Thermal Sciences**, v. 42, n. 1, p. 72-79, 2018.

ALVES, J. R. P.; PEREIRA FILHO, O.; PERES, R. A. R. Aspectos geográficos, históricos e socioambientais dos manguezais. 2001. In: ALVES, J. R. P. (org). **Manguezais: educar para protege**. Rio de Janeiro: FEMAR: SEMADS, 2001, p. 9 – 18.

BALLIVIÁN, J. M. P. P. (org.). **Abelhas Nativas Sem Ferrão**. São Leopoldo: Editora Oikos Ltda, 2008. 128p.

BANASZAK-CIBICKA, W.; FLISZKIEWICZ, M.; LANGOWSKA, A.; ŻMIHORSKI, M. Body size and wing asymmetry in bees along an urbanization gradient. **Apidologie**, v. 49, n. 3, p. 297–306, 2017.

BARBOSA, M. M. **Ecologia de nidificação e diversidade genética de *Melipona subnitida* em uma área do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses**. 2013. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.

BEZERRA, M. L. R.; SOUZA, E. L.; SOUSA, J. M. B.; LIMA, M. D. S.; ALVES, A. F.; ALMEIDA, M. D. G.; COUTINHO, A. R.; VERÍSSIMO, A. E.; SOARES, N. L.; SILVA, G. A.; MAGNANI, M.; AQUINO, J. S. Effects of honey from *Mimosa quadrivalvis* L. (malícia) produced by the *Melipona subnitida* D. (jandaíra) stingless bee on dyslipidaemic rats. **Food Function**, v. 9, p. 4480-4492, 2018.

BOOKSTEIN, F. L. 1991. **Morphometric tools for landmark data**. Cambridge: Cambridge University Press. 460p

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**, v. 101, p. 17-24, 2014.

BORSATO, D. M.; PRUDENTE, A. S.; DOLL-BOSCARDIN, P. M.; BORSATO, A. V.; Luz, C. F. P.; MAIA, B. H. L. N. S.; CABRINI, D. A.; OTUKI, M. F.; MIGUEL, M. D.; FARAGO, P. B.; MIGUEL, O. G. Topical Anti-Inflammatory Activity of a Monofloral Honey of *Mimosa scabrella* Provided by *Melipona marginata* During Winter in Southern Brazil. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 7, 2014.

BRUENING, H.; **Abelha Jandaíra**. 3. ed. Natal: SEBRAE/ RN, 2006. 134p

CÂMARA, J. Q.; SOUSA, A. H.; VASCONCELOS, W. E.; FREITAS, R. S.; MAIA, P. H. S.; ALMEIDA, J. C.; MARACAJÁ, P. B. Estudos de meliponíneos com ênfase a

Melipona subnitida D. no município de Jandaíra, RN. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 4, n. 1, 2004.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region. 2013. Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue?id=34135>. Acesso em: 29 jan 2019.

CAN, Z.; YILDIZ, O.; SAHIN, H.; TURUMTAY, E. A.; SILICI, S.; KOLAYLI, S. An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. **Food Chemistry**, v. 180, p. 133-141, 2015.

CEPRO. **Macrozoneamento costeiro do Estado do Piauí**: Relatório Geoambiental e Sócio-Econômico. Teresina: Secretaria de Planejamento do Piauí. 1996. 221p.

CRUZ, D. O.; FREITAS, B. M.; SILVA, L. A.; SILVA, E. M. S.; BOMFIM, I. G. A. Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 40, n. 12, p. 1197-1201, 2005.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; BINI, L. M. Space-free correlation between morphometric and climatic data: a multivariate analysis of Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) in Brazil. **Global Ecology & Biogeography Letters**, v. 4, p. 195-202, 1994.

DONGEN, S. V. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. **Journal compilation**, v. 19, p. 1727-1743, 2006.

DUCKE, A. Contribution a connaissance de la faune hymenoptérologique du Nord-Est du Brésil. **Revue d' Entomologie**, Caen, p. 28-92, 1910.

FRANCOY, T. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. I. 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.; BONATTI, V.; VIRAKTAMATH, S.; RAJANKAR, B. R. 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, 2016.

FREITAS, B. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. I.; MEDINA, L. M.; KLEINERT, A. M. P.; GALETTO, L.; NATES-PARRA, G.; QUEZADA-EUAN, J. J. G. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, v. 40, p. 332-346, 2009.

GOSTINSKI, L. F.; CARVALHO, C. C. A.; RÉGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Species richness and activity pattern of bees (Hymenoptera, Apidae) in the restinga area of Lençóis Maranhenses National Park, Barreirinhas, Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 60, n. 4, p. 319-327, 2016.

HRNCIR, M.; KOEDAM, D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **A jandaíra** – abelha símbolo do sertão, 2017. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M. (orgs). *A abelha jandaíra: no passado, presente e no futuro*. Mossoró: EdUFERSA, 2017, p. 16-26.

HRNCIR, M.; MAIA-SILVA, C.; TEIXEIRA-SOUZA, V. H. S.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Stingless bees and their adaptations to extreme environments. **Jornal de Fisiologia Comparada A**, v. 205, p. 415–426, 2019.

HURTADO-BURILLO, M.; JARA, L.; MAY-ITZÁ, W. J.; QUEZADA-EUÁN, J. J. G.; RUIZ, C.; RÚA, P. D. L. A geometric morphometric and microsatellite analyses of *Scaptotrigona mexicana* and *S. pectoralis* (Apidae: Meliponini) sheds light on the biodiversity of Mesoamerican stingless bees. **Journal of Insect Conservation**, v.20, v. 5, p. 753-763, 2016.

ICMBio. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/visitacao1/unidades-abertas-a-visitacao/9411-area-de-protecao-ambiental-delta-do-parnaiba>. Acesso em: 18 fev 2019.

JIBRIL, F. I.; HILMI, A. B. M.; MANIVANNAN, L. Isolation and characterization of polyphenols in natural honey for the treatment of human diseases. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 4, p. 1-9, 2019.

KLINGENBERG, C. P. Analyzing Fluctuating Asymmetry with Geometric Morphometrics: Concepts, Methods, and Applications. **Symmetry**, v. 7, p. 843-934, 2015

KLINGENBERG, C. P. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. **Gene**, v. 287, p. 3-10, 2002.

LIMA, C. B. S.; NUNES, L. A.; CARVALHO, C. A. L.; RIBEIRO, M. F.; SOUZA, B. A.; SILVA, C. S. B. 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.

LIMA, E. F. Ictiofauna do delta do rio Parnaíba, litoral piauiense. 2012. In: GUZZI, A. (org.). *Biodiversidade do delta do Parnaíba: litoral piauiense*. Parnaíba: EDUFPI, p. 116-138.

MAIA, U. M.; JAFFÉ, R.; CARVALHO, A. T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Meliponicultura no Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 4, p. 327-333, 2015.

MAIA-SILVA, C.; HRNCIR, M.; SILVA, C. I.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Survival strategies of stingless bees (*Melipona subnitida*) in an unpredictable environment, the Brazilian tropical dry forest. **Apidologie**, v. 46, p. 631-643, 2015.

- MAIA-SILVA, C.; LIMÃO, A. A. C.; SILVA, C. I.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; HRNCIR, M. Stingless Bees (*Melipona subnitida*) Overcome Severe Drought Events in the Brazilian Tropical Dry Forest by Opting for High-Profit Food Sources. **Neotropical Entomology**, p. 1-9, 2020.
- MARKOW, T. A. Evolutionary ecology and developmental instability. **Annual Review of Entomology**, v. 40, p. 105-120, 1995.
- MARTINI, A. M. Z.; CASTANHO, C. T.; ROCHA, M. I.; PANNUTI; STUART, J.; JESUS, F. M.; OLIVEIRA, A. A. Restinga e ecologia. 2014. In: AZEVEDO, N. H. et al. (org). In: **Ecologia na restinga: uma sequência didática argumentativa**. São Paulo: petrobr as: USP, IB, LABTROP/BIOIN, 2014. p. 23-42.
- MATTOS, F. F.; IRVING, M. A. Delta do Parnaíba nos rumos do ecoturismo: um olhar a partir da comunidade local. **Caderno Virtual de Turismo**, v. 3, n. 4, p. 23-35, 2003.
- MICHENER, C. D. **The bees of the world**. Baltimore: Johns Hopkins, 2007. 953p.
- MMA. Ministério do Meio Ambiente. Plano de divulgação do bioma caatinga. 2011. Disponível em: http://www.mma.gov.br/estruturas/203/_arquivos/plano___comunicacao_jorge_1_203_1.pdf. Acesso em: 08 abr 2019.
- MORAES, D. A. A morfometria geométrica e a “revolução na morfometria” localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. **Boletim**, v. 1, n. 3, 2003.
- NOGUEIRA, D. S.; MAHLMANN, T.; TEIXEIRA, J. S. G.; OLIVEIRA, M. L.; ROUBIK, D. W. Geometric morphometrics of wing venation to differentiates new species of *Scaura Schwarz* populations (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Scientia Plena**, v. 15, n. 1, p. 1-9, 2019.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997. 447p.
- NUNES-SILVA, P.; HRNCIR, M.; SILVA, C. I.; ROLDÃO, Y. S; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Stingless bees, *Melipona fasciculata*, as efficient pollinators of eggplant (*Solanum melongena*) in greenhouses. **Apidologie**, v. 44, n. 5, p. 537-546, 2013.
- OLIVEIRA, F. L.; DIAS, V. H. P.; COSTA, E. M.; FILGUEIRA, M. A.; SOBRINHO, J. E. Influência das variações climáticas na atividade de vôo das abelhas jandairas *Melipona subnitida* Ducke (Meliponinae). **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 3, p. 598-603, 2012.
- PALMER, A. R. Fluctuating asymmetry analyses. In: MARKOW, T. A. (ed.), **Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications**. Kluwer, Dordrecht, Netherlands, 1994, p. 335-364.

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

PINTO, R. S.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; RÊGO, M. M. C. Pollen Analysis of Food Pots Stored by *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) in a Restinga area. **Sociobiology**, v. 61, N. 4, p. 461-469, 2014.

PRADO-SILVA, A.; NUNES, L. A.; ALVES, R. M. O.; CARNEIRO, P. L. S.; WALDSCHMIDT, A. M. Variation of fore wing shape in *Melipona mandacaia* Smith, 1863 (Hymenoptera, Meliponini) along its geographic range. **Journal of Hymenoptera Research**, v. 48, p. 85-94, 2016.

PRADO-SILVA, A.; NUNES, L. A.; SANTOS, J. M.; AFFONSO, P. R. A. M.; WALDSCHMIDT, A. M. Morphogenetic Alterations in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae) Associated with Pesticides. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 74, n. 4, p. 627-632, 2018.

RAO, P. V.; KRISHNAN, K. T.; SALLEH, N.; GAN, S. H. Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 657-664, 2016.

RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. Redescoberta de *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) nas Restingas do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Barreirinhas, MA. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 3, p. 416-417, 2006.

RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; PINTO, R. S.; BARBOSA, M. M.; SILVA, A. G. A abelha jandaíra no estado do Maranhão. 2017. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M. (orgs.). **A abelha jandaíra: no passado, presente e no futuro**. Mossoró: EdUFERSA, 2017, p. 79-86.

RIBEIRO, M. G.; AGUIAR, W. M.; NUNES, L. A.; CARNEIRO, L. S. Morphometric Changes in Three Species of Euglossini (Hymenoptera: Apidae) in Response to Landscape Structure. **Sociobiology**, v. 66, n. 2, p. 339-347, 2019.

ROHFL, F. J. On Applications of Geometric Morphometrics to Studies of Ontogeny and Phylogeny. **Systematic Biology**, v. 47, n. 1, p. 147-158, 1998.

ROSELINO, A. C.; SANTOS, S. B.; HRNCIR, M.; BEGO, L. R. Differences between the quality of strawberries (*Fragaria x ananassa*) pollinated by the stingless bees *Scaptotrigona aff. depilis* and *Nannotrigona testaceicornis*. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 2, p. 539-545, 2009.

RUIZ, J. C.; ESCOFFIÉ, P.; CAMPOS, M. R. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of *Melipona beecheii* honey protein fractions. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 12, p. 2636-2642, 2018.

SEMAR. Plano estadual de recursos hídricos do Piauí: relatório de síntese. Piauí: SEMAR, 2010.

SENA, L. M. M. de. **Conheça e Conserve a Caatinga**: o Bioma Caatinga, v. 1, Fortaleza: Associação Caatinga, 2011. 54 p.

SILVA, E. M. S.; FREITAS, B. M.; SILVA, L. A.; CRUZ, D. O.; BOMFIM, I. G. A. Biologia floral do pimentão (*Capsicum annuum*) e a utilização da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) como polinizador em cultivo protegido. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, n. 3, p. 386-390, 2005.

SILVA, G. R.; SOUZA, B. A.; LOPES, M. T. R.; VALENTE, S. E. S.; DINIZ, F. A. New molecular evidence for fragmentation between two distant populations of the threatened stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Journal of Hymenoptera Research**, v. 38, p. 1–9, 2014.

SILVA, T. M. S.; SANTOS, F. P.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S.; SILVA, G. S.; NOVAIS, J. S. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 10 - 18, 2013.

SILVA-NETO, C. M.; RIBEIRO, A. C. C.; GOMES, F. L.; MELO, A. P. C.; OLIVEIRA, G. M.; FAQUINELLO, P.; FRANCESCHINELLI, E. V.; NASCIMENTO, A. R. The stingless bee mandacaia (*Melipona quadrifasciata* Lepeletier) increases the quality of greenhouse tomatoes. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 1, p. 9–15, 2019.

SIQUEIRA, E. L.; MARTINES, R. B.; NOGUEIRA-FERREIRA, F. H. Ninhos de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Meliponina) em uma Região do rio Araguari, Araguari-MG. **Bioscience Journal**, v. 23, p. 38-44, 2007.

SOUZA, A. V.; NUNES, L. A.; MACHADO, C. S.; SODRÉ, G. S.; CARVALHO, C. A. L. Sexual dimorphism and morphometric characterization of *Centris tarsata* Smith, 1874, Hymenoptera: Apidae in different environments. **Acta Agronomica**, v. 67, n. 3, p. 438-445, 2018.

SOUZA, S. A.; SILVA, T. M. G.; SILVA, E. M. S.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Characterisation of phenolic compounds by UPLC-QTOF-MS/MS of geopropolis from the stingless bee *Melipona subnitida* (jandaíra). **Phytochemical Analysis**, v. 29, p. 549–558, 2018.

TORRES, A. R.; SANDJO, L. P.; FRIEDEMANN, M. T.; TOMAZZOLI, M. M.; MARASCHIN, M.; MELLO, C. F.; SANTOS, A. R. S. Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 6, p. e7118, 2018.

TUKSITHA, L.; CHEN, Y-L. S.; CHEN, Y-L.; WONG, K-Y.; PENG, C-C. Antioxidant and antibacterial capacity of stingless bee honey from Borneo (Sarawak). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 21, p. 563-570, 2018.

VENTURIERI, G. C.; ALVES, D. A.; VILLAS-BÔAS, J. K.; CARVALHO, C. A. L.; VOLLET-NETO, A.; CONTRERA, F. A. L.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; NOGUEIRA-NETO, P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Meliponicultura no Brasil**: situação atual e perspectivas futuras para o uso na polinização agrícola. In: SARAIVA, A. M.; ALVES, D. A.; CANHOS, D. A. L.; IMPERATRIZ FONSECA, V. L. (orgs.). 2012. Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais, São Paulo: EDUSP, p. 349-360.

ZANELLA, F.; MARTINS, C. 2003. **Abelhas da Caatinga**: Biogeografia, ecologia e conservação. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; CARDOSO, J. M. (eds). Ecologia e conservação da Caatinga, Recife: Editora Universitária da UFPE, p. 75-134.

ZAYED, A. Bee genetics and conservation. **Apidologie**, v. 40, p. 237–262, 2009.

CAPÍTULO 1

(Texto elaborado para submissão nos moldes da revista PeerJ - Normas no Anexo A da dissertação)

Diversidade morfogeométrica de populações de *Melipona subnitida* Ducke distribuídas em áreas semiáridas e litorâneas do Nordeste do Brasil

Vanessa Gomes de Moura¹, Geice Ribeiro da Silva², Lorena Andrade Nunes³, Maria Teresa do Rêgo Lopes⁴, Bruno de Almeida Souza⁴, Fábria de Mello Pereira⁴, Fábio Barros Britto⁵

¹ Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brazil

² Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brazil

³ Programa de Pós-Graduação em Enfermagem e Saúde, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, Bahia, Brazil

⁴ Laboratório de Biologia Molecular, Embrapa Meio-Norte, Teresina, Piauí, Brazil

⁵ Departamento de Biologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brazil

Autores correspondentes:

Fábio B. Britto

Avenida Universitária, Teresina, Piauí, 64049550, Brazil

Email address: fbbritto@ufpi.edu.br

Fábria de M. Pereira

Av. Duque de Caxias, 5650, Teresina, Piauí, 64006-220, Brazil

Email address: fabia.pereira@embrapa.br

Resumo

Contexto: *Melipona subnitida* é uma das espécies que compõe o grupo das abelha-sem-ferrão, com ampla distribuição na região Nordeste do Brasil. Ela é típica da Caatinga (the Brazilian dry area), sendo, mais recentemente, descrita na região costeira da Área de Proteção Ambiental (APA) do Delta do Parnaíba, onde é muito importante para a meliponicultura local. Há relatos de que estas abelhas ocupam a APA há anos, no entanto, apenas há pouco tempo sua distribuição científica foi registrada para esta região. Desta forma, objetivou-se caracterizar, com base em caracteres morfogeométricos, a diversidade em populações de *Melipona subnitida* que ocupam áreas litorâneas, comparando as informações com as de populações oriundas das regiões semiáridas.

Métodos: 320 abelhas operárias de 55 colônias foram coletadas de meliponários de sete localidades: Granja-CE, Apuiarés-CE, Mossoró-RN, São Paulo do Potengi-RN e João Pessoa-PB,

correspondendo à região semiárida, e Ilha das Canárias (Araioses-MA) e Cajueiro da Praia-PI, representando a região litorânea. Realizou-se análise de variáveis canônicas (CVA), teste de validação cruzada, análise de variância do tamanho do centroide (ANOVA *one-way*), em que o tamanho do centroide foi utilizado como medida do tamanho da asa, teste de Tukey, análise discriminante de componentes principais (DAPC), método hierárquico de ligação média entre grupos (UPGMA) e teste de Mantel para correlação entre forma, tamanho da asa, distância geográfica, altitude, temperatura média anual, pluviosidade média anual e biomas predominantes em cada região.

Resultados: foi encontrada diversidade morfométrica nas sete localidades estudadas, entretanto, não foi observado um padrão morfológico distinto entre as áreas semiáridas e litorâneas. A CVA mostrou que as populações de Araioses e João Pessoa (localizadas nos extremos da área amostrada) são as mais divergentes quando comparadas às demais. A ANOVA evidenciou que existem diferenças significativas entre os tamanhos dos indivíduos ($p < 0,05$), sendo que os indivíduos de Araioses são os maiores, enquanto que em Granja estão os menores. A DAPC evidenciou que a maior diversidade foi encontrada na população em Araioses, região da APA do Delta do Parnaíba. Pelo agrupamento UPGMA, observa-se três grupos, o primeiro formado pela população de João Pessoa, o segundo pelas populações de Granja e Mossoró e o terceiro pelas demais populações. O teste de Mantel foi significativo ($p < 0,01$) para a correlação da forma da asa \times pluviosidade média anual e forma da asa \times bioma predominante.

Discussão: João Pessoa é a localidade com pluviosidade e bioma predominante mais diferenciados das demais, o que explica a sua diferenciação. A maior diversidade encontrada na população de Araioses pode estar relacionada à disponibilidade de recursos florais o ano inteiro na região e ausência de barreiras de fluxo gênico, já que a Ilha é muito próxima ao continente. Portanto, a fitofisionomia local pode ser um fator decisivo para a diversidade morfométrica entre as populações, como indicado pelo teste de Mantel. Esse resultado confirma a importância das unidades de conservação para a manutenção da biodiversidade. A pluviosidade pode influenciar a diversidade porque está diretamente associada à floração, contribuindo para a maior disponibilidade de recursos alimentares. Dessa forma, os resultados encontrados devem ser considerados para o estabelecimento de programas de conservação da espécie e dos biomas onde ela está presente.

Introdução

As abelhas-sem-ferrão (Hymenoptera: Apidae) são insetos eussociais que compõem o grupo dos meliponíneos. A criação racional dessas abelhas, chamada de meliponicultura, é frequente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, principalmente devido à importância econômica e social, gerando renda para famílias rurais por meio da venda de produtos e subprodutos como o mel, a própolis e o pólen, que além de serem utilizados na alimentação, apresentam potencial na indústria farmacêutica e de cosméticos. Nos últimos anos, a capacidade de polinização das abelhas tem se destacado na agricultura. Estima-se que cerca de 75% das espécies vegetais cultivadas pelo homem são polinizadas por abelhas (Marques *et al.*, 2015). No entanto, o papel

ecológico desempenhado pelas abelhas-sem-ferrão supera seus benefícios econômicos, uma vez que elas atuam na manutenção e reconstituição de florestas nativas.

A espécie *Melipona subnitida* Ducke, conhecida como jandaíra, é endêmica da região Nordeste do Brasil e típica da Caatinga (the Brazilian dry area) (Souza et al., 2018). Ela tem grande potencial para a meliponicultura por ter fácil manejo e ser generalista na preferência floral, além de produzir mel de ótima qualidade e com propriedades medicinais (Silva et al., 2013).

A Caatinga apresenta clima semiárido, sendo a fauna e a flora adaptadas aos períodos de seca. O bioma é rico em biodiversidade e tem grande potencial econômico, amparando atividades agrosilvopastoris e industriais nos ramos farmacêutico, de cosméticos e alimentar. Apesar da importância, a Caatinga sofre com o desmatamento acelerado, exploração madeireira ilegal e insustentável e ocupação de áreas para a agricultura e pastagens (Vendruscolo et al., 2017). Estima-se que 45% do semiárido esteja degradado (INPE, 2015). Dessa forma, a meliponicultura pode ser uma atividade útil para a restauração florestal da Caatinga. Por ser típica da região, *M. subnitida* é uma das espécies mais indicadas para a criação sustentável.

Mais recentemente foi cientificamente registrada a presença de *M. subnitida* na Área de Proteção Ambiental (APA) do Delta do Parnaíba, que ocupa os estados do Piauí, Maranhão e Ceará (Rêgo et al., 2017). Não se sabe como nem quando essas abelhas chegaram na região, mas elas são conhecidas entre os nativos e conseguem construir ninhos em biomas litorâneos como os manguezais e restingas, que apresentam clima e vegetação diferentes do sertão nordestino. Nesta área, a espécie é utilizada na meliponicultura local para obtenção de mel. Existem poucos dados sobre a diversidade e distribuição de *M. subnitida* na APA do Delta do Parnaíba (Silva et al., 2014), o que torna importante o delineamento de estudos que contribuam para a identificação da variabilidade genética e do potencial adaptativo desta espécie na região, tornando possível o monitoramento e a implementação de planos de manejo para a sua conservação.

Dentre as distintas ferramentas para avaliar a diversidade biológica, a morfometria geométrica é uma das técnicas mais utilizadas. Atualmente, ela tem aplicação em estudos ecológicos e evolutivos, podendo ser aplicada na identificação de estrutura populacional, migração e fluxo gênico (Klingenberg, 2010). A caracterização morfométrica permite identificar diferenças entre grupos de abelhas a partir de variações na forma de estruturas como cabeça, corbícula e asas. O padrão de venação das asas é bastante utilizado nessa técnica porque apresenta alta herdabilidade no sentido restrito (Diniz-Filho & Bini, 1994). Vários estudos identificaram variações morfométricas em asas de populações de *M. subnitida* do Nordeste brasileiro, obtendo-se evidências de plasticidade fenotípica frente às variações de clima, temperatura, vegetação e manejo (Lima et al., 2014; Lima et al., 2016; Souza et al., 2018).

Portanto, considerando a distribuição original da espécie *M. subnitida* no Semiárido e sua ocorrência na APA do Delta do Parnaíba, objetivou-se com a presente pesquisa avaliar a diversidade populacional e a sua correlação com a distância geográfica, altitude, temperatura média anual, pluviosidade média anual e biomas predominantes entre os pontos de coleta da espécie.

Material e métodos

Amostragem

Foram coletadas 320 abelhas operárias de 55 colônias de *M. subnitida*, sendo aproximadamente 6 espécimes por colônia (Tabela 1). As amostras são provenientes de meliponários de diferentes estados do Nordeste e da APA do Delta do Parnaíba (Figura 1). Na APA do Delta do Parnaíba, foram coletadas amostras no município de Cajueiro da Praia (PI) e na Ilha das Canárias, em Araiões (MA). No Ceará, foram coletadas amostras dos municípios de Apuiarés e Granja; no Rio Grande do Norte, dos municípios de Mossoró e São Paulo do Potengi; na Paraíba, de João Pessoa. As abelhas foram devidamente identificadas e conservadas em álcool etílico (95-100%). As amostras foram mantidas a -20°C no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Meio-Norte e analisadas no laboratório de entomologia da instituição.

Tabela 1 – Amostragem, informações geográficas e climáticas dos municípios de coleta de operárias de *Melipona subnitida* na região Nordeste, Brasil.

Estado	Município	Número de indivíduos	Número de colônias	Coordenadas geográficas	Altitude	Temperatura média anual (°C)	Pluviosidade média anual (mm)
MA	Araiões	72	12	02° 44' 42,4" S; 41° 59' 04,1" W	10m	27,4	1338
PI	Cajueiro da Praia	47	8	02° 56' 30" S; 41° 21' 00" W	10m	27,6	1067
CE	Granja	48	8	03° 07' 22" S; 40° 50' 03" W	10m	27,9	1064
	Apuiarés	39	8	03° 57' 05" S; 39° 25' 59" W	61m	26,4	790
RN	Mossoró	48	8	05° 11' 17" S; 37° 20' 39" W	16m	28	750
	São Paulo do Potengi	42	7	05° 53' 44" S; 35° 45' 29" W	85m	25,5	613
PB	João Pessoa	24	4	07° 06' 54" S; 34° 51' 47" W	47m	25,2	1888
TOTAL		320	55				

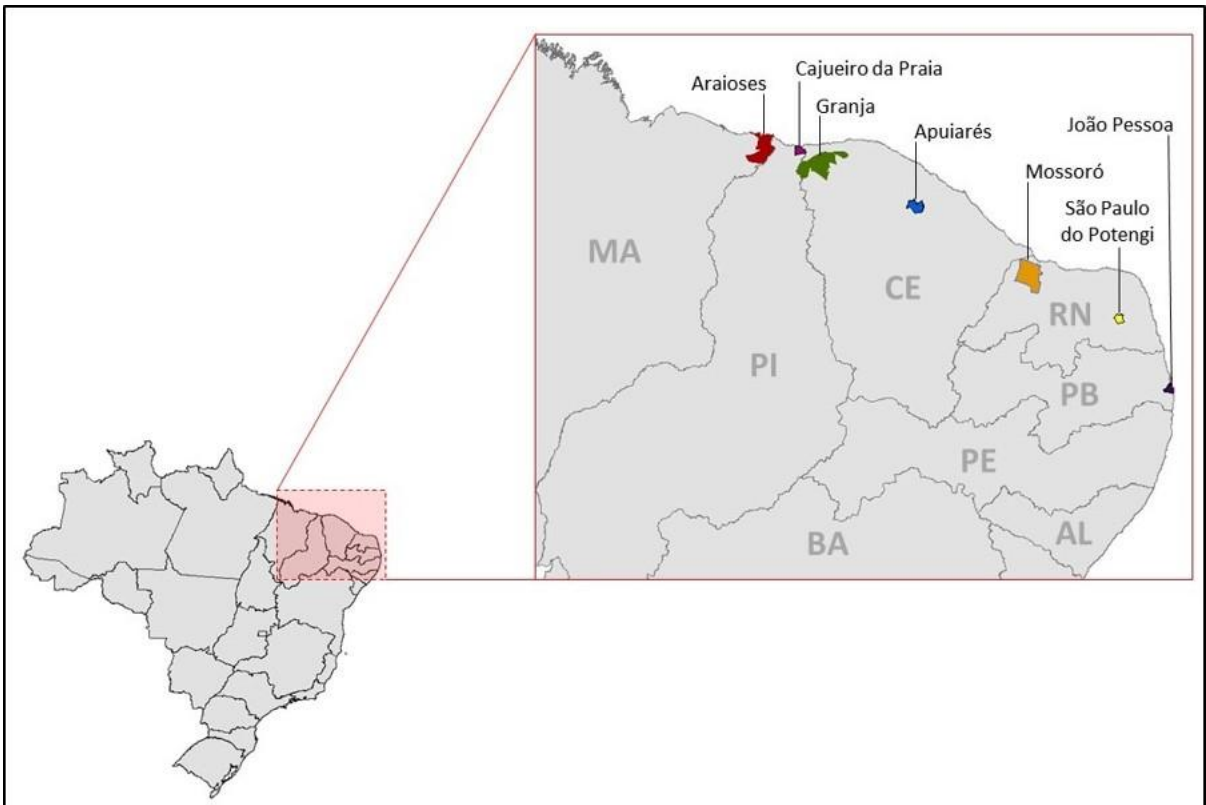


Figura 1 – Locais de coleta de operárias de *Melipona subnitida* na região Nordeste do Brasil. A Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba compreende a área entre os municípios de Araiões e Cajueiro da Praia, sendo Araiões a região mais preservada ecologicamente.

Caracterização das áreas amostradas

Nos municípios de Cajueiro da Praia – PI e Araiões – MA, que compõem o Delta do Parnaíba, Granja – CE e Mossoró – RN, predomina o clima tropical com inverno seco (Aw), onde há estação chuvosa no verão e seca no inverno. A temperatura anual média na estação mais fria é superior a 18°C, a pluviosidade anual é superior a 750 mm e inferior a 1800 mm. Em relação aos biomas, em Cajueiro da Praia, Granja e Mossoró predomina a Caatinga. Em Araiões existe uma grande diversidade de biomas, predominando a Caatinga e o Cerrado.

De acordo com a classificação climática de Köppen, os municípios de Apuiarés-CE e São Paulo do Potengi – RN apresentam o clima semiárido quente (BSh), caracterizado pela escassez e distribuição irregular de chuvas, temperaturas anuais médias elevadas, em torno de 27°C, pluviosidade média anual de 750 mm e umidade relativa geralmente baixa. Nesses municípios, predomina o bioma Caatinga.

No município de João Pessoa – PB, predomina o clima do tipo Am (Clima tropical úmido ou de monção), segundo a classificação de Köppen. Ele representa uma transição do tipo climático Aw e Af (clima tropical úmido ou equatorial), onde a temperatura anual média na estação mais fria também é superior a 18°C, mas a estação seca tem pequena duração, com precipitação inferior a 60 mm. Nesse município, o bioma Mata Atlântica é predominante.

Morfometria geométrica das asas

Para a caracterização morfométrica, foi removida a asa anterior direita de abelhas operárias. Para a obtenção das imagens, as asas foram distendidas entre lâmina e lamínula. Após a preparação das lâminas, as asas foram fotografadas por uma câmera digital acoplada a um estereomicroscópio Nikon SMZ 745T, utilizando o programa Motic Images Plus 2.0 para a captura das imagens.

As imagens foram organizadas por localidade e processadas pelo software tpsUtil v. 1.74 (Rohlf, 2017a) para a obtenção de arquivo em TPS. Em seguida, foi realizada a calibração e a inserção dos marcos anatômicos nas posições de interseção das nervuras por meio do programa tpsDig v. 2.31 (Rohlf, 2017b) (Figura 2). Foram geradas matrizes de coordenadas cartesianas para a análise morfométrica, as quais foram salvas dentro dos arquivos TPS previamente criados.

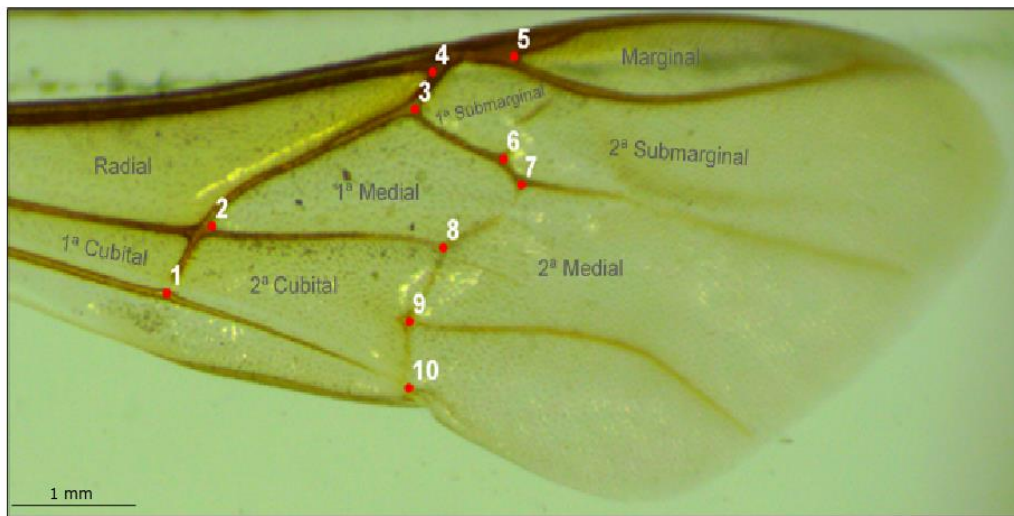


Figura 2 – Marcos anatômicos da asa anterior direita de operária de *Melipona subnitida* para análise de morfometria geométrica.

As informações foram processadas pelo método de Sobreposição de Procrustes através dos quadrados mínimos. A matriz de covariância foi obtida pelo software MorphoJ v.1.03 (Klingenberg, 2011). A obtenção da configuração consenso dos 10 marcos anatômicos permitiu verificar os resíduos de Procrustes, indicando a forma como os marcos anatômicos variaram nas asas (Material suplementar, Figura S1). Por meio do software PAST v. 3.18 (Hammer, Harper & Ryan, 2001) foi realizada a análise de variáveis canônicas (CVA). A CVA foi realizada por combinações lineares, sendo elas importantes para avaliar a correlação entre grupos e as diferenças entre eles. A partir das variáveis canônicas foram obtidas as grades de deformação, que apresentam as variações na forma das asas que ocorrem em todos os eixos (Material suplementar, Figuras S2 e S3). Também foram utilizadas as distâncias de Procrustes e Mahalanobis para avaliar a similaridade da forma da asa entre as localidades. Em seguida, foi realizado o teste de validação cruzada no MorphoJ para verificar a classificação dos indivíduos em suas localidades de origem e a precisão dos dados.

Os dados do tamanho do centroide, exportados a partir do MorphoJ, foram utilizados como uma medida de tamanho da asa, sendo submetidos a uma ANOVA *one-way* e ao teste de Tukey no PAST. Em seguida, foi produzido um gráfico boxplot também no PAST para comparar os tamanhos entre as localidades. Ressalta-se que o tamanho do centroide é a raiz quadrada do somatório dos quadrados das distâncias entre cada ponto de referência (marco anatômico) e o centroide.

Foram também analisados agrupamentos entre as populações por meio da análise discriminante de componentes principais (DAPC), utilizando o pacote *adegenet* (Jombart *et al.*, 2008) do programa R v. 3.6.1 (R Core Team, 2019), a qual descreve o número mais provável de grupos entre os espécimes avaliados, otimizando a variação entre os grupos formados e minimizando a variação dentro deles. A análise foi realizada a partir das coordenadas de Procrustes, onde o número mais provável de grupos foi definido a partir da função “*find.clusters*”, usando o método k-means com soluções estimadas a partir do Critério de Informação Bayesiana (BIC). Em seguida, a função “*dapc*” foi utilizada para a realização de uma análise de componentes principais, utilizando todos os componentes que explicaram pelo menos 85% da variância dos dados com o número de eigenvalues definidos a partir da função discriminante. Os resultados obtidos foram apresentados em um gráfico do tipo *complot*, com cada barra mostrada representando a probabilidade de uma colônia pertencer a um determinado grupo.

As distâncias euclidianas para variação da forma, calculadas entre as localidades, foram utilizadas para a análise de agrupamento *Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages* (UPGMA) no programa PAST, de modo a avaliar as distâncias entre os grupos. Foi aplicado o teste de Mantel para avaliar as correlações entre as matrizes de distância morfológica, tamanho da asa, distância geográfica, altitude, temperatura média anual, pluviosidade média anual e biomas predominantes em cada região, utilizando-se o pacote *ade4* (Dray & Dufour, 2007) do programa R com 50.000 permutações. Para a construção da matriz dos biomas predominantes, foi estabelecido um número para cada tipo de bioma (Caatinga: 1, Caatinga/Cerrado: 2 e Mata Atlântica: 3), em seguida foi gerada uma matriz de distância euclidiana no PAST. Esta matriz foi utilizada no teste de Mantel.

Resultados

Toda a variação da forma da asa pode ser explicada com seis eixos da CVA. Nesta abordagem, 72,2% da variação foi explicada nos dois primeiros eixos (Material suplementar, Tabela 1). No gráfico de dispersão gerado (Figura 3), observa-se que a amostra de João Pessoa foi a mais divergente das demais, apresentando-se isolada nos lados positivos das VC1 e VC2. As amostras da APA (Araioses e Cajueiro da Praia) apresentaram-se próximas. Todas as colônias de Araioses e a maior parte de Cajueiro da Praia estão no lado positivo do eixo 2. As colônias de Granja estão muito próximas às de Mossoró, com concentração de colônias no lado positivo da VC1 e lado negativo da VC2. São Paulo do Potengi e Apuiarés estão, também, muito próximas à Cajueiro da Praia, entretanto, São Paulo do Potengi está predominantemente no lado positivo da VC2, enquanto que Apuiarés está do lado negativo do mesmo eixo. Pelas grades de deformação,

observa-se no eixo positivo da VC1 a redução da célula 1ª medial, promovida pelos pontos 2 e 3, e o aumento da 2ª cubital por meio dos pontos 1, 8, 9 e 10. No eixo positivo da VC2, observa-se o aumento da célula 1ª medial promovido pelos pontos 3, 6, 7 e 8, e a redução da 2ª cubital pelos pontos 1, 2, 9 e 10.

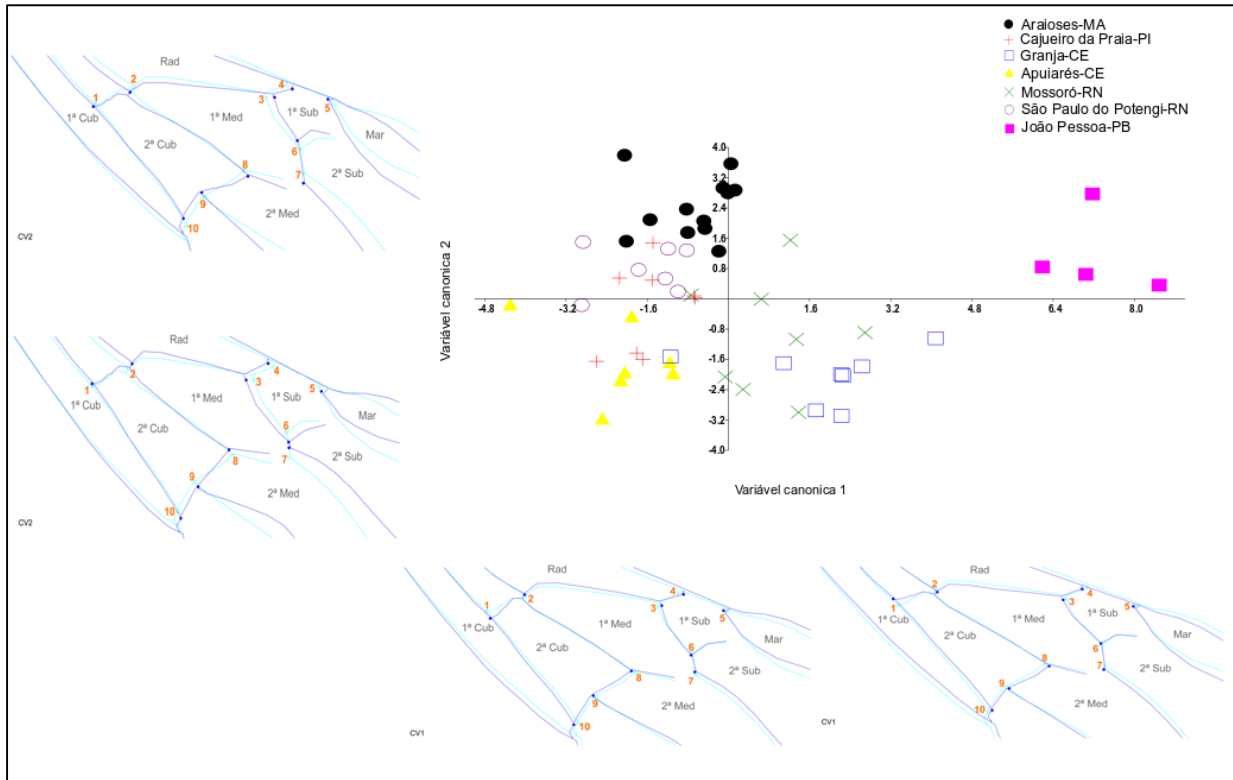


Figura 3 – Dispersão gráfica das amostras de *Melipona subnitida* obtida a partir das análises de variáveis canônicas dos 10 marcos anatômicos nos pontos de interseção das nervuras das asas de *Melipona subnitida*. Em volta do plano cartesiano, encontra-se as modificações da forma mostradas a partir da forma biológica (*outline* representada pela cor azul claro). Os marcos anatômicos são representados pelos pontos numerados.

O teste de validação cruzada apresentou uma taxa de acerto de 69,7%, sendo que todas as colônias de João Pessoa foram classificadas dentro da localidade de origem quando comparadas às colônias de Apuiarés, Granja e São Paulo do Potengi.

De acordo com a ANOVA, há diferenças significativas ($p < 0,0001$) no tamanho da asa das colônias de *M. subnitida* amostradas. No gráfico boxplot (Figura 4), observa-se que os indivíduos de Araiões apresentam asas maiores, enquanto que os indivíduos de Granja são os menores. De acordo com o teste de Tukey, os tamanhos das asas dos indivíduos de Araiões diferem estatisticamente de Granja, Apuiarés e Mossoró ($p < 0,01$), e os de Granja são estatisticamente diferentes das colônias de Cajueiro da Praia, Mossoró, São Paulo do Potengi e João Pessoa ($p < 0,05$).

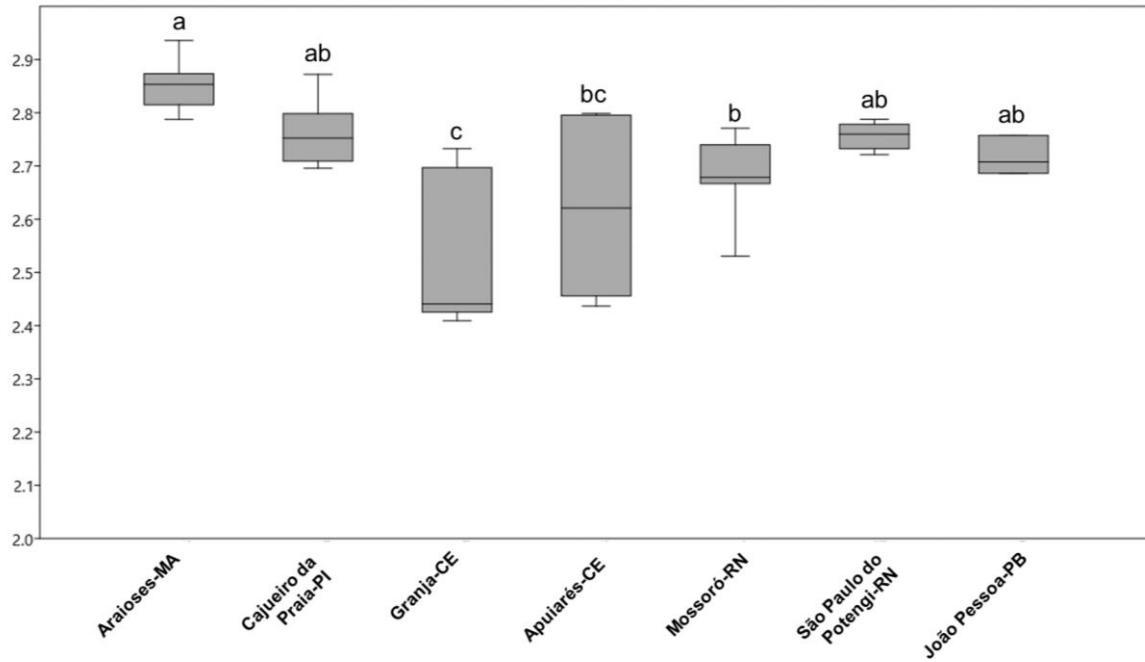


Figura 4 – Boxplot e teste de Tukey para tamanho do centroide de *Melipona subnitida*. As linhas horizontais representam as medianas e as verticais informam os intervalos de variação. Pelo teste de Tukey, letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

As distâncias quadradas de Mahalanobis obtidas pela CVA revelam que as populações apresentam distâncias morfométricas significativas ($p < 0,05$) (Tabela 2), enquanto que de acordo com as distâncias de Procrustes, não há diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as populações de Apuiarés e Cajueiro da Praia e Mossoró e Cajueiro da Praia, Apuiarés e São Paulo do Potengi.

Tabela 2 - Distâncias de Procrustes (diagonal superior da matriz) e distâncias de Mahalanobis (diagonal inferior da matriz) obtidas a partir da análise de variáveis canônicas entre amostras de sete localidades de *Melipona subnitida*. ARA – MA: Araisos-MA; CPR – PI: Cajueiro da Praia-PI; GRA – CE: Granja-CE; APU – CE: Apuiarés-CE; MOS – RN: Mossoró-RN; SPP – RN: São Paulo do Potengi-RN; JPE – PB: João Pessoa-PB. ** ($p < 0,0001$); * ($p < 0,05$); ns ($p > 0,05$). 10.000 permutações.

	ARA - MA	CPR - PI	GRA - CE	APU - CE	MOS - RN	SPP - RN	JPE - PB
ARA - MA	0,0000	0,0127*	0,0174**	0,0139*	0,0161*	0,0188*	0,0161*
CPR - PI	3,7775**	0,0000	0,0131*	0,0095 ^{ns}	0,0093 ^{ns}	0,0109*	0,0185*
GRA - CE	5,3163**	4,5685**	0,0000	0,0151*	0,0114*	0,0165*	0,0157**
APU - CE	4,8471**	4,5685**	5,2713**	0,0000	0,0102 ^{ns}	0,0133*	0,0206*
MOS - RN	4,2152**	3,6258**	2,891*	4,6309**	0,0000	0,0103 ^{ns}	0,0169*
SPP - RN	3,8409**	3,6803**	5,3174**	4,5798**	4,3308**	0,0000	0,0181*
JPE - PB	8,2922**	9,3598*	6,7905**	10,0081*	7,2936*	9,3501*	0,0000

A DAPC mostrou a diversidade dentro e entre as sete localidades, identificando a presença de cinco grupos (Figura 5). A população de Araiões, pertencente à APA e local considerado ecologicamente mais preservado, apresentou a maior diversidade, com representantes de cada um dos cinco grupos estimados. Já as populações de João Pessoa e Granja tiveram as menores variações morfométricas, com a predominância de apenas dois grupos em cada. Os dois grupos encontrados em Granja também estão na população de Mossoró, embora em proporções diferentes. Este resultado corrobora em parte com o encontrado na CVA, a qual mostra a grande semelhança entre as duas populações.

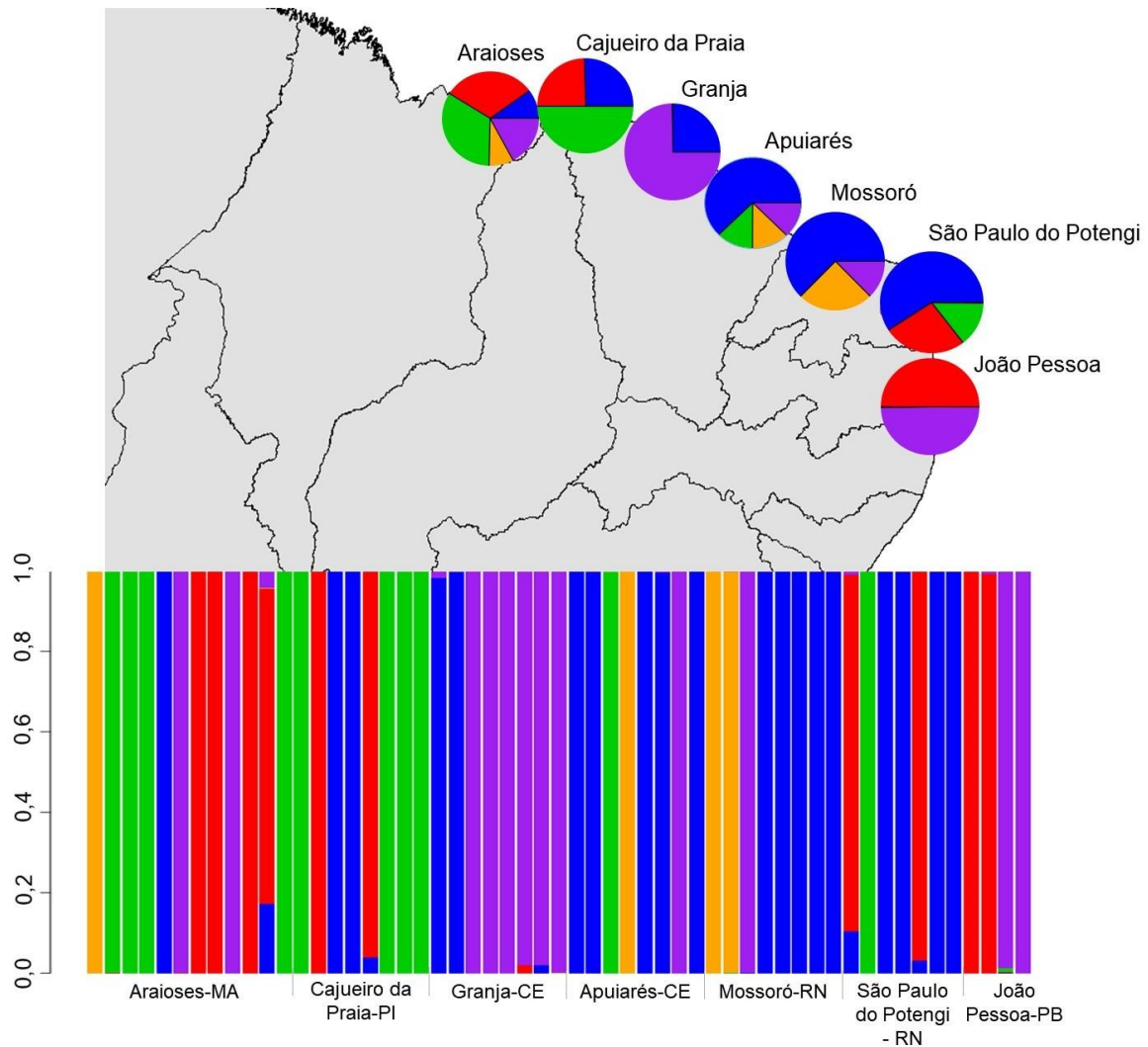


Figura 5 – Agrupamento das colônias de *Melipona subnitida* pela análise discriminante de componentes principais (DAPC). Cada cor (N=5) representa um grupo morfológico distinto definido pelo Critério de Informação Bayesiano.

Na DAPC, o grupo verde está concentrado no Delta do Parnaíba. Oito colônias da APA foram classificadas com esta cor (quatro em Araiões e quatro em Cajueiro da Praia) em comparação

com outras localidades que mostraram apenas duas colônias (uma em Apuiarés e uma em São Paulo do Potengi) apresentando este perfil morfométrico (Figura 5). Embora as populações de Mossoró e São Paulo do Potengi estejam próximas geograficamente, as duas compartilham apenas um grupo (representado pela cor azul), da mesma forma que as populações do Ceará, Granja e Apuiarés, que compartilham somente dois grupos (indicados pelas cores roxa e azul). Na análise de agrupamento realizada a partir das distâncias euclidianas (Figura 6), é possível observar três grupos, um formado pela população de João Pessoa, o segundo formado pelas populações de Granja e Mossoró e o terceiro formado pelas demais populações. O coeficiente de correlação cofenética do dendrograma foi de 0,98.

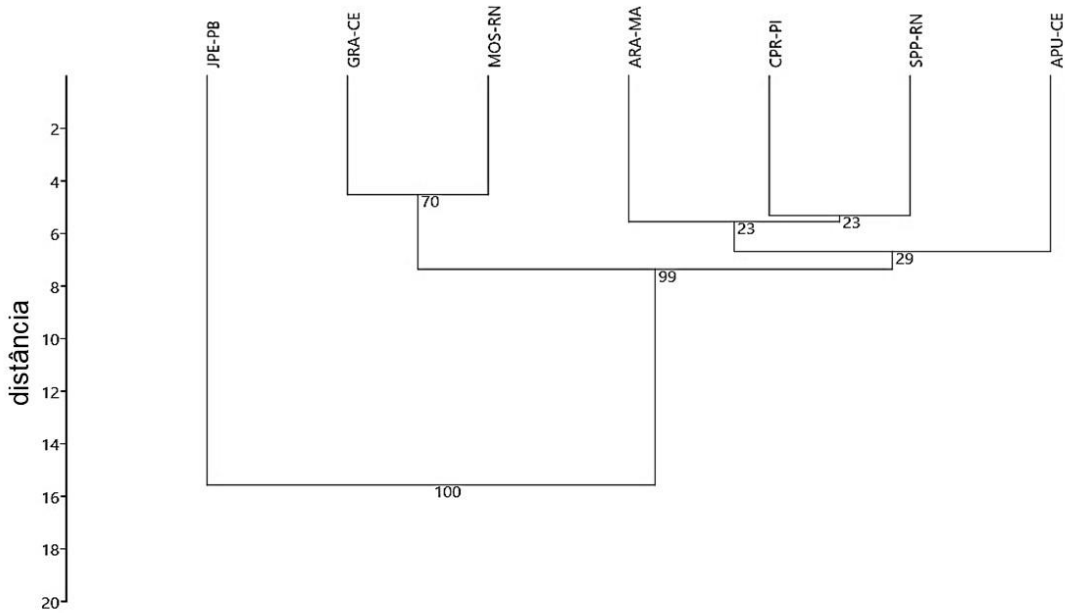


Figura 6 – Dendrograma evidenciando proximidade morfológica entre abelhas de diferentes municípios gerado pelo método UPGMA entre as sete populações de *Melipona subnitida*. Coeficiente de correlação cofenética = 0,98. ARA – MA: Araiõeses-MA; CPR – PI: Cajueiro da Praia-PI; GRA – CE: Granja-CE; APU – CE: Apuiarés-CE; MOS – RN: Mossoró-RN; SPP – RN: São Paulo do Potengi-RN; JPE – PB: João Pessoa-PB.

Pelo teste de Mantel (Tabela 3), não houve correlação significativa entre a forma da asa e as variáveis altitude e temperatura média anual. O mesmo foi observado para a análise entre a forma da asa e distância geográfica. Já para forma da asa × pluviosidade média anual, a correlação foi positiva e significativa ($R = 0,72$; $P\text{-valor} = 0,0023$), assim como para forma da asa × bioma predominante ($R = 0,76$; $P\text{-valor} = 0,02$). Pelo mesmo teste, não foi identificada a correlação significativa entre tamanho da asa e estas variáveis ambientais.

Tabela 3 - Teste de dependência de Mantel para comparação entre matrizes de variação morfométrica (forma e tamanho da asa) de *Melipona subnitida* e variáveis ambientais.

Variáveis × forma da asa	R	P-valor
Distância geográfica	0,33	0,0800
Altitude	-0,04	0,4900
Temperatura média anual	0,18	0,1700
Pluviosidade média anual	0,72	0,0023
Bioma predominante	0,76	0,0200
Variáveis × tamanho do centroide		
Distância geográfica	-0.16	0.75
Altitude	-0.25	0.88
Temperatura média anual	-0.26	0.91
Pluviosidade média anual	-0.31	0.88
Bioma predominante	-0,11	0,50

Discussão

Os dados de morfometria geométrica das asas de *M. subnitida* apresentaram diversidade entre e dentro das populações amostradas, sendo que não foi observado um padrão morfológico específico entre populações das regiões semiárida e litorânea. As variáveis ambientais que se correlacionaram com a forma da asa foi a pluviosidade média anual e o bioma predominante de cada região, enquanto que nenhuma variável apresentou correlação significativa com o tamanho. A maior diversidade de formas e os maiores tamanhos de asas estão na região de Araisos (Ilha das Canárias), a qual apresenta-se mais preservada ecologicamente, em comparação às demais localidades. As variações morfométricas encontradas neste estudo podem ser resultados das diferentes fitofisionomias locais dos ambientes onde a espécie está distribuída, visto que os insetos podem ter adaptações morfológicas em resposta às variações locais de cada paisagem (Ribeiro et al., 2019; Carneiro et al., 2019). Portanto, a maior diversidade morfométrica de Araisos pode estar relacionada com a abundância de recursos e a meliponicultura pouco desenvolvida na região, preservando colônias naturais. A Ilha das Canárias está muito próxima ao continente e é bastante preservada, com recursos florais disponíveis o ano inteiro. Neste local, as

abelhas têm maior diversidade de plantas para nidificar e coletar néctar, não havendo a necessidade de forragear por longas distâncias.

Estudos prévios com marcadores moleculares encontraram estrutura populacional em *M. subnitida* da Ilha das Canárias (Silva et al., 2014) em comparação com amostras do continente, logo, análises morfométricas em conjunto com análises moleculares precisam ser utilizadas para monitorar a variabilidade da espécie nesta região da APA do Delta do Parnaíba.

As populações de João Pessoa e Granja apresentaram a menor diversidade morfológica, sendo que as colônias de João Pessoa ficaram isoladas nas análises de agrupamento. Das localidades amostradas, João Pessoa é a única com o bioma Mata Atlântica predominante, esta localidade também tem os maiores índices pluviométricos, com a média anual de 1888 mm, e de acordo com o teste de Mantel, esses fatores estão correlacionados com as variações na forma das asas, logo, podem ser responsáveis pelas diferenças morfológicas entre as populações. Em Granja, este resultado não era esperado, uma vez que a meliponicultura é bastante desenvolvida no Estado do Ceará (Carvalho et al., 2017), apresentando comércio de ninhos que, potencialmente, pode aumentar a variabilidade devido à mistura genética entre abelhas introduzidas e abelhas locais. Entretanto, para que o efeito de aumento de diversidade seja observado, é importante que as regiões de trocas façam parte da ocorrência natural da espécie e tenham condições ambientais similares para não ocorrer o efeito contrário (Jaffé et al., 2016). Aparentemente, não há um critério específico para o intercâmbio de colônias e os resultados aqui apresentados podem sugerir que os criadores devem avaliar os custos e benefícios do transporte de colmeias para contribuir para a conservação das abelhas.

O grupo formado pelas populações de Granja e Mossoró na análise de agrupamento pode representar a presença de adaptações dessas abelhas ao clima predominante nas regiões, do tipo Aw, levando ao perfil morfológico semelhante, mesmo estando distantes geograficamente. Esse efeito do clima sobre a diversidade morfométrica de *M. subnitida* foi observado por Lima et al. (2014) e também em subespécies de *Apis mellifera* de uma região europeia (Coroian et al., 2014). A temperatura e a umidade são fatores preponderantes e que podem moldar o desempenho das colônias de abelhas, principalmente porque interferem no desenvolvimento das plantas e na floração, além de fazerem com que as abelhas controlem a temperatura do ninho e do corpo, alterando a dinâmica populacional (Endorgan, 2019). No presente trabalho não foi observada a correlação com a variável temperatura. No entanto, a variação de temperatura média entre as localidades foi baixa ($\sim 2^{\circ}\text{C}$), causando baixo impacto seletivo entre as localidades. Porém, a ampla variação pluviométrica entre os municípios mostrou ser um fator que influencia a variabilidade morfológica, com alta significância ($P < 0.01$) apresentada no teste de Mantel. Embora alguns estudos comprovem que as asas das abelhas e de insetos em geral são hidrofóbicas, facilitando o voo até sob orvalho (Watson, Watson & Cribb, 2017; Liang, Zhao & Yan, 2017), a pluviosidade pode interferir na atividade de forrageamento das abelhas. A precipitação pluviométrica elevada pode causar a interrupção ou a diminuição da atividade externa à colônia, alterando, conseqüentemente, a dinâmica populacional (Keppner & Jarau, 2016). Por outro lado, a precipitação torna as florestas mais densas e ricas em recursos

nutricionais, por isso, de forma geral, regiões úmidas proporcionam clima favorável às abelhas (*El-Niweiri & Moritz, 2011*).

A aproximação morfométrica entre as populações de São Paulo do Potengi, Apuiarés e as populações do Delta do Parnaíba (Cajueiro da Praia e Araisos) pode ser influenciada pela vegetação semelhante entre essas áreas. O teste de Mantel mostrou a correlação significativa entre forma da asa e bioma predominante em cada região. Em São Paulo do Potengi e em Apuiarés predomina a Caatinga, na APA a flora é muito diversa, sendo constituída por espécies da Caatinga, Cerrado, restingas e manguezais (*MMA, 2002*), inclusive, Cajueiro da Praia corresponde a uma área de transição entre Caatinga e Cerrado, sendo a Caatinga predominante (*Santos-Filho et al., 2016*). De modo geral, as abelhas-sem-ferrão dependem muito da composição florística da região onde suas colônias estão estabelecidas, pois elas têm alimentação muito restrita quando comparadas às abelhas *Apis*. E a morfometria geométrica já provou ser eficaz ao diferenciar populações de biomas diferentes. No gênero *Scaura*, essa técnica conseguiu distinguir populações da Floresta Amazônica e da Floresta Atlântica, auxiliando na identificação taxonômica de várias espécies (*Nogueira et al., 2019*).

Em melíponas, alguns estudos, assim como este, não encontraram correlação entre altitude \times forma da asa (*Lima et al., 2014; Prado-Silva et al., 2016*) nem isolamento por distância (*Kraus, Weinhold & Moritz, 2008; Miranda et al., 2017*). Embora seja óbvia a relação entre grandes distâncias geográficas e maior divergência genética em abelhas devido ao isolamento reprodutivo (*Bonatti et al., 2014; Lima et al., 2014*), o comércio e o transporte de ninhos podem diminuir os efeitos do isolamento por distância por meio do fluxo gênico.

Portanto, é importante reconhecer os recursos alimentares e os principais pontos de nidificação utilizados pela *M. subnitida* na Caatinga e na APA do Delta do Parnaíba, assim preservar as áreas remanescentes. A maior diversidade encontrada na população da APA confirma a importância das unidades de conservação para a manutenção da biodiversidade, garantindo a sintonia entre a conservação da natureza e o uso sustentável dos recursos naturais pelas comunidades que vivem nessas áreas protegidas.

Os melíponicultores têm papel fundamental para a conservação da vegetação nativa, pois a criação de abelhas-sem-ferrão pode auxiliar quando feita de forma criteriosa. O estabelecimento de caixas próximas às áreas fragmentadas pode contribuir para a restauração florestal, além disso, esta atividade pode reduzir o extrativismo do mel de colônias da natureza (*Zanella & Martins, 2003*). Sendo assim, quando a melíponicultura é realizada de forma sustentável, tanto a fauna quanto a vegetação nativa podem ser beneficiadas do ponto de vista da conservação.

Um bom plano de manejo para *M. subnitida* teria que considerar a distribuição original da espécie, o mapeamento de populações remanescentes, os fatores que colocam a espécie em risco e a necessidade de incentivar a criação racional (*Zanella & Martins, 2003*). A *M. subnitida*, que é referência no sertão nordestino, precisa ser valorizada não apenas pelo seu mel, mas também pela sua importância na polinização da vegetação nativa, garantindo a manutenção ecológica regional de forma significativa.

Conclusões

Existe diversidade entre e dentro das populações de *M. subnitida* estudadas. Não foi encontrado um padrão na variação morfométrica que seja específico para regiões semiáridas e litorâneas do Nordeste. A população de Araiões, localizada na APA do Delta do Parnaíba, apresenta a maior diversidade morfológica, confirmando a importância das unidades de conservação. A forma das asas é mais influenciada pelas variáveis ambientais do que o seu tamanho. Além disso, a pluviosidade anual média e a vegetação predominante estão correlacionadas com as variações da forma da asa.

Agradecimentos

Os autores agradecem a todos os meliponicultores que contribuíram com abelhas para o desenvolvimento deste estudo e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Referências

- 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*, v. 101, p. 17-24, 2014.
- CARNEIRO, L. S.; AGUIAR, C. M. L.; AGUIAR, W. M.; ANICETO, E. S.; NUNES, L. A.; FERREIRA, V. S. Morphometric Variability among Populations of *Euglossa cordata* (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) from Different Phytophysiognomies. *Sociobiology*, v. 66, n. 4, p. 575-581, 2019.
- CARVALHO, A. T.; MAIA-SILVA, C.; JAFFÉ, R.; SOUZA, B. R.; ZANELLA, F. C. V.; MARTINS, C. F.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. O.; KOEDAM, D.; ACOSTA, A. L.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GIANNINI, T. Distribuição geográfica atual da abelha jandaíra e previsões para sua distribuição futura. 2017. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M. (orgs). *A abelha jandaíra: no passado, presente e no futuro*. Mossoró: EdUFERSA, 2017, p. 72-78.
- COROIAN, C. O.; MUÑOZ, I.; SCHLÜNS, E. A.; PANITI-TELEKY, O. R.; ERLER, S.; FURDUI, E. M.; MĂRGHITAȘ L. A.; DEZMIREAN, D. S.; SCHLÜNS, H.; RÚA, P. D. L.; MORITZ, R. F. A. O clima, em vez da geografia, separa duas subespécies europeias de abelhas. *Molecular Ecology*, v. 23, n. 9, p. 2353-2361, 2014.
- DINIZ-FILHO, J. A. F.; BINI, L. M. Space-free correlation between morphometric and climatic data: a multivariate analysis of Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) in Brazil. *Global Ecology & Biogeography Letters*, v. 4, p. 195-202. 1994.

- DRAY, S.; DUFOUR, A. B. The ade4 package Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, v. 22, p. 1-20, 2007.
- EL-NIWEIRI, M. A. A.; MORITZ, R. F. A. Mating in the rain? Climatic variance for polyandry in the honeybee (*Apis mellifera jemenitica*). *Population Ecology*, v. 53, n. 3, p. 421–427, 2011.
- ENDORGAN, Y. Comparison of colony performances of honeybee (*Apis Mellifera L.*) housed in hives made of different materials. *Italian Journal of Animal Science*, v. 18, n. 1, p. 934–940, 2019.
- HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. Past: Paleontological Statistics Software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica*, v. 4, p. 1-9, 2001.
- INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Disponível em: http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=3895. Acesso em: 01 ago 2019.
- JAFFÉ, R.; POPE, N.; ACOSTA, A. L.; ALVES, D. A.; ARIAS, M. C.; RÚA, P. D. L.; FRANCISCO, F. O.; GIANNINI, T. C.; GONZÁLEZ-CHAVES, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; TAVARES, M. G.; JHA, S.; CARVALHEIRO, L. G. Beekeeping practices and geographic distance, not land use, drive gene flow across tropical bees. *Molecular Ecology*. v. 25, p. 5345-5358, 2016.
- JOMBART, T.; DEVILLARD, S.; DUFOUR, A. B.; PONTIER, D. Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. **Heredity**. V. 101, n. 1, p. 92-103, 2008.
- KEPPNER, E. M.; JARAU, S. Influence of climatic factors on the flight activity of the stingless bee *Partamona orizabaensis* and its competition behavior at food sources. *Journal of Comparative Physiology A*, v. 202, n. 9–10, p. 691–699, 2016.
- KLINGENBERG, C. P. Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. *Natural Reviews Genetics*, v. 11, p. 623-635, 2010.
- KLINGENBERG, C. P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, v. 11, p. 353-357, 2011.
- KRAUS, F. B.; WEINHOLD, S.; MORITZ, R. F. A. Genetic structure of drone congregations of the stingless bee *Scaptotrigona mexicana*. *Insectes Sociaux*, v. 55, p. 22-27, 2008.
- LIANG, Y.; ZHAO, J.; YAN, S. Honeybees have hydrophobic wings that enable them to fly through fog and dew. *Journal of Bionic Engineering*, v. 14, n. 3, p. 549–556, 2017.
- LIMA, C. B. S.; NUNES, L. A.; CARVALHO, C. A. L.; RIBEIRO, M. F.; SOUZA, B. A.; SILVA, C. S. B. 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.

LIMA, C. B. S.; NUNES, L. A.; RIBEIRO, M. F.; CARVALHO, C. A. L. Populaton Structure of *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) at the Southern Limit of its Distributon Based on Geometric Morphometrics of Forewings. *Sociobiology*, v. 61, n. 4, p. 478-482, 2014.

MARQUES, M. F.; MENEZES, G. B.; DEPRÁ, M. S.; DELAQUA, G. C. G.; HAUTEQUESTT, A. P.; MORAES, M. C. M. Polinizadores na agricultura: Ênfase em abelhas. GAGLIANONE, M. C. (coord). Rio de Janeiro: Funbio, 2015. 38p.

MIRANDA, E. A.; FERREIRA, K. M.; CARVALHO, A. T.; MARTINS, C. F.; FERNANDES, C. R.; LAMA, M. A. D. Pleistocene climate changes shaped the population structure of *Partamona seridoensis* (Apidae, Meliponini), an endemic stingless bee from the Neotropical dry forest. *PLoS ONE*, v. 12, n. 4, p. 1-13, 2017.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. 2002. Disponível em: https://www.mma.gov.br/estruturas/PZEE/_arquivos/baixopar_relatorio_completo. Acesso em: 10 out 2019.

NOGUEIRA, D. S.; TEIXEIRA, J. S. G.; MAHLMANN, T.; OLIVEIRA, M. L.; ROUBIK, D. W. Geometric morphometrics of wing venation to differentiates new species of *Scaura Schwarz* populations (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Scientia Plena*, v. 15, p. 1-2, 2019.

PRADO-SILVA, A.; NUNES, L. A.; ALVES, R. M. O.; CARNEIRO, P. L. S.; WALDSCHMIDT, A. N. Variation of fore wing shape in *Melipona mandacaia* Smith, 1863 (Hymenoptera, Meliponini) along its geographic range. *Journal of Hymenoptera Research*, v. 48, p. 85-94, 2016.

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: 09 jul 2018.

RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; PINTO, R. S.; BARBOSA, M. M.; SILVA, A. G. A abelha jandaíra no estado do Maranhão. 2017. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M. (orgs.). A abelha jandaíra: no passado, presente e no futuro. Mossoró: EdUFERSA, 2017, p. 79-86.

RIBEIRO, M. G.; AGUIAR, W. M.; NUNES, L. A.; CARNEIRO, L. S. Morphometric Changes in Three Species of Euglossini (Hymenoptera: Apidae) in Response to Landscape Structure. *Sociobiology*, v. 66, n. 2, p. 339-347, 2019.

ROHLF, F. J. tpsUtil, version 1.74. Departament of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, 2017a. Disponível em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. Acesso em: 10 jul 2018.

ROHLF, F. J. tpsDig, version 2.31. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, 2017b. Disponível em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. Acesso em: 10 jul 2018.

SANTOS-FILHO, F. S.; MESQUITA, T. K. S.; ALMEIDA JUNIOR, E. B.; ZICKEL, C. S. A flora de Cajueiro da Praia: uma área de tabuleiros do litoral do Piauí, Brasil. *Revista Equador*, n.5, n. 2, p. 21-35, 2016.

SILVA, G. R.; SOUZA, B. A.; LOPES, M. T. R.; VALENTE, S. E. S.; DINIZ, F. A. New molecular evidence for fragmentation between two distant populations of the threatened stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Journal of Hymenoptera Research*, v. 38, p. 1–9, 2014.

SILVA, T. M. S.; SANTOS, F. P.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S.; SILVA, G. S.; NOVAIS, J. S.; SANTOS, F. A. R.; CAMARA, C. A. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 29, p. 10-18, 2013.

SOUZA, F. S.; NUNES, L. A.; OLIVEIRA, E. J. F.; COSTA, M. A. P. C.; CARVALHO, C. A. L. Population variation and island effect in *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Apicultural Research*, v. 58, n. 1, p. 67-74, 2018.

VENDRUSCOLO, J.; MARIN, A. M. P.; DIAS, B. de O.; FELIX, A. dos A. C.; FERREIRA, K. R. Phytosociological survey of arboreous species in conserved and desertified areas in the semi-arid region of Paraíba, Brazil. *African Journal of Agricultural Research*, v. 12, n. 10, p. 805-814, 2017.

WATSON, G. S.; WATSON, J. A.; CRIBB, B. W. Diversity of Cuticular Microand Nanostructures on Insects: Properties, Functions, and Potential Applications. *Annual Review of Entomology*, v. 62, n. 1, p. 185–205, 2017.

ZANELLA, F.; MARTINS, C. 2003 Abelhas da Caatinga: Biogeografia, ecologia e conservação. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; CARDOSO, J. M. (eds). *Ecologia e conservação da Caatinga*, Recife: Editora Universitária da UFPE, p. 75-134.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figura S1 – Resíduos de Procrustes dos 10 marcos anatômicos marcados nos pontos de interseção das nervuras das asas anteriores direita de operárias de *Melipona subnitida*. Os pontos azuis correspondem à média dos resíduos de Procrustes e os pretos representam os resíduos.

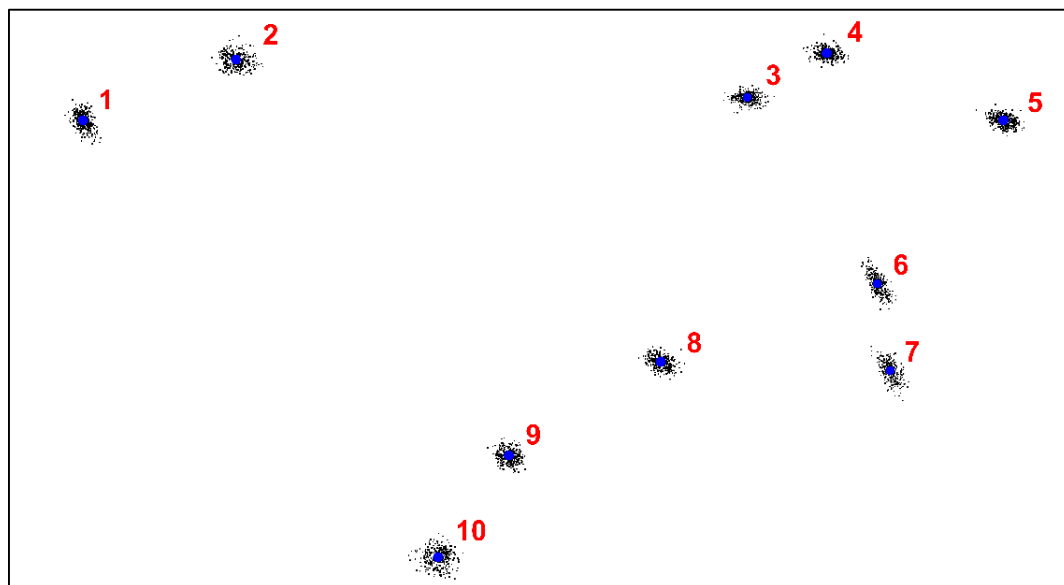
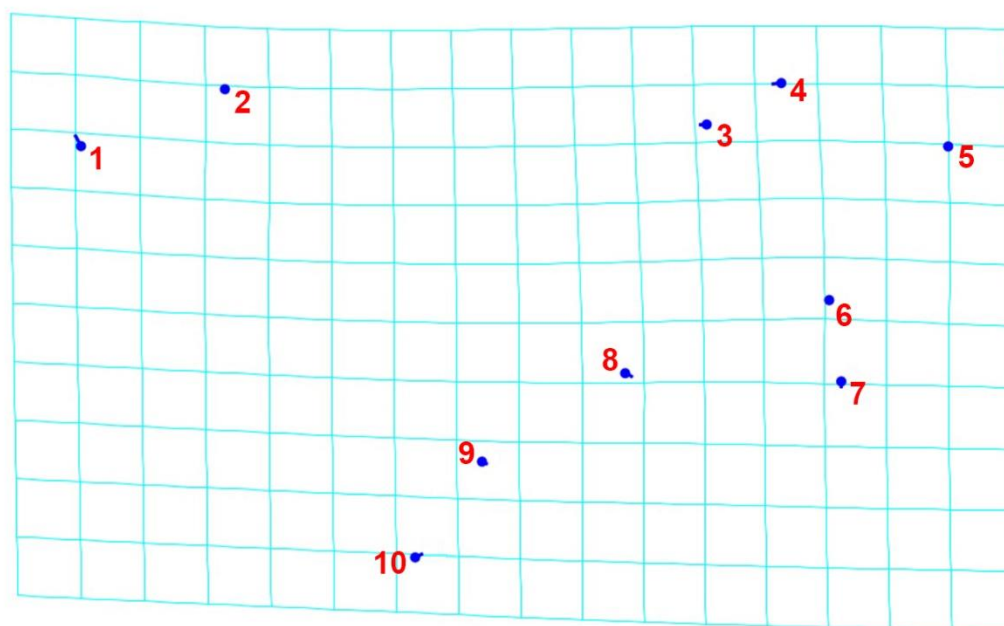


Figura S2 – Grades de deformação para variáveis canônicas obtidas a partir de marcos anatômicos da asa de sete populações de *Melipona subnitida*. **A:** forma para variável canônica 1 (CV1), lado positivo. **B:** Modificação da forma mostrada a partir da forma biológica (*outline* representada pela cor azul claro). Os marcos anatômicos são representados pelos pontos numerados.

A



B

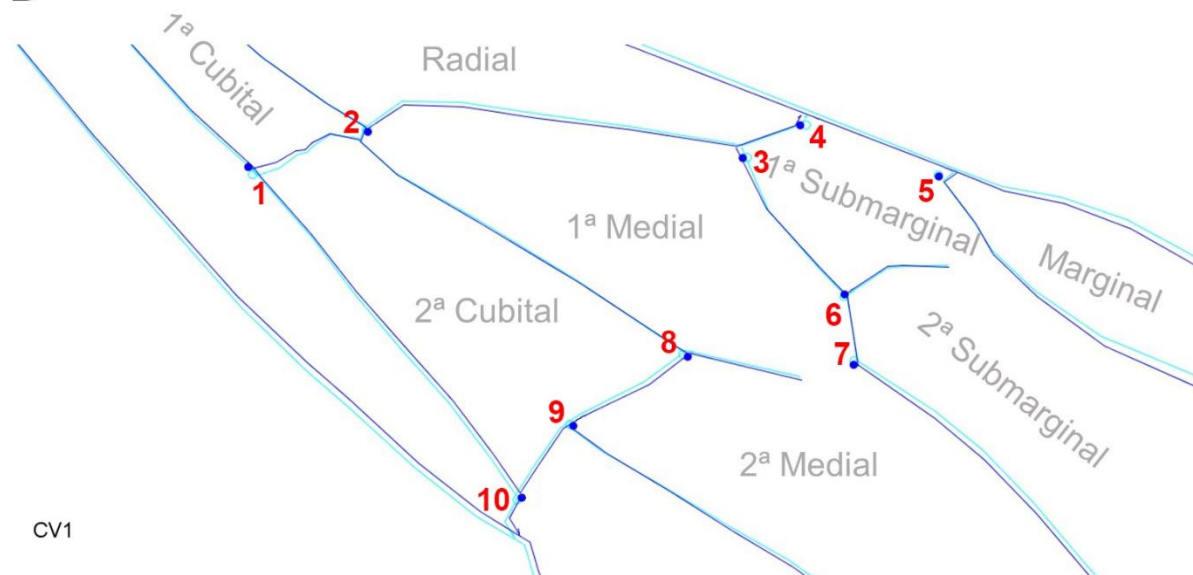


Figura S3 - Grades de deformação para variáveis canônicas obtidas a partir de marcos anatômicos da asa de sete populações de *Melipona subnitida*. **A:** forma para variável canônica 2 (CV2), lado positivo. **B:** Modificação da forma mostrada a partir da forma biológica (*outline* representada pela cor azul claro). Os marcos anatômicos são representados pelos pontos numerados.

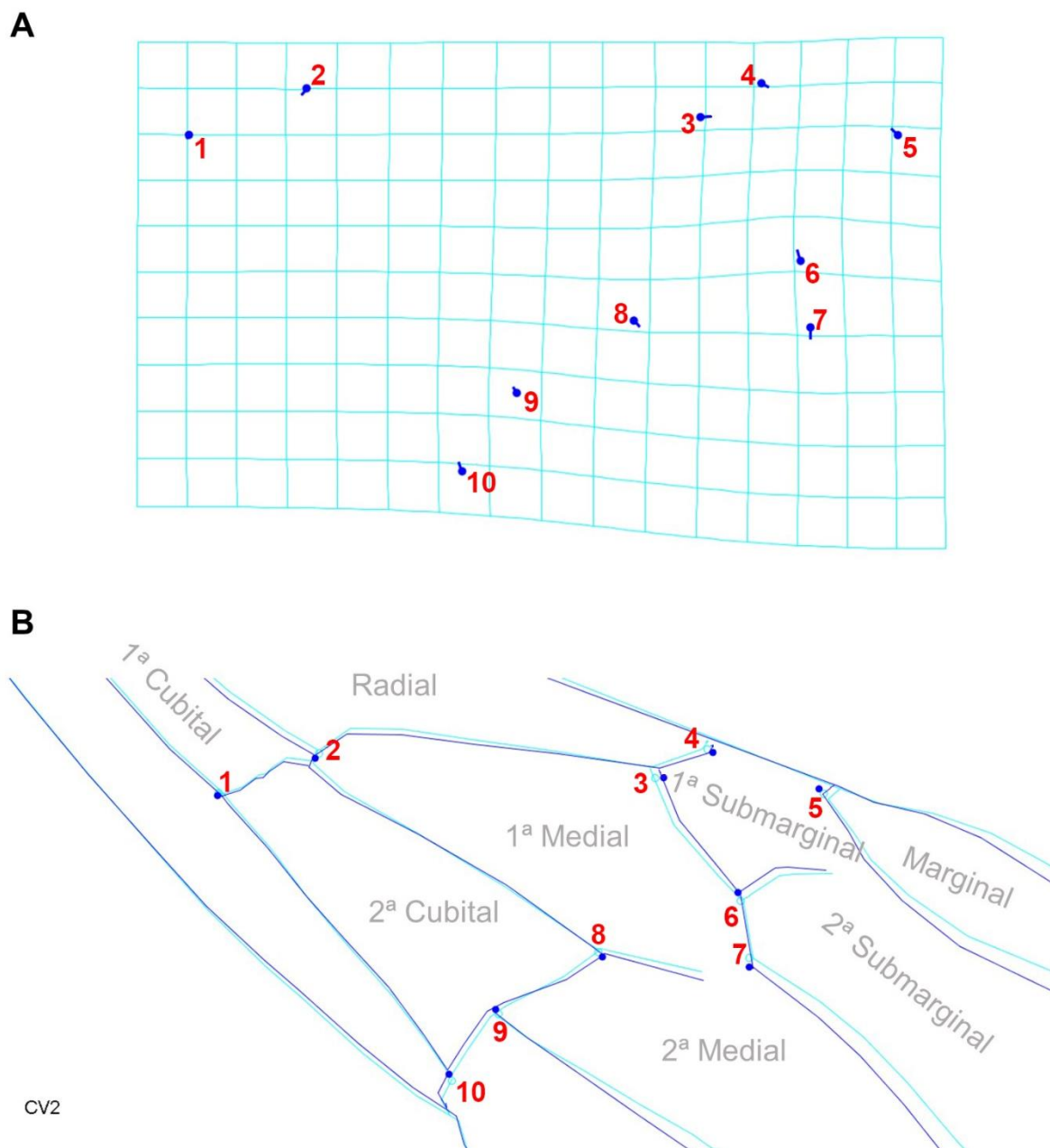


Tabela 1 – Variação dos seis eixos das variáveis canônicas obtidas a partir da forma da asa de sete populações de *Melipona subnitida*.

Variável canônica	Autovalores	Variância (%)	Variância acumulada (%)
1	6,86259559	50,616	50,616
2	2,93146862	21,621	72,237
3	1,55954335	11,503	83,74
4	1,10209801	8,129	91,869
5	0,56628096	4,177	96,045
6	0,53620218	3,955	100

CAPÍTULO 2

(Texto elaborado para submissão nos moldes da revista Neotropical Entomology – Normas no Anexo B da dissertação)

Assimetria Flutuante em *Melipona subnitida* Ducke Evidenciada em Área de Proteção Ambiental

VG Moura¹ (Orcid: 0000-0003-2692-3383)

GR Silva¹ (Orcid: 0000-0003-0378-1079)

LA Nunes² (Orcid: 0000-0002-7453-7666)

MTR Lopes³ (Orcid: 0000-0002-8814-1072)

BA Souza³ (Orcid: 0000-0003-3692-3993)

FM Pereira³ (Orcid: 0000-0001-6696-1726)

FB Britto¹ (Orcid: 0000-0002-5705-5374)

¹ Univ Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil

² Univ Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, BA, Brasil

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Meio-Norte, Teresina, PI, Brasil

Autores correspondentes:

Fábio Barros Britto

Universidade Federal do Piauí, Avenida Universitária, Teresina, Piauí, 64049550, Brazil

Email: fbbritto@ufpi.edu.br

Fábria de Mello Pereira

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Meio-Norte,

Av. Duque de Caxias, 5650, Teresina, Piauí, 64006-220, Brazil

Email: fabia.pereira@embrapa.br

Resumo

A abelha *Melipona subnitida* Ducke está distribuída em toda a região Nordeste do Brasil, mas há poucos estudos sobre a sua diversidade na Área de Proteção Ambiental (APA) do Delta do Parnaíba, uma unidade de conservação que permite um certo grau de ocupação humana. Para medir a qualidade ambiental é bastante utilizada a análise de assimetria flutuante. Ela pode

indicar instabilidade no desenvolvimento das abelhas causada por estresses ambientais. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a assimetria flutuante das asas em indivíduos de *Melipona subnitida* criados em meliponários da APA do Delta do Parnaíba. Foram coletados 246 espécimes, sendo 118 indivíduos mantidos em troncos na Ilha das Canárias (Araioses-MA) e 128 mantidos em caixas racionais em Cajueiro da Praia-PI. Foi observado efeito significativo da ANOVA de Procrustes ($p < 0,0001$) na interação individual \times lado, indicando que as populações da Ilha das Canárias e Cajueiro da Praia apresentam assimetria flutuante para tamanho do centroide e forma da asa. Por meio das coordenadas de Procrustes, verificou-se que as populações apresentam diferenças significativas ($p < 0,01$), sendo que os indivíduos da Ilha das Canárias são menos assimétricos que os de Cajueiro da Praia. Portanto, estes resultados indicam que as populações sofrem com o estresse ambiental, no entanto, as atividades de criação e manejo, assim como as perturbações ambientais provocadas direta ou indiretamente pelo homem em Cajueiro da Praia podem ser as principais causas de a assimetria flutuante ser maior nos indivíduos desta localidade.

Palavras-chave: Meliponini, abelha-sem-ferrão, jandaíra, meliponicultura, morfometria geométrica, conservação.

Introdução

A abelha-sem-ferrão *Melipona subnitida* Ducke, conhecida popularmente como jandaíra, ocupa todos os estados do Nordeste brasileiro. A espécie foi descoberta inicialmente em 1910, no município de Alcântara-MA (Ducke 1910), no entanto, todos os registros seguintes foram em áreas de Caatinga, por isso, ela foi considerada por muito tempo exclusiva desse bioma (Zanella & Martins 2003). Somente após 96 anos, a espécie foi redescoberta em áreas litorâneas (Rêgo &

Albuquerque 2006). Desde então, muitos esforços estão sendo realizados para identificar os sítios de nidificação e a diversidade genética das populações de *M. subnitida* nessas áreas.

Há registros de que a espécie está na Área de Proteção Ambiental (APA) do Delta do Parnaíba, no entanto, apenas um estudo foi realizado considerando sua distribuição e diversidade na APA (Silva *et al* 2014). Esta unidade de conservação ocupa os estados do Maranhão, Piauí e Ceará, sendo voltada para a proteção de riquezas naturais, permitindo a utilização racional dos recursos. Na APA, a *M. subnitida* já foi encontrada no município de Cajueiro da Praia - PI e na Ilha das Canárias, em Araisos – MA. Em ambas as localidades, ela é utilizada na meliponicultura para geração de renda (Fábria de Mello Pereira, comunicação pessoal).

Em Cajueiro da Praia, a criação de abelhas é bastante comum. Os produtores realizam a multiplicação de colônias e as mantêm em caixas racionais de madeira, utilizando técnicas de manejo mais sofisticadas. Na Ilha das Canárias, o manejo acontece de forma tradicional, as colônias são mantidas e criadas nos troncos de árvores retirados da natureza e não passam por divisão artificial. As atividades na região são típicas da cultura extrativista do mel, bastante comum no Nordeste, podendo levar a perda de colônias da natureza (Zanella & Martins 2003).

O transporte de colônias, embora seja importante para o aumento da produção de mel e da polinização, pode causar consequências negativas para a diversidade de abelhas, principalmente quando a espécie não ocorre naturalmente na região (Jaffé 2018). Esse processo aumenta a transmissão de patógenos para outras populações (Menezes *et al* 2009) e pode ser capaz de causar competição entre espécimes nativos e exóticos por espaço e recursos florais (Dupont *et al* 2003; Moritz *et al* 2005). As caixas racionais, quando não confeccionadas de maneira adequada, também levam a impactos negativos nas colônias. É importante que elas apresentem tamanho e arquitetura apropriados e que correspondam à biologia da espécie (Venturieri *et al* 2003).

O tamanho da área e a disponibilidade dos recursos alimentares são fatores que também influenciam na variabilidade das abelhas. Populações que estão em áreas maiores e mais conservadas tendem a apresentar uma variabilidade genética favorável para a sobrevivência da espécie, diferente de populações de fragmentos continentais ou regiões insulares que sofrem com as barreiras geográficas (Souza *et al* 2018).

Estudos genéticos e morfométricos já foram realizados em populações de *M. subnitida* com a finalidade de identificar as mudanças fenotípicas, seja em decorrência da sobrevivência em ilha (Souza *et al* 2018) ou quando criadas e mantidas em caixas racionais e cortiços (Lima *et al* 2016). A compreensão de como estas abelhas vêm mudando ao longo dos anos e a identificação dos fatores que levam a estas mudanças é de suma importância para a conservação desses polinizadores.

A morfometria geométrica da asa, cabeça, tarso, corbícula, entre outras estruturas das abelhas, está sendo muito utilizada para identificar os fatores que levam à variabilidade de forma e tamanho. Entre as análises morfométricas, está a assimetria flutuante (AF), uma ferramenta utilizada em estudos com animais e plantas (Palmer & Strobeck 1986). A assimetria flutuante de um caráter bilateral é representada pelas pequenas diferenças entre os lados direito e esquerdo devido aos processos aleatórios durante o desenvolvimento da estrutura, sendo muito utilizada para a avaliação das respostas biológicas frente às mudanças ambientais. Como o desenvolvimento dos dois lados é controlado pelos mesmos genes, o grau de assimetria indica influências bióticas e/ou abióticas no caráter (Klingenberg 2015).

A presença das diferenças entre os lados pode indicar a instabilidade e plasticidade do fenótipo, podendo ser correlacionada com a exposição ao estresse ambiental, endogamia, hibridização ou outras condições adversas. O uso da morfometria geométrica para o estudo da assimetria flutuante forneceu novos métodos de abordagem, possibilitando a integração de formas

a partir dos marcos anatômicos, o que não era permitido com a morfometria tradicional (Palmer & Strobeck 1986).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a assimetria flutuante das asas direita e esquerda em indivíduos de *Melipona subnitida* criados em meliponários da Ilha das Canárias, município de Araisos-MA, e do município de Cajueiro da Praia-PI, na tentativa de identificar possíveis estresses adaptativos que ocorrem na APA do Delta do Parnaíba.

Material e métodos

Amostragem

Foram coletados 246 espécimes de *M. subnitida* de dois meliponários da APA do Delta do Parnaíba (Tabela 1 e Fig 1). Sendo 118 indivíduos mantidos em troncos na Ilha das Canárias, no município de Araisos-MA, e 128 mantidos em caixas racionais de diferentes modelos, em Cajueiro da Praia-PI. As amostras foram conservadas em álcool 95% e armazenadas a -20°C.

Tabela 1 Amostragem, coordenadas geográficas e altitude dos municípios de coleta de operárias de *Melipona subnitida* na Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba, Nordeste do Brasil.

Município - Estado	Número de indivíduos	Número de colônias	Coordenadas geográficas	Altitude
Araisos - MA	118	12	02° 44' 42,4" S; 41° 59' 04,1" W	10m
Cajueiro da Praia – PI	128	13	02° 56' 30" S; 41° 21' 00" W	10m
TOTAL	246	25		

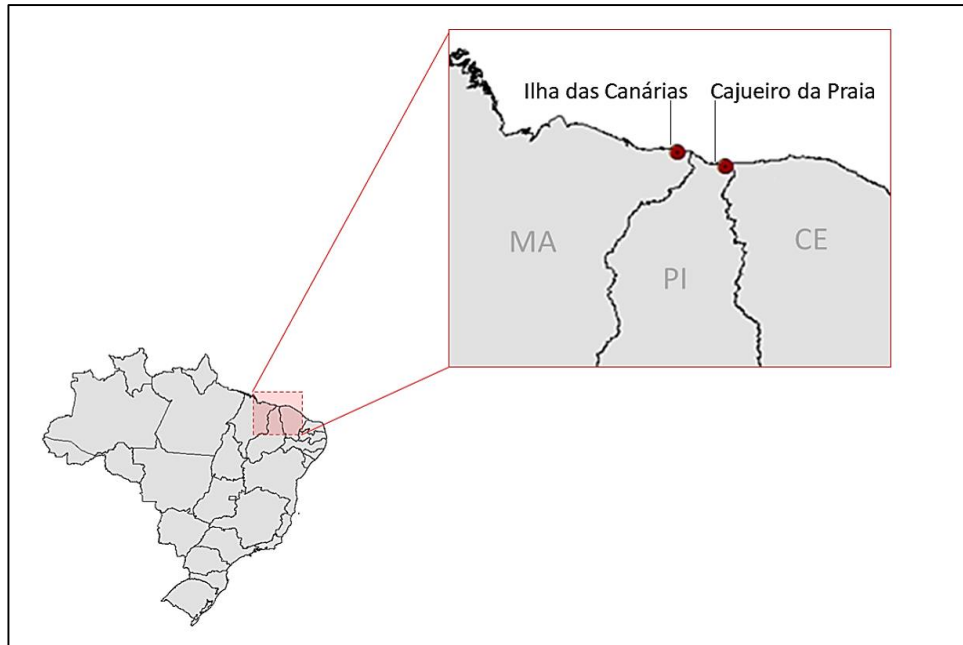


Fig 1 Locais de coleta de *Melipona subnitida* na Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba, Nordeste do Brasil.

Morfometria geométrica das asas

As asas anteriores direita e esquerda de todas as abelhas operárias foram removidas com pinça e distendidas entre lâmina e lamínula para o registro das imagens. As asas foram fotografadas com câmera digital acoplada a estereomicroscópio *Nikon SMZ 745T* para a assimetria flutuante. As imagens foram transformadas em arquivos TPS pelo *software tpsUtil v. 1.4* (Rohlf 2017a). Em seguida, foram inseridos 10 marcos anatômicos por meio do *software tpsDig v. 2.31* (Rohlf 2017b) (Fig 2). As asas esquerdas foram invertidas para ficarem na mesma posição das asas direitas, de modo a facilitar a disposição dos marcos. Para identificar o erro de medição, todas as amostras foram marcadas em duplicatas (Palmer 1994).

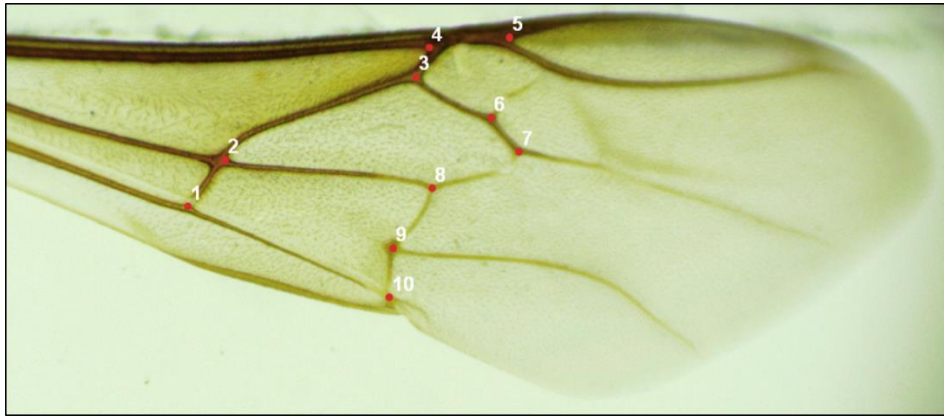


Fig 2 Marcos anatômicos da asa anterior direita de operária de *Melipona subnitida* para análise de assimetria flutuante.

Utilizando o *software* MorphoJ v.1.03 (Klingenberg 2011) foi avaliada a variação de forma e de tamanho do centroide por meio da ANOVA de Procrustes. Nesta análise, o tamanho do centroide e a forma das asas são considerados independentes, o lado do corpo como efeito fixo e os indivíduos como efeito aleatório. Logo, a variação individual correspondeu ao efeito do indivíduo e a assimetria ao efeito do lado.

Para identificar o valor de F para os efeitos do lado e dos indivíduos, foi utilizado como denominador a interação lado \times individual. E para a obtenção do valor de F para lado \times individual, foi utilizada a medida do erro como denominador (Klingenberg & McIntyre 1998).

A partir desses dados, foi realizada uma nova ANOVA no programa PAST v. 3.18 (Hammer *et al* 2001) utilizando as distâncias de Procrustes para avaliar a ocorrência e o nível de assimetria entre as colônias localizadas na Ilha das Canárias e as coletadas no município de Cajueiro da Praia. Para verificar qual população é mais assimétrica, foi utilizado o gráfico boxplot produzido também pelo PAST.

Resultados

O efeito da ANOVA significativo ($p < 0,0001$) na interação individual \times lado indica que as populações da Ilha das Canárias e Cajueiro da Praia apresentam assimetria flutuante para tamanho

do centroide e forma da asa (Tabelas 2 e 3). A variação significativa do lado indica que há também assimetria direcional ($p < 0,0001$) nas duas características de ambas as localidades.

Tabela 2 Análise de variância (ANOVA) de Procrustes do tamanho do centroide e da forma da asa de colônias de *Melipona subnitida* de Cajueiro da Praia – PI.

	Efeito	SQ	QM	GL	F	P (Param.)
Tamanho do centroide	Individual	188611,28	1485,13	127	3,06	<0,0001
	Lado	1738657,25	1738657,25	1,00	3582,58	<0,0001
	Individual × Lado	61634,16	485,31	127	364,26	<0,0001
	Erro	341,08	1,332325	256		
	Efeito	SQ	QM	GL	F	P (Param.)
Forma	Individual	0,20479265	0,0001007838	2032	5,09	<0,0001
	Lado	0,01315615	0,0008222593	16	41,49	<0,0001
	Individual × Lado	0,04027057	0,0000198182	2032	7,93	<0,0001
	Erro	0,01023681	0,0000024992	4096		

Tabela 3 Análise de variância (ANOVA) de Procrustes do tamanho do centroide e da forma da asa de colônias de *Melipona subnitida* da Ilha das Canárias.

	Efeito	SQ	QM	GL	F	P (Param.)
Tamanho do centroide	Individual	156661,10	1338,98	117	4,67	<0,0001
	Lado	1550709,15	1550709,18	1,00	5411,59	<0,0001
	Individual × Lado	33526,75	286,55	117	126,86	<0,0001
	Erro	533,09	2,26	236		
	Efeito	SQ	QM	GL	F	P (Param.)
Forma	Individual	0,170047	0,00009084	1872	5,54	<0,0001
	Resíduo	0,013775	0,00086096	16	52,48	<0,0001
	Individual × Lado	0,030712	0,00001641	1872	7,39	<0,0001
	Erro	0,00838539	0,0000022207	3776		

Comparando as duas populações de abelhas, observa-se que os indivíduos de Cajueiro da Praia são mais assimétricos que os da Ilha das Canárias (Fig 3). As duas populações apresentam diferenças significativas ($p < 0,01$) (Tabela 4).

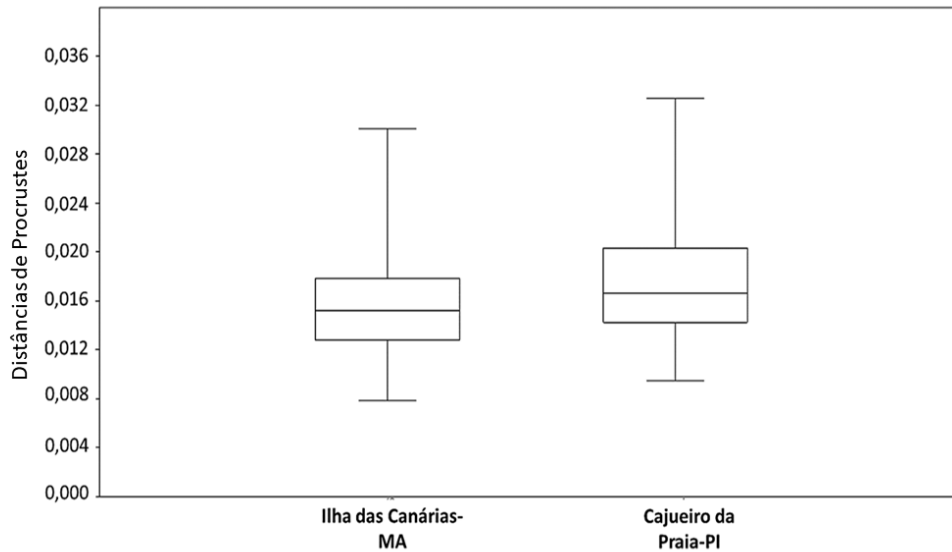


Fig 3 Variação de assimetria flutuante entre as populações de *Melipona subnitida* da Ilha das Canárias – MA e Cajueiro da Praia – PI.

Tabela 4 Análise de variância (ANOVA) da análise de assimetria flutuante de populações de *Melipona subnitida* comparando amostras dos habitats das Ilha das Canárias – MA com Cajueiro da Praia – PI.

Efeito	SQ	QM	GL	F	P (Param.)
Habitat	0,0001583	0,0001583	1	9,413	<0,01
Indivíduos	0,0041028	1,68146E-05	244		

Discussão

A assimetria flutuante encontrada para as amostras da APA do Delta do Parnaíba sugere que as populações sofrem estresse durante a ontogenia, sendo que o manejo das colônias e as atividades antrópicas podem ser as principais causas. Foi observado que a assimetria flutuante é

maior nas colônias de Cajueiro da Praia. Resultados semelhantes também foram encontrados em outras populações de *M. subnitida* (Lima *et al* 2016) e em *Apis mellifera* (Nunes *et al* 2015) de outras localidades, que apresentaram assimetria flutuante e direcional nas asas. A assimetria direcional é caracterizada pela tendência de um dos lados ser maior na maioria dos indivíduos de uma população, sendo que ela é geneticamente determinada e mais comum do que se espera, podendo estar relacionada com a posição da larva, pré-pupa e pupa (Smith *et al* 1997).

O tipo de moradia escolhido para as abelhas é um fator que pode influenciar o seu desenvolvimento. Tanto as caixas como os troncos podem gerar estresse quando fora dos padrões de exigência biológica das espécies. Comparando-se as populações amostradas no presente trabalho, a maior assimetria flutuante na população de Cajueiro da Praia pode ter ocorrido em decorrência de vários fatores, como a criação e manejo das abelhas em caixas, o desmatamento e a antropização na região. As colônias mantidas em troncos sofrem mais com a poluição, variação de temperatura e escassez de recursos alimentares, enquanto que as mantidas em caixas sofrem com a frequência de abertura das colmeias para alimentação artificial e colheita de mel (Kerr *et al* 1996). As caixas precisam ser adequadas de modo a não influenciar o desenvolvimento das abelhas nem o desempenho das colônias (Venturieri *et al* 2003; Endorgan 2019). No grupo dos meliponíneos, existe uma grande variedade de tamanho de ninhos, a caixa ideal deve ser compatível com a espécie de abelha, com o objetivo da criação (se é para subsistência ou comercialização) e com o clima da região. A caixa deve ser um ambiente semelhante ou melhor que o local onde as abelhas foram capturadas (Witter & Nunes-Silva 2014).

Embora as populações insulares tenham maior tendência de se tornarem menores ou maiores que seus parentes próximos do continente (Lomolino *et al* 2005), possivelmente este não foi um fator que levou a assimetria nas populações da Ilha das Canárias. É importante mencionar que esta é uma ilha continental, não se isolando a distâncias superiores à capacidade de voo de *M.*

subnitida. Em abelhas *Merodon albifrons* foi observado um mesmo padrão no desenvolvimento em populações insulares próximas ao continente e populações do continente (Ludoski *et al* 2012).

Além da caixa precisar ser adequada, o manejo das colônias precisa ser correto. O meliponicultor de Cajueiro da Praia, rotineiramente, realiza a divisão de colônias de *M. subnitida*. De forma geral, a divisão consiste em multiplicar as colônias, nesse processo todos os elementos de uma colônia forte (abelhas, favos de cria e alimento) são divididos em duas caixas, sendo uma a colônia-mãe e a outra a colônia-filha (Villas-Bôas 2012). Essa multiplicação artificial de colônias é um mecanismo importante para a conservação das abelhas-sem-ferrão, possibilitando também a comercialização para outros criadores e centros de pesquisa. No entanto, existem métodos específicos de divisão para cada espécie de abelha. Quando a divisão não ocorre de forma adequada, o novo enxame pode não se recuperar e até não sobreviver. Por isso, foi idealizado um método de divisão de enxames com “perturbação mínima”, sendo bastante simples, realizado em curto tempo, propiciando a recuperação rápida das colônias e a menor incidência de pragas (Venturieri *et al* 2003).

As perturbações no desenvolvimento das abelhas também podem ser causadas pela captura ou transferência das colônias; o transporte de colônias pode levar microrganismos exóticos de um ambiente para outro. Em colônias de *Tetragonisca angustula* e *Frieseomelitta varia* criadas em meliponários ocorreu infestação por ácaros após transferência do habitat natural para caixas racionais, parte das larvas e pupas morreram devido à infestação (Menezes *et al* 2009). Em *Apis*, já foi verificado que o parasitismo pode afetar o padrão de venação das asas normais, causando o aumento da assimetria flutuante (Abou-Shaara & Al-Ghamdi 2012). E durante o desenvolvimento ontogenético existe uma magnitude de movimento das nervuras das asas, logo, qualquer perturbação nesse estágio pode levar às variações de forma ou tamanho (Sturtevant & Bier 1995).

No estudo de Lima *et al* (2016), também foi encontrada assimetria flutuante na forma das asas de abelhas *M. subnitida* mantidas em caixas. Para eles, a temperatura pode ter sido um fator influente para a presença de variação morfométrica. Contudo, a temperatura não é um fator determinante para os indivíduos coletados na Ilha das Canárias e em Cajueiro da Praia, pois essas regiões apresentam variações de temperatura anual semelhantes, variando de 25 a 33 °C, embora diferenças significativas no formato das asas de insetos, principalmente da ordem Diptera, já tenham sido relacionadas à temperatura (Alves *et al* 2016; Chursina *et al* 2017).

A Ilha das Canárias e Cajueiro da Praia são caracterizadas pela mesma tipificação climática, tropical com inverno seco (Aw). Embora sejam encontradas espécies vegetais nativas da Caatinga nas duas regiões do Delta do Parnaíba, na região de Cajueiro da Praia predominam os tabuleiros Costeiros Orientais, onde a vegetação nativa é a restinga, enquanto que na Ilha das Canárias estão os manguezais (MMA 2002). Em várias espécies de abelhas e outros insetos já foi observado que a vegetação característica de cada região e a abundância de alimento podem influenciar a variação morfológica (Bai *et al* 2015; Carneiro *et al* 2019; Ribeiro *et al* 2019). Na Ilha, a disponibilidade de recursos florais acontece o ano inteiro, isso pode resultar em menos estresse para as abelhas, que não precisam forragear longe das colônias. Além disso, toda a Ilha das Canárias faz parte da Área de Preservação Permanente, definida em leis do código florestal, e somente uma pequena parte de Cajueiro da Praia está nessa área de proteção (MMA 2002). Essas leis são importantes por controlarem as atividades de agropecuária e a utilização dos recursos naturais, preservando a natureza, o valor científico e histórico da região. Embora Cajueiro da Praia faça parte da APA do Delta do Parnaíba, ela sofre mais com a pecuária extensiva e de subsistência, apresentando também extrativismo vegetal (MMA 2002).

Essas atividades aliadas à urbanização são as principais causas do desmatamento. A remoção da vegetação nativa prejudica as abelhas pela perda de recursos florais e locais para

nidificação, gerando muito estresse para as colônias (Kremen *et al* 2004). Em populações da abelha-sem-ferrão *Nannotrigona testaceicornis* foi verificado o impacto do desmatamento e da fragmentação de habitat sobre a variabilidade genética da espécie, identificando heterozigosidade abaixo do esperado e estruturação populacional (Fonseca *et al* 2017). Um estudo também com *N. testaceicornis* identificou menor variabilidade no padrão morfológico das asas em grupos localizados em áreas urbanas quando comparados com grupos de habitats naturais, provavelmente porque existe um maior número de colônias na natureza, conseqüentemente, maior variabilidade nessas áreas (Mendes *et al* 2007).

Para resistir à fragmentação, os organismos têm como alternativas a adaptação genética ou a plasticidade fenotípica. No caso das abelhas, que são muito dependentes de florestas, o desmatamento faz com que elas procurem alimento cada vez mais longe, enfrentando gradientes de temperatura e umidade. Em espécies de *Euglossini* foi observado o efeito da paisagem sobre a forma das asas, nesse estudo, foi encontrado que os Sistemas Agroflorestais, mesmo buscando a sustentabilidade, influenciam significativamente a morfologia dessas abelhas (Ribeiro *et al* 2019).

Dessa forma, a análise de assimetria flutuante é também uma boa indicadora do grau de antropização ambiental. O município de Cajueiro da Praia é mais desenvolvido que a Ilha das Canárias, então a maior atividade antrópica na região pode causar mais estresse às abelhas. Isso também foi observado em *Apis mellifera*, onde as colônias coletadas em áreas mais perturbadas por ações humanas apresentaram maior assimetria flutuante na forma das asas (Nunes *et al* 2015; Leonard *et al* 2018).

Na região Neotropical existem muitas ameaças às abelhas nativas, todas relacionadas direta ou indiretamente a atividades humanas. Entre essas ameaças, além do desmatamento, estão a caça predadora de mel, a introdução de espécies exóticas e o uso intensivo de herbicidas e pesticidas (Freitas *et al* 2009).

Em Cajueiro da Praia, predomina a agricultura de subsistência, com mais de 2.700 hectares de área plantada, com culturas como milho, feijão e mandioca. Cerca de 20% dos agricultores afirmam utilizar agrotóxicos em suas plantações (IBGE 2018). Esses dados não foram encontrados para a Ilha das Canárias, mas por ela estar em uma área de preservação permanente, a agricultura é menos desenvolvida.

Embora este trabalho não tenha testado o efeito dos pesticidas sobre a *M. subnitida*, não podemos descartar que o uso de agrotóxicos em Cajueiro da Praia pode aumentar a assimetria flutuante, visto que vários trabalhos constataram o efeito negativo desses produtos em várias espécies de abelhas. Um estudo em ambiente controlado identificou que as abelhas-sem-ferrão são mais sensíveis a inseticidas que as abelhas africanizadas (Tomé *et al* 2017). Em *Melipona quadrifasciata anthidioides* foi encontrado que as abelhas que se alimentaram de plantas contaminadas por inseticidas apresentaram assimetria flutuante maior, indicando que esses compostos podem afetar o desenvolvimento morfológico da espécie (Prado-Silva *et al* 2018).

Portanto, existem diferentes fatores ambientais que podem ter causado estresse ao desenvolvimento das populações de *M. subnitida* estudadas. Estudos direcionados para a identificação desses fatores são muito importantes para a implementação de programas de conservação da espécie. Além disso, a região do Delta do Parnaíba é formada por diferentes biomas, sendo Caatinga ao leste, Cerrado ao Sul-Oeste e sistemas marinhos ao Norte. Essa configuração complexa torna mais importante ainda a sua conservação. A grande biodiversidade, endemismo e perda de habitat para atividades de agropecuária e aquicultura justifica a tomada de estratégias para que esse patrimônio não seja perdido.

Conclusões

Foi encontrada assimetria flutuante significativa para tamanho do centroide e forma das asas de *Melipona subnitida* de Cajueiro da Praia e da Ilha das Canárias, sendo que as colônias de Cajueiro da Praia são mais assimétricas, possivelmente, devido aos estresses causados pela criação de abelhas em caixas racionais inadequadas, forma de alimentação e divisão de colônias que causam perturbações no desenvolvimento das abelhas, além das atividades antrópicas na região.

Agradecimentos

Os autores agradecem a todos os meliponicultores que contribuíram com abelhas para o desenvolvimento deste estudo e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Contribuição dos autores

Todos os autores contribuíram para a concepção e delineamento do estudo. A preparação do material e a coleta de dados foram realizadas por Vanessa Gomes de Moura e Geice Ribeiro da Silva. Os dados foram analisados por Vanessa Gomes de Moura, Lorena Andrade Nunes, Geice Ribeiro da Silva e Fábio Barros Britto. O primeiro rascunho do manuscrito foi escrito por Vanessa Gomes de Moura, Fábio Barros Britto e Fábria de Mello Pereira, e todos os autores comentaram as versões anteriores do manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

REFERÊNCIAS

Abou-Shaara HF, Al-Ghamdi AA (2012) Studies on wings symmetry and honey bee races discrimination by using standard and geometric morphometrics. *Biotechnology in Animal Husbandry* 28(3):575-584. Doi: 10.2298/BAH1203575A

- Alves VM, Moura MO, Carvalho CJB (2016) Wing shape is influenced by environmental variability in *Polytina orbitalis* (Stein) (Diptera: Muscidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 60:150-156. Doi: 10.1016/j.rbe.2016.02.003
- Bai Y, Ma LB, Xu S-Q, Wang G-H (2015) A geometric morphometric study of the wing shapes of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) from the Qinling Mountains and adjacent regions: An environmental and distance-based consideration. *Florida Entomologist* 98(1): 162-169. Doi: 10.1653/024.098.0128
- Carneiro LS, Aguiar CML, Aguiar WM, Aniceto ES, Nunes LA, Ferreira VS (2019) Morphometric Variability among Populations of *Euglossa cordata* (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) from Different Phytophysiognomies. *Sociobiology* 66(4):575-581. Doi: 10.13102/sociobiology.v66i4.4675
- Chursina MA, Solodskih OY, Negrobov OP (2017) Intraspecific variation in wing shape of *Dolichopus plumipes* (Diptera, Dolichopodidae). *Acta entomologica serbica* 22:91-98. Doi: 10.5281/zenodo.809191
- Ducke A (1910) Contribution a connaissance de la faune hyménoptérologique du Nord-Est du Brésil. *Revue d' Entomologie, Caen*, pp 28 – 92
- Dupont YL, Hansen DM, Valido A, Olesen JM (2003) Impact of introduced honey bees on native pollination interactions of the endemic *Echium wildpretii* (Boraginaceae) on Tenerife, Canary Islands. *Biological Conservation* 118(3):301-311. Doi: 10.5167/uzh-61378
- Endorgan Y (2019) Comparison of colony performances of honeybee (*Apis Mellifera* L.) housed in hives made of different materials. *Italian Journal of Animal Science* 18(1):934–940. Doi: 10.1080/1828051X.2019.1604088
- Fonseca AS, Oliveira EJJ, Freitas GS, Assis AF, Souza CCM, Contel EPB, Soares AEE (2017) Genetic Diversity in *Nannotrigona testaceicornis* (Hymenoptera: Apidae) Aggregations in Southeastern Brazil. *Journal of Insect Science* 17(1):1–6. Doi: 10.1093/jisesa/iew101
- Freitas BM, Imperatriz-Fonseca VL, Medina LM, Kleinert AMP, Galetto L, Nates-Parra G, Quezada-Euan JJG (2009) Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. *Apidologie* 40:332–346. Doi: 10.1051/apido/2009012
- Hammer O, Harper DAT, Ryan PD (2001) Past: Paleontological Statistics Software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4:1–9
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal (2018). <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pi/cajueiro-da-praia/pesquisa/14/10193> Acessado 24 out 2019
- Jaffé R (2018) Influência do transporte de colmeias sobre a estrutura genética das populações de abelhas. In: NETO AV, MENEZES C (Orgs) Desafos e recomendações para o manejo e o transporte de Polinizadores, A.B.E.L.H.A, São Paulo, pp 39-47

- Kerr WE, Carvalho GA, Nascimento VA. (1996). *Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação*. Fundação acangau, Belo Horizonte, p 154
- Klingenberg CP (2015) Analyzing Fluctuating Asymmetry with Geometric Morphometrics: Concepts, Methods, and Applications. *Symmetry* 7: 843-934. Doi:10.3390/sym7020843
- Klingenberg CP (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11:353-357. Doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x
- Klingenberg CP, McIntyre GS (1998) Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* 52:1363-1375. Doi: 10.1111/j.1558-5646.1998.tb02018.x.
- Kremen C, Williams NM, Bugg RL, Fay JP, Thorp RW (2004) The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters* 7:1109–1119. Doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00662.x
- Leonard RJ, Wat KKY, McArthur C, Hochuli, DF (2018) Urbanisation and wing asymmetry in the western honey bee (*Apis mellifera*, Linnaeus 1758) at multiple scales. *PeerJ* 6:e5940 Doi: 10.7717/peerj.5940
- Lima CBS, Nunes LA, Carvalho CAL, Ribeiro MF, Souza BA, Silva CSB (2016) Morphometric differences and fluctuating asymmetry in *Melipona subnitida* Ducke 1910 (Hymenoptera: Apidae) in different types of housing. *Brazilian Journal of Biology* 76(4):845-850. Doi: 10.1590/1519-6984.01015
- Lomolino MV, Riddle BR, Brown JH (2005) *Biogeography*, Sinauer, Sunderland, pp 230-255
- Ludoski J, Djurakic M, Stahls G, Milankov V (2012) Patterns of asymmetry in wing traits of three island and one continental population of *Merodon albifrons* (Diptera, Syrphidae) from Greece. *Evolutionary Ecology Research* 14:933-950
- Mendes MFM, Franco TM, Nunes-Silva P, Menezes C, Imperatriz-Fonseca VL (2007) intra-population variability of *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836 (hymenoptera, meliponini) using relative warp analysis. *Bioscience Journal* 23:147- 152.
- Menezes C, Coletto-Silva A, Gazeta GS, Kerr WE (2009) Infestation by *Pyemotes tritici* (Acari, Pyemotidae) causes death of stingless bee colonies (Hymenoptera: Meliponina). *Genetics and Molecular Research* 8(2):630-634. Doi: 10.4238/vol8-2kerr021
- Moritz RFA, Hartel S, Neumann P. (2005) Global invasions of the western honeybee (*Apis mellifera*) and the consequences for biodiversity. *Ecoscience* 12:289-301. Doi: 10.2980/i1195-6860-12-3-289.1
- MMA. Ministério do Meio Ambiente (2002). https://www.mma.gov.br/estruturas/PZEE/_arquivos/baixopar_relatorio_completo. Acessado 10 out 2019

- Nunes LA, Araújo ED, Marchini LC (2015) Fluctuating asymmetry in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) as bioindicator of anthropogenic environments. *Revista de Biología Tropical* 63(3):673-682. Doi: 10.15517/rbt.v63i3.15869
- Palmer AR (1994) Fluctuating asymmetry analyses. In: Markow TA (ed) *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*. Kluwer, Dordrecht, Netherlands, pp 335-364
- Palmer AR, Strobeck C (1986) Fluctuating asymmetry: Measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 91-421.
- Prado-Silva A, Nunes LA, Santos JM, Afonso PRAM.; Waldschmidt AM (2018) Morphogenetic Alterations in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae) Associated with Pesticides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 74(4):627-632. Doi: 10.1007/s00244-018-0509-y
- Rêgo MMC, Albuquerque P (2006) Redescoberta de *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) nas Restingas do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Barreirinhas, MA. *Neotropical Entomology* 35(3):416 – 417. Doi: 10.1590/S1519-566X2006000300020
- Ribeiro MG, Aguiar WM, Nunes LA, Carneiro LS (2019) Morphometric Changes in Three Species of Euglossini (Hymenoptera: Apidae) in Response to Landscape Structure. *Sociobiology* 66(2):339-347. Doi: 10.13102/sociobiology.v66i2.3779
- Rohlf FJ (2017a) tpsUtil, version 1.74. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. Acessado 10 jul 2018
- Rohlf F (2017b). tpsDig, version 2.31. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. Acessado 10 jul 2018
- Silva GR, Souza BA, Lopes MTR, Valente SES, Diniz FA (2014) New molecular evidence for fragmentation between two distant populations of the threatened stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Journal of Hymenoptera Research* 38:1–9. Doi: 10.3897/JHR.38.7302
- Souza FS, Nunes LA, Oliveira EJJ, Costa MAPC, Carvalho CAL (2018) Population variation and island effect in *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Apicultural Research* 58(1):67-74. Doi: 10.1080/00218839.2018.1494920
- Smith DR, Crespi BJ, Bookstein FL (1997) Fluctuating asymmetry in the honey bee, *Apis mellifera*: effects of ploidy and hybridization. *Journal of Evolutionary Biology* 10(4):551-574. Doi: 10.1046/j.1420-9101.1997.10040551.x
- Sturtevant MA, Bier E (1995) Analysis of the genetic hierarchy guiding wing vein development in *Drosophila*. *Development* 121(2):785–801.

Tomé HVV, Ramos GS, Araújo MF, Santana WC, Santos GR, Guedes RNC, Maciel CD, Newland PL, Oliveira EE (2017) Agrochemical synergism imposes higher risk to Neotropical bees than to honeybees. *Royal Society Open Science* 4(1):1-11. Doi: 10.1098/rsos.160866

Venturieri GC, Raiol VFO, Pereira CAB (2003) Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança - PA, Brasil. *Biota Neotropica* 3(2):1-7. Doi: 10.1590/S1676-06032003000200003

Villas-Bôas J (2012) Manual Tecnológico: Mel de Abelhas sem Ferrão. Instituto Sociedade, População e Natureza, Brasília – DF, ISPN, p 96

Witter S, Nunes-Silva P (2014) Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas (meliponíneos). Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p 144

Zanella F, Martins C (2003) Abelhas da Caatinga: Biogeografia, ecologia e conservação. In: Leal IR.; Tabarelli M, Cardoso JM (eds) *Ecologia e conservação da Caatinga*, Editora Universitária da UFPE, Recife, pp 75-134

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A morfometria geométrica das asas de *Melipona subnitida* evidenciou diversidade dentro e entre as populações, não sendo encontrado um padrão morfométrico entre as populações das regiões semiáridas e costeiras do Nordeste. A localidade de Araioses, região mais conservada ecologicamente, apresentou a maior diversidade morfológica, confirmando a importância das unidades de conservação para a manutenção da biodiversidade. Só há evidências de correlação entre forma da asa e pluviosidade média anual.

A análise de assimetria flutuante indicou que as duas populações do Delta do Parnaíba sofrem com estresses ambientais, sendo que os indivíduos de Cajueiro da Praia são mais assimétricos, sugerindo que a arquitetura das caixas e a forma de manejo, além das atividades antrópicas e o uso de agrotóxicos na região podem causar mais estresse às abelhas.

Portanto, os meliponicultores são fundamentais para a conservação de *Melipona subnitida* na região Nordeste, devendo ser orientados quanto ao comércio, às formas de criação e manejo das colônias. Quando a meliponicultura é criteriosa e acontece próxima às áreas fragmentadas, ela também pode contribuir para a restauração florestal, por meio da polinização da vegetação nativa realizada pelas abelhas-sem-ferrão.

ANEXOS

ANEXO A

Revista PeerJ - Instructions for Authors



<https://peerj.com/about/aims-and-scope/>

Guidance – remove this box before submitting!

Yellow callout boxes provide general notes. Please remove the yellow boxes before submitting. For full guidance see <https://peerj.com/about/author-instructions>

DO

- Use clear and grammatically correct English.
- Save as US Letter size format.
- Ensure line numbering is enabled.
- Align text LEFT.
- Ensure title, abstract, and author information matches what is entered online during submission.

DO NOT

- Embed ANY figures or tables in the text. Instead, upload a separate file for each on the file uploads page when submitting. Example – If you have 3 figures, then you will upload 3 figure files & be asked to add a figure title for each. See <https://peerj.com/about/author-instructions/#figures> for figure formats.

Manuscript Title

Title Guidance – remove this box before submitting!

- Be clear, appealing, interesting and specific.
- Match the search queries used to find similar articles.
- Be concise: ideally 20-60 characters (250 character hard limit).
- Avoid acronyms, abbreviations and jargon.

FirstName MiddleName LastName¹, FirstName MiddleName LastName², FirstName MiddleName LastName³, FirstName MiddleName LastName⁴, FirstName MiddleName LastName¹

¹ Department Name, Institution Name, City, State/Province, Country

² Department Name, Institution Name, City, State/Province, Country

³ Department Name, Institution Name, City, State/Province, Country

⁴ Department Name, Institution Name, City, State/Province, Country

Corresponding Author:

FirstName LastName¹
Street Address, City, State/Province, Zip code, Country
Email address: corresponding_author_email@email.com

Abstract

Add your abstract here.

- No more than approx. 500 words (or 3,000 characters).
- Self-contained and concisely describe the reason for the work, methodology, results, and conclusions. Uncommon abbreviations should be spelled out at first use. Do not include footnotes or references.

• Headings in structured abstracts should be bold and followed by a period. Each heading should begin a new paragraph. For example:

Background. The background section text goes here. Next line for new section.

Methods. Methods section here, then new line.

Results. Results section here, then new line.

Introduction

Add your introduction here.

DO NOT embed figures or tables in any section of the text. You will upload as individual files during submission. DO however cite the figures and tables in your text. They MUST be organized, and cited for the first time, in ascending numerical order. This means that Figure 1 must be the first figure in the text and be cited first, etc. See [figure instructions](#) and [table instructions](#).

Materials & Methods

Add your materials and methods here.

- Methods should be described with sufficient detail & information to replicate.
- Review the [raw data and materials sharing policies](#).
- Where IRB approval was required, you MUST provide an ethics statement as part of their Materials & Methods section detailing full information regarding their approval (including the name of the granting organization, and the approval reference numbers). If an approval reference number is not provided, written approval must be uploaded on the files upload page as confidential supplemental file.
- If describing a new species then you MUST include specific text in the materials & methods. See [New species policies](#).

Results

Add your results here.

All statistical results should be fully reported, including the test that was performed, the corresponding test statistic, degrees of freedom, the exact p-value (not, e.g. " $p < 0.05$ "), and effect sizes. For uploaded statistical figures, where appropriate, we recommend that you overlay bar graphs with scatter plots showing individual data points, or use another method to show the distribution of the data, such as boxplots, violin plots, etc.

Cropped gel photos

If you have primary cropped gel pictures then you **MUST** also upload the full-length **uncropped** pictures as a supplemental file (compressed as a single ZIP file if more than one). If the ZIP file is >30MB then upload to FigShare and provide the link to staff in the declarations section during submission.

Discussion

Add your discussion here.

- Start with the most important findings first.
- Link your results to any previous studies and how they add value and/or why results differ from what was previously demonstrated.
- What are the strengths and weaknesses/limitations and/or unexpected outcomes of the study results? Any inconclusive results?

Conclusions

Add your conclusions here.

- Concisely restate the hypothesis and most important findings.
- Summarize the major findings, contributions to existing knowledge, and limitations.
- What are the future directions?
- Speculation is welcome, but should be identified as such.
- Conclusions **MUST** be well stated, linked to original research question & limited to supporting results.

Acknowledgements

Add your acknowledgements here.

Acknowledgements Guidance – remove this box before submitting!

- Should not be used to acknowledge funders – funding will be entered online in the declarations page as a separate Funding Statement and appear on the published paper.

References

Add your references here.

ANEXO B

Neotropical Entomology - Instructions for Authors

Last update: July 2019



The official journal of the Entomological Society of
 Brazil Print ISSN: 1519-566X
 Online ISSN: 1678-8052

About the journal: <https://www.springer.com/life+sciences/entomology/journal/13744>

See journal articles at Springer Link:

<https://link.springer.com/journal/13744> Submit your manuscript:

<https://www.editorialmanager.com/nent/>

This journal is member of and subscribes to the principles of COPE (www.publicationethics.org)

Contribution Types

Neotropical Entomology considers for publications original articles, forum articles, scientific notes, obituaries, and letters to the editors.

Original articles should not exceed 30 doubled-spaced pages, including tables, figures, and references. The sections of the original articles should be:

- Abstract
- Introduction
- Material and methods
- Results
- Discussion
- Authors' contributions
- Acknowledgements
- References

Forum articles should be submitted by invitation and are extensive reviews and thought-provoking articles concerning contemporary issues in Entomology. If you wish to submit a forum article please send the details to jenine.navarro@springer.com.

Scientific notes are devoted to report new pest species records, introduction of alien and invasive species, and innovative methodologies

Obituaries should report the recent death of a prominent entomologist along with an account of his or her scientific achievements. If you wish to submit an obituary please send the details to jenine.navarro@springer.com.

Letters to the editor may be a substantial re-analysis of an article previously published in *Neotropical Entomology* or in another journal or a brief report of research findings adequate for the journal's scope and of particular interest to the community.

Sections

Neotropical Entomology has 8 sections as follows. Authors **should inform** in the front page of the manuscript the section they are submitting the manuscript to.

- Ecology, Behavior and Bionomics
- Systematics, Morphology and Physiology
- Biological Control
- Pest Management
- Medical and Veterinary Entomology
- Systematics
- Forum
- Scientific Notes

Online Submission

Manuscripts should be submitted through the online submission system at <http://www.editorialmanager.com/NENT>.

Title Page

The title page **should include**:

- The section to which your article belongs to.
- A concise and informative title.
- The name(s) of the author(s) – left-justified below the title; only initials of the first and middle names of authors are provided followed by their last names in full. Names of different authors are separated by a comma. Do not use “and” or “&” to separate different authors.
- The institutional affiliation(s) of the author(s) – **please do not include addresses**.
- Full name, regular and e-mail addresses, telephone numbers **for the corresponding author only**.
- A running title no longer than 65 characters.
- We highly encourage authors to provide the 16-digit ORCID number (www.orcid.org)

Abstract

Please provide a one-paragraph long abstract of up to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references. Please note that the name of insect and mite species must be written in full and followed by the species author.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords for indexing purposes. These key-words should appear separated by coma. Please do not include words already used in the article title.

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Set page as A4 size and margins at 2.5 cm.
- Use a normal, plain font (e.g., 12-point Times Roman) for text.
- Lines must be double spaced.
- The name of insect and mite species must be written in full and followed by the species author when first mentioned in the Abstract and Main Text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX ([LaTeX macro package zip, 182 kB](#))
- Note: If you use Word 2007, do not create the equations with the default equation editor but use the Microsoft equation editor or MathType instead.

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings. Headings in bold, sub-headings of the second level in roman, and level 3 sub-headings in italic font type.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Scientific Names

Write scientific names in full, followed by the author's name (for insect and mite species) whenever they first appear in the Abstract **and** Main text. Names should also be listed in full at the beginning of a paragraph or sentence.

E.g., *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Use the abbreviated generic name (e.g., *S. frugiperda*) in the rest of the paper, except in tables and figures, where the name should be in full.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

Author Contribution Statement

Authors must provide a short description of the contributions made by each listed author (please use initials). This should be placed after the Acknowledgements. See examples on page 7 ([Authorship Principles](#)).

Citations

References within the main text should appear in parenthesis as in the examples below. Use "&" to separate two authors' names; use "*et al*" for multiple authors, in italic font type and no punctuation. For multiple citations, use ascending chronological order:

- Negotiation research spans many disciplines (Panizzi 1990).
- This result was later contradicted by Parra & Zucchi (2006).

- This effect has been widely studied (Vilela 1991, Moscardi *et al* 1995, Frey da Silva & Grazia 2006, Moscardi *et al* 2009).

Reference List

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list: [EndNote style \(zip, 2 kB\)](#)

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list. Entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work. Order multi-author publications of the same first author alphabetically with respect to second, third, etc. author. Publications of exactly the same author(s) must be ordered chronologically.

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see ISSN LTWA. If you are unsure, please use the full journal title.

Please, **only exceptionally** cite dissertations and theses and **do not** cite extension materials as well as restricted-circulation materials (such as institutional documentation and research reports), partial research reports or abstracts of papers presented at scientific meetings.

- *Journal article*

Warner KD (2012) Fighting pathophobia: how to construct constructive public engagement with biocontrol for nature without augmenting public fears. *BioControl* 57:307–317

- *Article by DOI*

Grosman AH, Janssen A, Brito EF, Cordeiro EG, Colares F, Fonseca JO, Lima ER, Pallini A, Sabelis MW (2008) Parasitoid increases survival of its pupae by inducing hosts to fight predators. *PLoS ONE* 3(6):e2276. doi:10.1371/journal.pone.0002276

- *Book*

Carey JR (1993) *Applied demography for biologists with special emphasis on insects*. Oxford University Press, New York, p 206

- *Book chapter*

Datnoff LE, Seebold KW, Correa FJ (2001) The use of silicon for integrated disease management reducing fungicide applications and enhancing host plant resistance. In: Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH (eds) *Silicon in agriculture*. Elsevier Science, Amsterdam, pp 209–219

- *Online document*

Monteiro RC, Lima EFB (2011) *Thysanoptera of Brazil*. <http://www.lea.esalq.usp.br/thysanoptera/> Accessed 25 Nov 2011

Tables

- All tables should be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork and Illustration Guidelines

- Supply all figures electronically saved as EPS, TIFF, or similar format.
- Do not submit the figures saved as doc, ppt, pptx, bitmap format.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics (line art), the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts (Calibri type) embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art

- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art

- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art

- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

- Color art is free of charge for online publication. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Lettering

- To add lettering, please use Calibri font only.
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term Fig followed by a space and the figure number, both in roman type (e.g., Fig 1). No punctuation is to be included after the number.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- Figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that:

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

Electronic Supplementary Material

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

- Aspect ratio: 16:9 or 4:3
- Maximum file size: 25 GB
- Minimum video duration: 1 sec
- Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability. A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

- Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.
- If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., “... as shown in the animation (Online Resource 3)”, “... additional data are given in Online Resource 4”.
- Name the files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”, “ESM_4.pdf”.

Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.