

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO

**Avaliação morfométrica da identidade das espécies de
abelhas mandaçaia (*Melipona* spp) da região da foz do rio São
Francisco**

Gustavo Barreto Passos

SÃO CRISTÓVÃO – SE
2010

**Avaliação morfométrica da identidade das espécies de
abelhas mandaçaia (*Melipona* spp) da região da foz do rio São
Francisco**

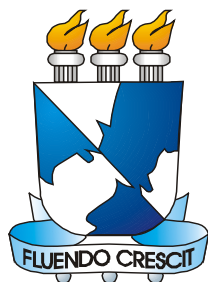
Gustavo Barreto Passos

Universidade Federal de Sergipe, 2010

Monografia apresentada à
Universidade
Federal de Sergipe como requisito
Parcial à obtenção do título de
bacharel
Em ciências biológicas.

**Orientador: Dr. Edilson Divino
de Araújo**

SÃO CRISTÓVÃO – SE
2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO

Banca Avaliadora

Profº. Dr. Edilson Divino de Araújo
Centro de ciências biológicas e da saúde, departamento de biologia
(orientador)

Profº Dr. Bruno Lassmar Bueno Valadares
Centro de ciências biológicas e da saúde, departamento de biologia

Profª Dr. Silmara de Moraes Pantaleão
Centro de ciências biológicas e da saúde, departamento de biologia

Data de aprovação: ____ de _____ de 20 ____

“É necessário correr e mais correr, com o máximo de velocidade, somente para permanecer no mesmo lugar. Se você quiser chegar a algum outro ponto deverá correr pelo menos com o dobro da velocidade” (CARROLL, Lewis 1871).

Agradecimentos

Começar esse agradecimento foi difícil, são tantas pessoas importantes que fiquei com medo de esquecer alguém importante, então para garantir que não me esqueceria da pessoa mais importante, tomarei a mais importante lição que a minha mãe me ensinou e vou me agradecer a pessoa mais importante da minha vida, eu, e tenho certeza que se não fosse por mim não teria conseguido nada que atingi em minha vida. Mas eu não sou só eu, eu também sou formado pelas pessoas em meu redor, que formam a imagem de mim, e também me mudam aos poucos. Agradeço a meu pai por me inspirar a ser mais, a minha irmã por me mostrar a coragem para mudar, a lição da minha mãe, ao amor incondicional de Érica, que sem ela para me dar apoio não agüentaria esses dias, meus avôs que não estão mais entre nós mas que de um jeito ou de outro influenciaram minha vida, e minha avó Luci que ainda vive e que sempre quis me ver formado, agradeço a Escola Parque de Sergipe por plantar em mim o desejo de aprender sobre a vida na terra, com seu ambiente bucólico. Meu professor e orientador Edilson que me ensinou a fazer as pazes com a matemática, Eduardo por sua camaradagem e seu humor diferente, Marcelinho e sua organização e amor pelo Sergipe, Larissa amiga sempre, Juninho o mais trabalhador de nossa turma e amigo para todas as horas, Roberto amigo fiel, Anna Letícia que adorava coisas estranhas e engraçadas e que faz falta em nossa turma, Thomaz ludicamente chato e todos do clube do UNO oficial que edificaram o maior jogo já feito, no melhor grupo que já o jogou. Agradeço também a Ilaine que foi um objetivo para todos os alunos da biologia, e que em seus estudos e com sua ajuda aprendemos os assuntos que o professores tiveram tanto trabalho em não nos ensinar, Alana por nos mostrar o pior insulto já feito na humanidade, Deise sempre presente, Débora principalmente que me ajudou muito nesse período final tão difícil, Alexander que desde o início mostrou como ser uma pessoa séria e trabalhadora não significa desistir de sua vida social. Izabel que é onipresente em todos os laboratórios, Adriano, Matheus, Gabi e todos os que desistiram da biologia, mas continuam com todos nós me proporcionaram os melhores anos da minha vida. Agradeço também a todas as pessoas sem as quais meu trabalho não aconteceria, Lorena que ajudou a mim e a Edilson em todas aquelas reuniões via Skype, espero que consiga grandes coisas na Inglaterra. professora Geni da Universidade Federal do Recôncavo Baiano em Cruz das Almas-BA, e sua irmã Maria Lúcia da Silva Sodré por enviarem diversas abelhas necessárias para a comparação dos meus resultados, Hans por emprestar seu puçá e a professora Ana Paula Prata pelo seu GPS para minha coleta, e o apoio de todo o laboratório de entomologia e genética e conservação de recursos naturais.

Resumo

As abelhas do gênero *Melipona*, pertencem a um grupo maior, popularmente conhecido como abelhas sem ferrão. Dessas espécies duas são popularmente conhecidas como mandaçaia. A *Melipona quadrifasciata* é a espécie mais conhecida de mandaçaia e está dividida em duas subespécies *M. quadrifasciata quadrifasciata* e *M. quadrifasciata anthidioides*. A outra espécie de mandaçaia, bem menos conhecida, é a *Melipona mandacaia*. Apesar da fragilidade atual das populações naturais de *Melipona* reportada por diversos estudos, pouco se sabe sobre as populações das espécies desse gênero no estado de Sergipe. Esse estudo analisou a população de abelhas do gênero *Melipona* encontrada na região da foz do rio São Francisco, através da análise de morfometria geométrica, técnica utilizada na avaliação populacional realizada no presente trabalho. A coleta foi feita no município de Brejo Grande-SE e nas margens da Ilha da Criminosa-SE e Piaçabuçu-AL. Como não foram encontradas abelhas fora de Brejo Grande é suportando o possível papel do rio São Francisco como uma barreira geográfica para a dispersão das abelhas. Todas as análises multivariadas confirmaram que a população de *Melipona spp* que ocorre em Brejo Grande é *M. quadrifasciata quadrifasciata*, através da análise dos componentes principais, variáveis canônicas, análise de variância de Procrustes e análise de agrupamento UPGMA.

Palavras chave: abelha sem ferrão, morfometria geométrica, análise multivariada, Procrustes.

Abstract

The eusocial bees of the gender Melipona belong to a larger group commonly known as stingless bees. Among these there are two species known as mandaçaia. The Melipona quadrifasciata is the most acknowledged specie of the mandaçaia and is divided in two subspecies M. quadrifasciata quadrifasciata e M. quadrifasciata anthidioides. The other specie known as mandaçaia is Melipona mandacaia which is much less acknowledged. Even though the present fragility of the natural populations of Melipona is pointed out in many studies, it is unkown of it's occurence at Sergipe. This study aims to analyse the population of Melipona bees found at the shore of São Francisco river, trough geometric morphometrics analysis, technique used at this work's population evaluation. The bees were collected at the city of Brejo Grande-SE, and at the shores of Criminosa's Island(Sergipe), and Piaçabuçu-AL. No bees were found outside Brejo Grande, thus supporting the possible role of the São Francisco river as a geographic barrier for the dispersion of bees. All the multivariate analysis confirmed that the population of Melipona spp that occurs at Brejo Grande is M. quadrifasciata quadrifasciata, trough principal components analisys, canonical variances, Procrustes variance analysis and UPGMA cluster analysis.

Key-words: *stingless bee, geometric morphometrics, multivariate analysis, Procrustes*

Sumário

1. Introdução	1
1.1. Referencial teórico	2
2. Objetivos	9
2.1. Objetivos gerais.....	9
2.2. Objetivos específicos.....	9
3. Materiais e Métodos	10
3.1. Área de estudo.....	10
3.2. Coleta	11
3.3. Fixação	12
3.4. Obtenção das coordenadas dos marcos anatômicos	14
3.5. Tratamento estatístico	16
4. Resultados e Discussão	19
5. Considerações finais.....	25
6. Referências bibliográficas	26

1. Introdução

No Brasil as abelhas são um dos organismos mais estudados. O país abriga um grande contingente de pesquisadores que estudam os mais variados aspectos da vida desses insetos, como comportamento social, biologia da nidificação, fisiologia, morfologia, genética, ecologia, manejo e sistemática. Porém, ainda há muito a ser estudado devido à diversidade de espécies e de biomas brasileiros (SILVEIRA, *et al.*, 2002).

As abelhas do gênero *Melipona* (Illiger, 1951), com mais de 300 espécies descritas, pertencem a um grupo maior, popularmente conhecido como abelhas sem ferrão (CAMARGO e PEDRO, 2007). No Brasil os trabalhos desenvolvidos pelo padre Jesus Santiago Moure e pelo professor João Camargo foram de enorme importância na identificação e ilustração das espécies desse gênero, outrora pouco conhecido no Brasil. O gênero *Melipona* é exclusivamente tropical e o grupo mais derivado de abelhas sem ferrão (CAMARGO e PEDRO, 1992).

Dessas espécies duas são popularmente conhecidas como mandaçaia e ocorrem na costa Brasileira desde o Estado da Paraíba até o Rio Grande de Sul e algumas regiões do semiárido nordestino. A *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier, 1836) é a espécie mais conhecida de mandaçaia e está dividida em duas subespécies *M. quadrifasciata quadrifasciata* e *M. quadrifasciata anthidioides*, ocorrendo principalmente nas regiões litorâneas (Moure e Kerr, 1950).

A outra espécie de mandaçaia, bem menos conhecida, é a *Melipona mandacaia* (Smith, 1863). A *M. mandacaia* é endêmica do nordeste e parece ocupar regiões de caatinga, áreas de temperaturas altas e baixa precipitação, abrangendo o denominado polígono da seca. No entanto, ainda são poucos estudos sobre esta espécie (WALDSCHMIDT, 2002). Essas abelhas desempenham um importante papel como agentes polinizadores em diversos ecossistemas (Villa Nueva et al, 2005). No entanto, diversas espécies do gênero *Melipona* encontram-se ameaçadas de extinção, especialmente pela perda de pequenas populações locais por efeito de deriva genética, fator quase sempre relacionado a pressões antrópicas (ARAÚJO *et al*, 2004; SOUZA *et al*, 2008). Apesar da fragilidade atual das populações

naturais de *Melipona* reportada por diversos estudos, pouco se sabe sobre as populações das espécies desse gênero no estado de Sergipe.

Os estudos bidimensionais em abelhas eussociais tiveram um grande progresso nas três últimas décadas, período em que a análise morfométrica clássica vem sendo substituída aos poucos pela morfometria geométrica, técnica utilizada na avaliação populacional realizada no presente trabalho. Esse estudo então visa analisar a população de abelhas do gênero *Melipona* encontrada na região da foz do rio São Francisco, no município de Brejo Grande.

As colônias encontradas nessa região têm nos troncos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) danificados pela broca-do-coqueiro (*Rhynchophorus palmarum* L.) o seu principal local de nidificação, fato que pode comprometer a conservação dessa espécie em função do interesse econômico associado à produção de coco. Outro aspecto a ser abordado é sobre a identidade da espécie de mandaçaia nessa população, uma vez que não existe registro de ocorrência para essa área e o padrão morfológico dos indivíduos gera dúvidas sobre a identidade da espécie e, finalmente, esse estudo busca verificar se o rio São Francisco poderia ser considerado uma barreira geográfica efetiva para as populações dessa espécie nessa região.

1.1. Referencial teórico

A ordem Hymenoptera é um táxon grande e variado representado pelas formigas, abelhas e vespas. Segundo Barnes, Ruppert e Fox (2005) todos os representantes desse grupo apresentam peças bucais mastigadoras, podendo estar modificadas para sucção em muitos táxons, quando presentes possuem dois pares de asas membranosas transparentes; O primeiro segmento abdominal normalmente está amplamente ligado ao tórax, separado do restante do abdome por um pecíolo estreito, eventualmente algumas fêmeas podem ter seu ovopositor transformado em um ferrão. A maioria dos adultos alimenta-se de fluídos, como néctar, podendo ter uma relação mutualística com as flores, como importantes polinizadores. Segundo Raven *et al.* (2001) a evolução e a divergência das abelhas estão ligadas ao aparecimento das angiospermas há aproximadamente 120 milhões de anos.

Segundo Gillott (1980) a maioria dos Hymenoptera se alimenta de néctar, apesar de alguns serem predadores, alimentarem-se de plantas, ou fungos. Além de ações parasitóides e predatórias é necessário, no entanto realçar a sua importância como polinizador; por essas

razões os Hymenoptera são considerados a ordem de insetos de maior importância para o homem.

A superfamília *Apoidea* é representada pelas abelhas sociais e solitárias, claramente descendentes próximos de um ancestral antigo da família *Sphecoidea*. Ainda que a origem das abelhas ainda esteja em discussão, sabe-se que sua dispersão está intimamente relacionada ao surgimento das angiospermas, porém já foi sugerido que as abelhas apareceram no jurássico antes das angiospermas, e as mesmas coletariam pólen de outras plantas floríferas extintas, como as *Bennettiales*, assim as abelhas seriam pré-adaptadas ao forrageamento nas flores, e as angiospermas ter-se-iam beneficiado e diferenciado em função dessa associação, porém a idéia mais aceita é que as abelhas surgiram depois das angiospermas há cerca de 125 milhões de anos, no final da primeira metade do Cretáceo (GILLOTT, 1980; SILVEIRA, *et al.*, 2002).

A principal diferença das abelhas para as vespas é a utilização do pólen e néctar, ao contrário do uso de alimento de origem animal para suas larvas, sendo a grande maioria das espécies solitária, enquanto as sociais estão restritas a três famílias: *Halictidae*, *Anthophoridae*, e *Apidae* (GILLOTT, 1980).

A dispersão das abelhas não obedece ao gradiente latitudinal de diversidade. Para a maioria das espécies animais ou vegetais há uma diminuição de diversidade quanto mais se afastam do equador e se aproximam dos pólos. As abelhas são abundantes em áreas semidesérticas temperadas do mundo, acredita-se que esse comportamento seja explicado por vantagens para o surgimento de eussocialidade em regiões tropicais, e as abelhas sociais ocupariam a mesma região que várias abelhas solitárias, mais comuns em áreas temperadas (SILVEIRA *et al.*, 2002).

A tribo Meliponini reúne as chamadas ‘abelhas sem ferrão’, são o maior grupo de abelhas eussociais encontrado no Brasil. Essas abelhas são altamente diversificadas na região neotropical, com aproximadamente 43 gêneros e cerca de 350 espécies, destas 192 espécies de meliponíneos possuem ocorrência registrada no Brasil. De tamanho médio e normalmente robustas, seus ninhos são feitos geralmente em cavidades pré-existentes como: ocos de árvores, ninhos abandonados de cupins e formigas, etc. O gênero *Melipona* ocorre em toda região neotropical, sendo mais diversificado na bacia amazônica. Aproximadamente 40 espécies de *Melipona* estão distribuídas desde o México até a Argentina. Esse gênero foi

revisto pela ultima vez por Schwarz (1932), necessitando de uma ampla revisão (CAMARGO, 1979; MICHINER 2000; SILVEIRA, *et al.*, 2002).

A *Melipona quadrifasciata* é um membro da tribo Meliponini, um grupo com organização eussocial, e distribuição pantropical e uma espécie de abelha sem ferrão mais conhecida como mandaçaia encontrada no território brasileiro, ao longo da costa litorânea, desde a Paraíba até o Rio Grande do Sul, habitando originalmente as regiões de Mata Atlântica, compreendendo duas subespécies: *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* e *Melipona quadrifasciata anthidioides* (SCHWARZ, 1932; MICHENER, 2000) que são reconhecidas morfológicamente pelo padrão diferenciado das bandas tergaes, que são listras amarelas e contínuas no abdome (três a cinco bandas do 3º ao 6º segmento em operárias e machos de *M. quadrifasciata quadrifasciata*, e bandas interrompidas (de duas a cinco bandas), em *M. quadrifasciata anthidioides* (SCHWARZ, 1948; MOURE e KEER, 1950; MORETO e ARIAS, 2005).

Waldschmidt, Barros e Campos (2000) propuseram um marcador de DNA presente em *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* e ausente em *Melipona quadrifasciata anthidioides*, porém indivíduos fenotipicamente parecidos com *M. q. quadrifasciata* do norte do estado de Minas Gerais não possuíam esse marcador, indicando uma possível zona de hibridização. Zonas híbridas entre as duas subespécies são encontradas entre os estados de São Paulo e Minas Gerais, caracterizadas pela formação de indivíduos com fenótipos intermediários para o padrão de bandas tergaes, fato amplamente divulgado na literatura científica (MOURE e KERR, 1950; MOURE, 1975; MELO e CAMPOS, 1987; SOUZA *et al*, 2008).

Um dos maiores desafios da biologia é a definição e a delimitação de espécie, raça, subespécie e outros táxons. A princípio a taxonomia caracterizava os organismos apenas por sua morfologia, algo muito problemático já que seres vivos nem sempre possuem semelhanças entre sexos, entre estágios de vida, ou em alterações de populações de regiões diferentes. Ainda assim existe uma gradação intuitiva entre raça e espécie, e o termo subespécie é uma válida posição taxonômica. A palavra espécie vem de uma raiz indo-européia extremamente antiga, *spek*, que significa ‘aquilo que se vê’ isso significa que a forma dos organismos é a mais antiga das fontes de informação que o homem usa sobre os organismos (MONTEIRO e REIS, 1999).

Outra questão que surge então é como se formam as espécies? Segundo Wright em 1960 “Um sistema genético pode sair de um pico seletivo e se encaminhar para um pico mais alto, somente por um processo não seletivo, uma mutação nova pode causar isto criando um novo pico; tal evento, no entanto deve ser extremamente raro. A alternativa, então, é surgirem desvios aleatórios em torno dos efeitos estritamente determinísticos, devidos aos diversos processos. Isto também pode ser consequência de um evento único na história da população, ou consequência de um acúmulo de vários desvios acidentais e pequenos.” As principais teorias evolutivas para a especiação dependem de algumas condições, os casos mais comuns são: poliploidia, hibridização, evolução alopátrica, simpátrica, filética, primária e secundária. Esses casos se intercalam, mas a principal característica para a evolução de uma população em duas espécies diferentes é o isolamento, ele ocorre em dois níveis pré-zigótico, e pós-zigóticos. Em suma o mais importante para a evolução de uma população em duas espécies é que por alguma condição (física, comportamental, geográfica) dois grupos deixam de reproduzir entre si, e eventualmente tornam-se totalmente incompatíveis gerando duas novas espécies. O isolamento geográfico algumas vezes nada mais é do que o distanciamento físico. Espécies que possuem uma distribuição muito ampla têm reprodução dificultada para os indivíduos das bordas. Quando os grupos são separados fisicamente, como quando uma população povoa uma ilha, a população fundadora normalmente é menor, e mais susceptível a: seleção natural sob novas condições deriva genética, aumento da homozigose pela endogamia (RIDLEY, 2004). Em abelhas a fragmentação de habitat e outras barreiras de isolamento parecem ser muito importantes para a diversificação das espécies e também importantes fatores de extinção populacional (ARAÚJO, 2004).

Um comportamento importante nas colméias de *Melipona* é o isolamento da rainha e sua prole, em que rainhas jovens se desenvolvem em células especiais, porém a rainha velha possui o abdome muito desenvolvido, o que a torna muito pesada para voar. Esse aspecto gera restrições diretas no padrão de dispersão das populações (GILLOTT, 1980). Ainda que a distância máxima de vôo dessas espécies esteja na faixa de dois quilômetros de raio ao redor da colônia, a fundação de novos ninhos é limitada a poucas centenas de metros ao redor da colônia mãe, diferente do processo de nidificação no gênero *Apis* (ARAÚJO, 1997).

Em Meliponini, a deriva genética é um fator importante no isolamento de populações locais, sugerindo que as populações de *Melipona* também são sensíveis a deriva genética especificamente pela homozigose no *locus* Xo de determinação sexual. A perda de alelos e

extinção de populações locais por terem uma população pequena já foi documentado por Kerr & Vencovsky concluindo que uma população de *Melipona* deveria conter no mínimo 44 colônias para conter o risco de uma extinção rápida. Também foi observado que abelhas sem ferrão de tamanho menor teriam um risco maior de serem extintas, abelhas grandes como *Melipona Quadrifasciata* devem estar isoladas caso seus fragmentos estejam mais longe que 2 km (CARVALHO *et al*, 1995; ARAÚJO, 2000; ARAÚJO, 2004).

Considerando a região da Foz do rio São Francisco, vale ressaltar que em 1995 a criação da hidroelétrica de Xingó em Canindé do São Francisco, fez com que muitas famílias fossem retiradas de suas casas e parte da cidade foi inundada, três anos após a criação da usina o povoado Cabeço foi invadido pela água do rio São Francisco, restando apenas o farol construído em 1870 pelos holandeses, cravado no mar testemunhando essa vila agora submersa, pescadores da região fazem pesca predatória do camarão e caranguejo, que acaba matando os peixes, essa descrição do Cabeço, povoado do município de Brejo Grande, ilustra a situação da maioria das pessoas que dependem da pesca para sobreviver, esses incidentes antrópicos alteraram vastamente a área original (RIOS, 2005).

Piaçabuçu, município alagoano também pertencente à região da foz do rio São Francisco, possui uma área fitoecológica muito diversa, a região estudada representava uma floresta estacional decidual, submetida a uma estacionalidade bioclimática anual situada entre os 120 e os 150 dias secos. Sua área de cobertura encontra-se bastante descaracterizada em sua originalidade, seja no total desmatamento para o cultivo de coqueirais, fazendas e currais privativos do gado bovino. Caracteriza-se também por uma sucessão de interflúvios alinhados pelo nordeste/sudeste, e ligeiramente em forma de “S”, mantendo-se a 3 metros acima do nível do mar, com decaimento no sentido interior/litoral. Tanto esse suave declínio quanto a sucessão de interflúvios (cordões), indicam o recuo paulatino do nível do mar, na sua última fase regressiva ocorrida no quaternário (SOUZA, 2000). Nesse mesmo município encontra-se a APA de Piaçabuçu, área de conservação ambiental de importante relevância para a Região.

A análise morfométrica tem sido utilizada para avaliar padrões de variação geográfica e diferenciação intraespecífica em abelhas (RUTTNER, 1988). A definição da forma de uma estrutura biológica é regida por processos que operam em diferentes escalas e níveis organizacionais de complexidade. O aspecto fenotípico macroscópico de uma estrutura biológica é, portanto, o resultado das interações entre regra morfogenéticas e os mecanismos

extrínsecos relacionados aos fenômenos ecológicos e as forças evolutivas estocásticas e/ou determinísticas (LEVIN, 1992).

A morfometria geométrica tem sido utilizada para avaliar padrões de variação geográfica e diferenciação intraespecífica em abelhas. A estrutura de venação das asas varia entre os grupos de abelhas, sendo o número de venações menor em meliponíneos em comparação com as espécies do gênero *Apis*, o que implica, provavelmente, numa restrição evolutiva para o aumento do tamanho em Meliponini (WILLE, 1979).

Estimativas de herdabilidade para caracteres morfológicos, utilizando diversas metodologias têm se mostrado geralmente elevados, especialmente para os caracteres de tamanho ($h^2 > 0,6$) o que demonstra que tais caracteres são bons indicadores de processos evolutivos atuando nas populações de abelhas (DINIZ-FILHO e BINI, 1994), indicando assim, elevado componente genético para avaliar as estruturas populacionais, sendo as asas estruturas mais utilizadas para essa finalidade (NUNES *et al*, 2008). As asas dos insetos são estruturas laminares extremamente interessantes para análises morfométricas bidimensionais, uma vez que são estruturas bastante planas, possibilitando que grande parte das informações de forma sejam extraídas. Outro fator bastante positivo, do ponto de vista analítico, é a presença de diversos marcos anatômicos formados, principalmente, nas interseções entre as nervuras. Pouco se sabe sobre as implicações funcionais da variação morfológica das asas nos insetos (GRODNTSKY, 2000).

Ao longo do desenvolvimento da morfometria geométrica, nas três últimas décadas, a área da morfometria tornou-se mais consistente teórica e tecnicamente. Questões como ‘qual seria o melhor método para remoção do efeito do tamanho generalizado’ passaram a ser problemas do passado, uma vez que as técnicas de morfometria geométrica removem instantaneamente os efeitos de tamanho (MONTEIRO e REIS, 1999). Inicialmente um dos problemas em se utilizar estas novas técnicas de morfometria matemáticas e computacionais subjacentes. No entanto, nos últimos anos, diversos programas para microcomputadores foram desenvolvidos e são disponibilizados gratuitamente. Além disso, o volume de informações bibliográficas sobre morfometria geométrica vem aumentando gradativamente, expondo de uma forma adequada à teoria, método e aplicações em investigações biológicas (MONTEIRO e REIS, 1999).

A morfometria geométrica vem se tornando uma boa opção na identificação de espécies. Taxonomistas são escassos e normalmente dedicados a um número pequeno de espécies, a ferramenta genética pode dar uma resposta rápida e precisa, porém ela ainda é muito custosa, dados morfométricos se mostraram eficientes, rápidos e de baixo custo (FRANCOY e FONSECA, 2010).

Uma das principais formas de análise multivariada, por exemplo, é a análise de componentes principais (ACP) ela examina a correlação entre dois ou mais caracteres selecionados em um conjunto de observações, esses pontos tendem a formar uma elipse no espaço dos dois caracteres aumentando quão maior for a correlação dos caracteres. Muito difundida nas últimas décadas, embora exista desde 1938 quando Karl Pearson resolveu analisar os eixos dessas elipses, encontrando as principais direções de variação de um conjunto de caracteres (REYMENT, 1996 *apud* ARAÚJO, 2002). A ACP utiliza um conjunto de p variáveis correlacionadas (que poderiam ser obtidas a partir de mensurações de estruturas morfológicas, por exemplo) que passam por uma ortogonalização, permitindo condensar o conjunto de p caracteres em um novo conjunto de p componentes principais, não correlacionados entre si, e de modo que o primeiro componente principal explique a maior parte da variância dos p caracteres originais (SOKAL & ROHLF, 1995 *apud* ARAÚJO, 2002). A ACP resulta, portanto, numa condensação do espaço multidimensional, permitindo que a maior parte da variação torne-se visível, em uma, duas ou três dimensões, sem que haja perda significativa de informações. Outras vantagens associadas a esse processo são: a possibilidade de visualizar a variabilidade dos dados originais em menos dimensões, como os componentes são independentes eles podem ser analisados separadamente (DINIZ-FILHO, 1992; ARAÚJO, 2002).

A análise das variáveis canônicas (AVC) é uma combinação linear dos P caracteres originais (Z), $Z = X_1E_1$, $Z = X_2E_2$, ..., $Z = X_pE_p$, de maneira que se a soma dos Z for submetida a uma ANOVA, tenham o maior valor de F possível, ou seja, maximizando a variabilidade entre os grupos em relação à variabilidade entre estes. A AVC fornece uma descrição de diferenças entre grupos definidos *a priori*, ou seja, a definição desses grupos cabe ao autor pelo delineamento do problema biológico, sendo que o grupo definido pode ser: indivíduos, espécie, espécies diferentes, etc. Nesse tipo de problema o objetivo é verificar a relação da magnitude de diferenças entre os grupos, relativa aquela dentro dos grupos. Como a análise de componentes principais (ACP), essa análise se dá pela dedução das direções de

maior variação nos dados originais que permitem a redução da dimensionalidade e explicação da variação em termos de variáveis latentes por meio de autovalores e autovetores, com o mínimo de perda de informação possível (DINIZ-FILHO, 1992; MONTEIRO e REIS, 1999).

As variáveis de forma são quaisquer medidas em configuração de marcos anatômicos que não muda seu valor quando todos os comprimentos são multiplicados por um fator escalar X , por esse motivo as propriedades de uma figura não são modificadas por sua translocação, rotação, ou reproporcionalização. Para realizar a superposição ortogonal pelos quadrados mínimos (ANOVA PROCRUSTES), sobrepõe-se os marcos em uma configuração média de referência, de modo que a soma dos quadrados das distâncias entre os pontos correspondentes em ambas as configurações seja o menor possível (MONTEIRO e REIS, 1999).

2. Objetivos

2.1. Objetivos gerais

Avaliar a identidade das espécies de abelhas mandaia (*Melipona* spp) da região da foz do rio São Francisco por meio de técnicas morfométricas (Morfometria geométrica) para elaboração de estratégias de manejo e conservação.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a variação populacional e identificar a possível existência de híbridos, com base em critérios morfológicos;
- Verificar, por meio de análises de variação populacional, e de ocorrência de ninhos, a possível barreira geográfica representada pelo rio São Francisco para as espécies desse gênero;
- Subsidiar com informações para uma possível estratégia de manejo e conservação.

3. Materiais e Métodos

3.1. Área de estudo

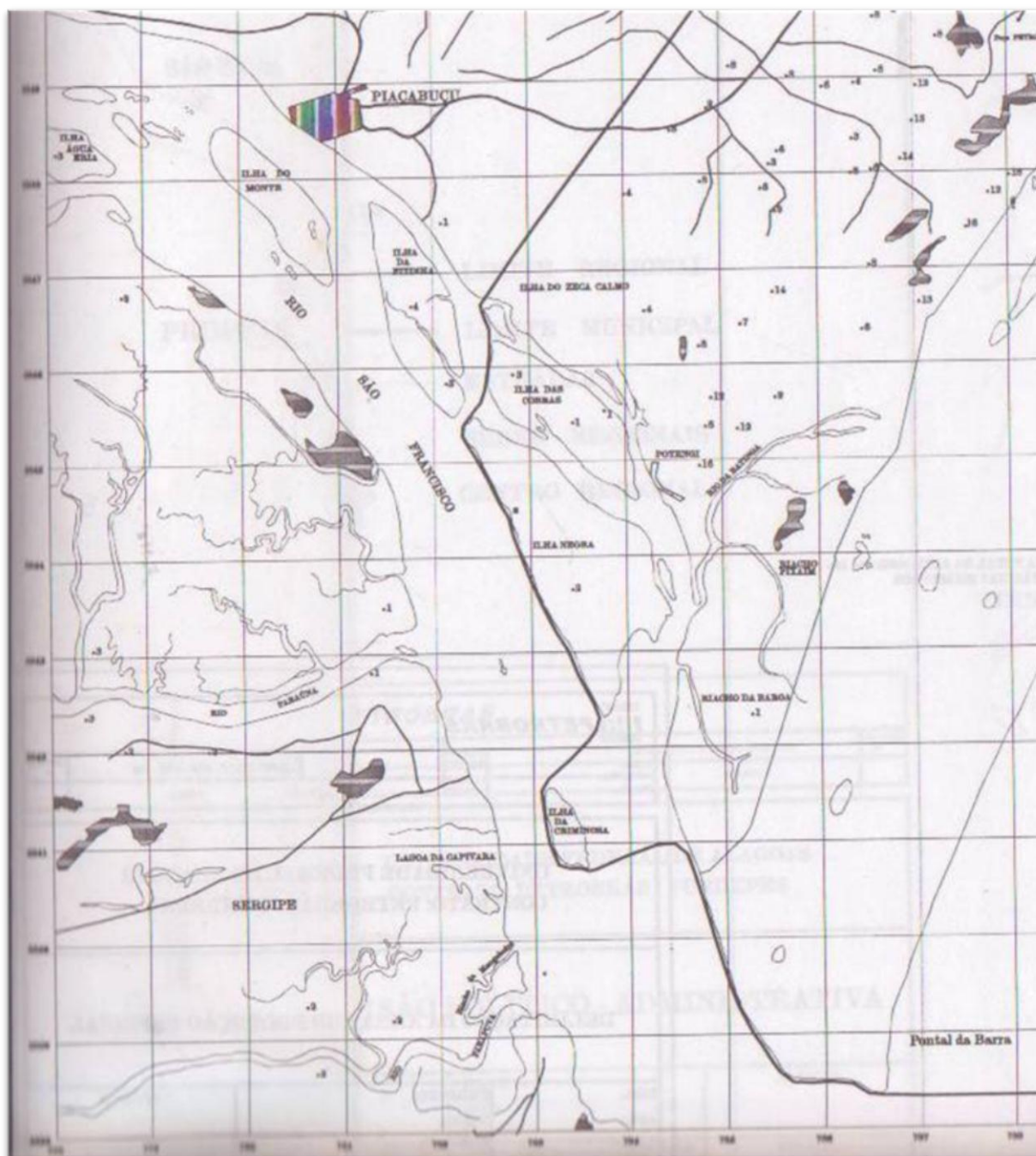


Figura 1 Mapa da área de estudo evidenciando os três pontos de coleta: Brejo Grande, Ilha da Criminosa e Piaçabuçu. Com escala de 1:25000

O primeiro local de estudo está localizado em Brejo Grande (Latitude: S 10°28'471", Longitude: O 36°26'212"), município localizado à margem do rio São Francisco em Sergipe,

numa região típica de restinga e coqueirais (*Cocos nucifera* L.), destes vários são atacados pela broca-do-coqueiro (*Rhynchophorus palmarum* L.) que cria cavidades nos troncos permitindo que as abelhas nidifiquem. O segundo ponto de coleta está localizado no município de Piaçabuçu-Al (Latitude: S 10°26'960", Longitude: O 36°24'806"), e um ponto intermediário formado pela ilha da Criminosa localizada entre Brejo Grande e Piaçabuçu, ainda no território de Sergipe (Latitude: S 10°28'470", Longitude: O 36°24'687"). Os pontos de coleta localizados na ilha e em Alagoas apresentam fisionomia distinta da região de Brejo Grande, sendo formados principalmente por terrenos alagados caracterizados como várzeas, utilizadas pelos moradores locais atualmente para o plantio de coqueiros (nas regiões elevadas) e cobertas por aningas (*Montrichardia arborescens* L.) nas regiões mais baixas, sendo também historicamente utilizadas para o plantio de arroz com técnicas de represamento. Todas as coordenadas foram tomadas utilizando o Datum WS84, o local de coleta pode ser visto na figura 1.

3.2. Coleta

A busca por ninhos foi feita em uma área correspondente a 10 hectares nas três localidades mencionadas. O procedimento de rastreamento foi de forma aleatória percorrendo os troncos de coqueiro e outros potenciais locais de nidificação ao longo do transecto, utilizando o mesmo esforço amostral (03 rastreadores). Ao encontrar uma possível colônia, a mesma era agitada, por meio de golpes no tronco, se um enxame fosse formado o coqueiro era marcado com uma numeração crescente, caso não houvesse abelhas o coqueiro era marcado com um x, como pode ser visto na figura 2.



Figura 2A Coletor agitando a colônia para checar a presença de abelhas figura, 1B formação de enxame em resposta.

A captura ativa das operárias dos coqueiros nidificados foi em parte realizada com um puçá, a técnica de varredura consiste de fazê-lo atravessar o enxame em várias direções e

finalmente girá-lo no próprio eixo fechando a saída de sua rede. Devido ao seu comportamento de ataque também era possível capturá-las com as mãos. As abelhas que foram capturadas foram colocadas em recipientes numerados, para representar cada colmeia, contendo pequena quantidade de álcool 70% para a conservação do material. No retorno ao Laboratório todos os recipientes foram refrigerados a -20°C em freezer e mantidos assim até a fixação. Para definir qual a espécie de meliponídeo existe na área de estudo, foram pedidas dez operárias de: *Melipona mandacaia*, *Melipona quadrifasciata anthidioides* e *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*; de identidade confirmada, cedidas pela Universidade Federal do Recôncavo Baiano em Cruz das Almas - BA.

3.3. Fixação

As abelhas tiveram suas asas dissecadas com auxílio de duas pinças de ponta fina de modelo *Professional stainless CE*® e um estéreomicroscópio de modelo *leica MZI25*®, com uma das pinças segurava-se o tórax da abelha, enquanto com a outra se prendia a tégula (pequeno lobo no mesotórax que cobre a articulação das asas), a pinça segurando o tórax era então puxada para evitar que a asa fosse rasgada, como pode ser visto na figura 3 e 4.

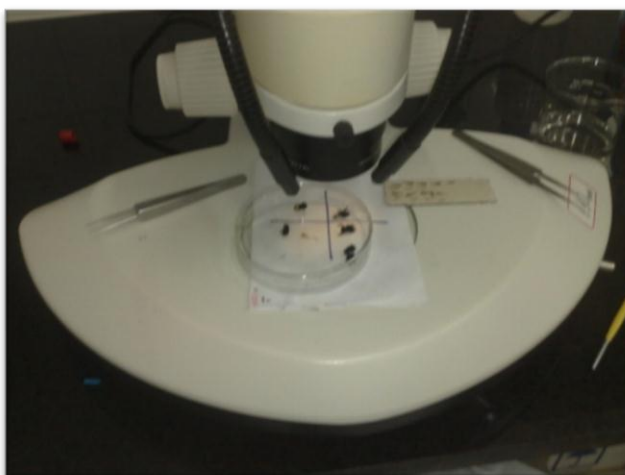


Figura 3- Dissecção das asas sob estéreomicroscópio

As asas eram então montadas sobre uma lâmina temporária e estendidas sobre massa de modelar branca estendida previamente sobre a lâmina. As asas anteriores e posteriores foram mantidas numa mesma coluna para cada indivíduo.

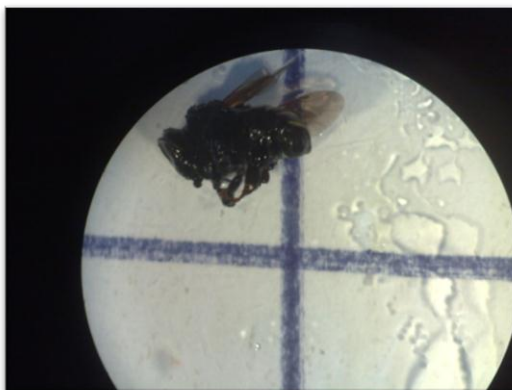


Figura 4 Abelha observada sob estereomicroscópio

As asas foram montadas de acordo com sua posição original, assim as asas esquerdas tinham a tégula originada no lado direito, e seu final no lado esquerdo. Todas as asas fixadas eram levadas ao laboratório de entomologia, onde foram realizadas as fotografias com auxílio da estéreomicroscópio de modelo *Leica EZ4D*[®], como visto na figura 5.



Figura 5- Estereomicroscópio *Leica EZ4D* conectada ao microcomputador com software de captura de imagens

As fotos foram realizadas por meio do programa *Leica application suite*[®] version 1.6.0, como visto na figura 5. Operacionalmente, utilizando o software inicialmente foi definida uma pasta de arquivamento onde foram armazenadas as imagens, selecionando *options* e em seguida *preferences* sendo confirmado o destino, selecionava-se a aba *Aquire* que recebia as informações da lupa. Após a lâmina devidamente posicionada selecionava-se *Aquire image* para a captura, e depois em *Process* onde foi definida a escala de 1 mm. Definido o nome das imagens, e selecionadas as opções: *Show*, *User Length*, *merge*, com essa

operação a escala torna-se visível, e é fundida à imagem, conforme pode ser observado na figura 6. Finalmente a imagem era salva para posterior análise morfométrica.

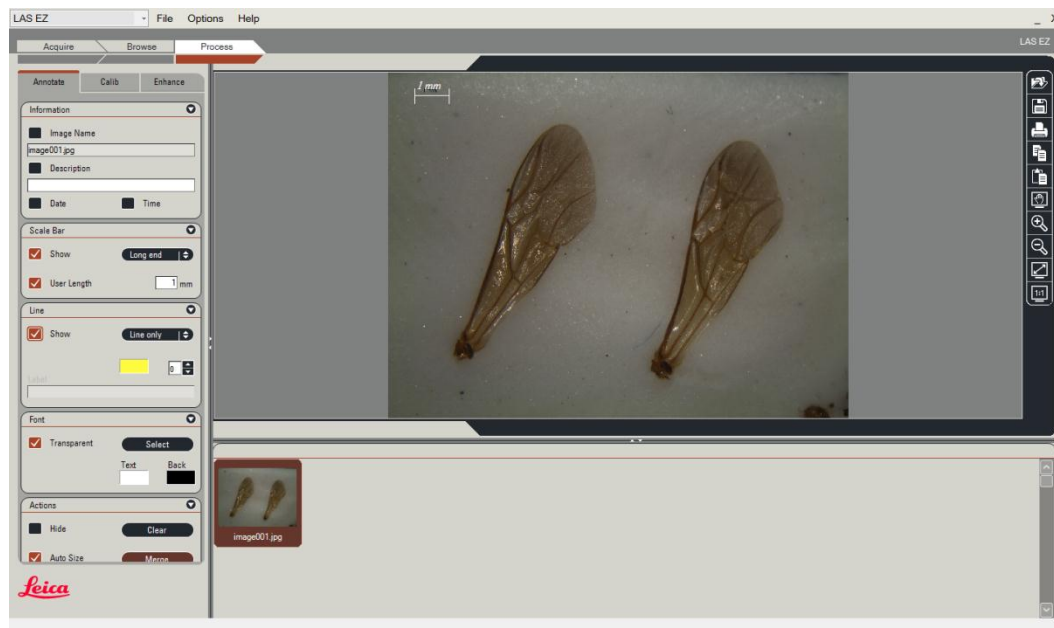


Figura 6 Tela inicial do programa *Leica application suite*® version 1.6.0, com asas selecionadas.

3.4. Obtenção das coordenadas dos marcos anatômicos

As fotos foram organizadas por colônia numa planilha de formato *Tps* utilizando o programa *Tpsutil*®, um software utilitário para análises morfométricas, como visto na figura 7. A operação realizada nesse software pode ser resumida nos seguintes passos: 1- Seleção da operação *build tps file from images*; 2- Seleção da pasta de origem das imagens em *input* e a pasta onde ficaram as planilhas em *output*; 3- Definição do nome do arquivo pela colônia de origem e finalmente 4- Seleção de *setup* e *create* para a geração do arquivo a ser utilizado posteriormente em outro software, o *Tpsdig*®.

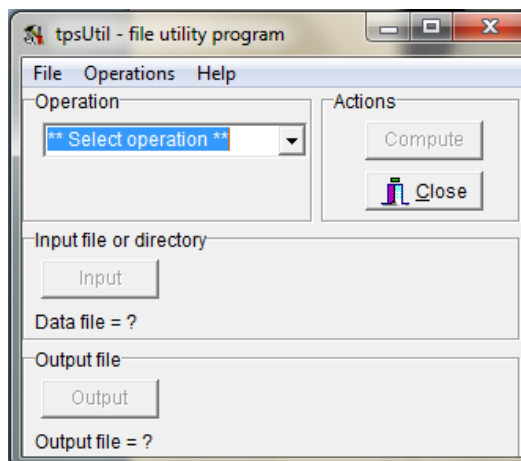


Figura 7 Tela inicial do programa *TpsUtil*[®] demonstrando suas opções de interação com as imagens.

Foi então escolhidos 13 marcos anatômicos nas asas anteriores, que foram marcados através do programa *Tpsdig*[®], como visto na figura8.

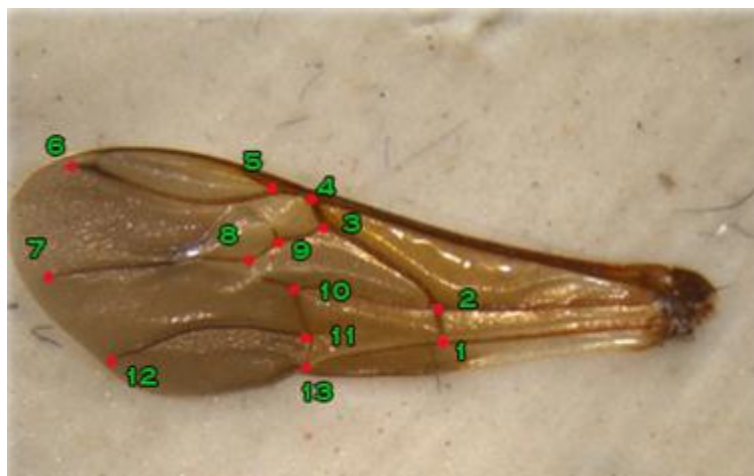


Figura 8 Asa Anterior (marcos)

Iniciou-se o programa *Tpsdig*[®], *software* de mensurações anatômicas, a operação realizada no mesmo pode ser resumida nos seguintes passos: 1- Seleção das planilhas preparadas anteriormente, através do menu: *File, input source, file*; 2- Seleção da opção *:image edit tools, set scale* para ser definida a escala como visto na figura 9, minimiza-se essa janela; 3- Seleção da linha de escala na imagem arrastando o cursor selecionado de um ponto a outro; 4- Seleção de *image edit tools*, na janela principal e pressionado o botão esquerdo sobre a opção *ok* para definir a escala; 5- Seleção das opções *label landmarks*, e *Template mode* presentes na aba *Options* com o intuito que os marcos anatômicos selecionados fossem numerados, e pudessem ser transportados para as imagens seguintes; 6- Seleção da ferramenta

Digitize landmarks e marcação dos marcos anatômicos escolhidos, entre as nervuras; 7- Seleção de *get next image* para seguir para a próxima imagem, carregando os pontos dos marcos; 8- Seleção dos pontos com o cursor, e enquanto selecionados, arrastam-se para os locais análogos nessa nova asa continuando o processo até o fim das asas para finalmente ser salvo como um arquivo *Tps*.

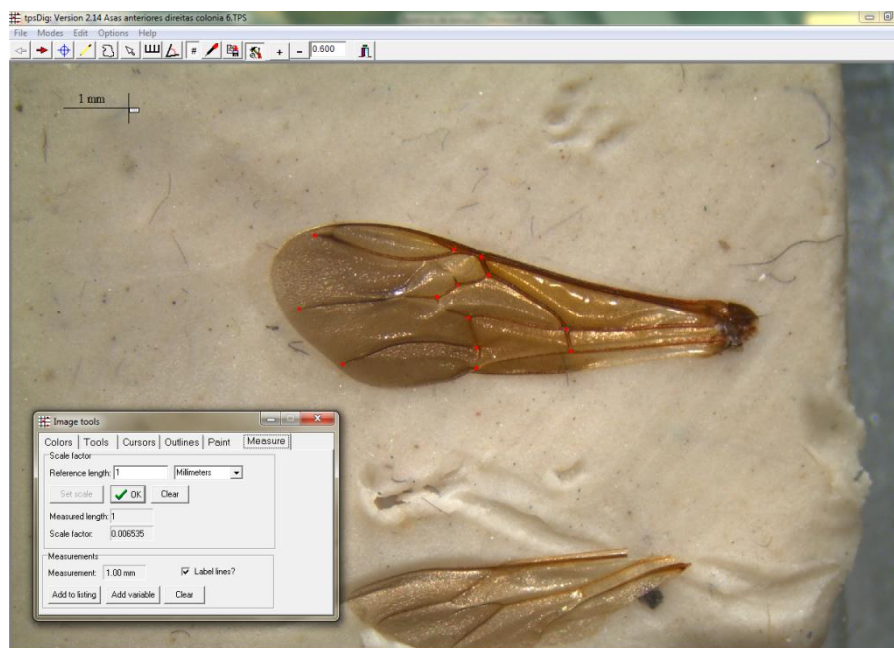


Figura 9 Tela inicial do programa *Tpsdig*® destacando os marcos, e a escala.

3.5. Tratamento estatístico

As análises de dados foram realizadas a partir da planilha de coordenadas dos marcos anatômicos de todas as asas mensuradas. Os dados da planilha foram dispostos de acordo com os quatro grupos de abelhas analisados. A seguir foi utilizado o programa *MorphoJ*®, software de análises estatísticas de dados morfométricos. A princípio os dados obtidos por morfometria geométrica foram rotacionados, reproporcionalizados, e translocados através da função *Procrustes fit*, que sobrepõe todas as configurações de marcos anatômicos criando uma configuração média pelo método dos mínimos quadrados, como visto na imagem 10.

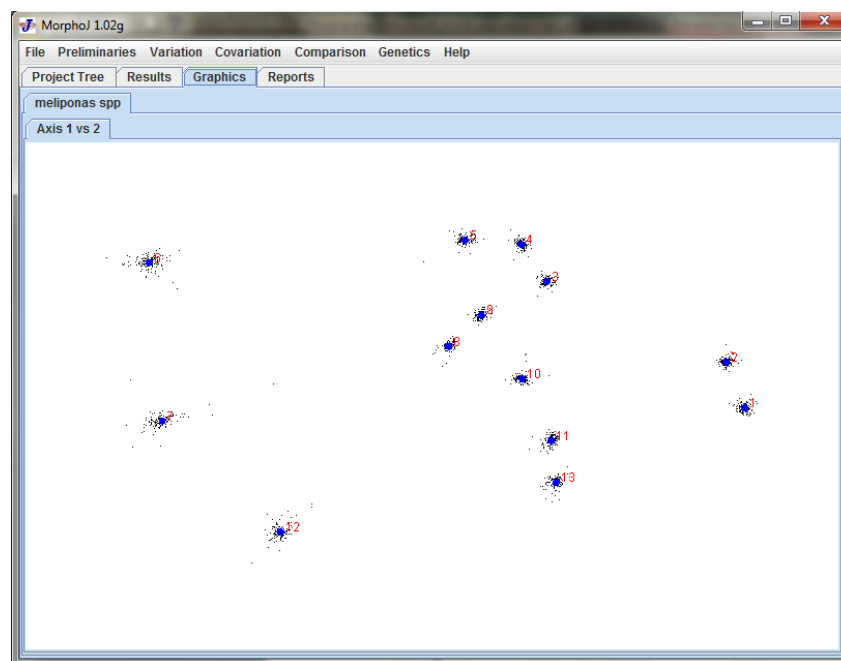


Figura 10 Marcos sobrepostos com Procrustes.

Em seguida foram definidos os grupos das asas analisadas, o primeiro grupo contendo os dados das asas das abelhas coletadas na foz do rio São Francisco, o seguinte para a espécie de *Melipona mandacaia*, e as seguintes respectivamente: *Melipona quadrifasciata anthidioides*, e *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*. Esses grupos foram definidos em uma planilha de *Microsoft Excel 2007*®, *software* e exportado novamente para o *MorphoJ*®. Esses grupos formados serão importantes para a análise de variância canônica que será realizada à *posteriori*.

A matriz geral, já organizada, foi utilizada para a geração de uma nova matriz (matriz de covariância) que representa a diferença entre as variâncias internas dos centróides dos grupos, sendo importante para futuras análises que se valem das variâncias para definirem seus componentes ilustrados num gráfico MONTEIRO e REIS, 1999).

Com os dados da matriz de covariância, foi possível criar uma superposição por coordenadas de forma (Procrustes ANOVA), dados que comparam a distância da forma e tamanho entre os grupos em duas tabelas. Finalmente foi possível criar uma análise de componentes principais que, depois de gerados em gráfico, tiveram suas cores definidas para discernir os grupos escolhidos anteriormente, com intuito de tornar visível a proximidade entre eles. Criou-se um padrão de cores para o resto de trabalho que foi definida respectivamente para os grupos: preto para colônia, verde para *Melipona mandacaia*, azul para *Melipona quadrifasciata anthidioides*, vermelho *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*.

Em seguida foi criada uma média entre as observações e exportados para o *software Past*® (HAMMER, 2001), programa de análise estatística de marcos anatômicos bastante difundido na paleontologia. Novamente os grupos foram coloridos seguindo o padrão: *dots* (preto) para *foz*, *diamond* (verde) para *M.mandacaia*, *square* (azul) para *M.q. anthidioides*, e *cross+* (vermelho) para *M.q. quadrifasciata*, como visto na figura 11. Com os grupos formados, os mesmos foram selecionados para então serem feitas as análises de UPGMA, e análise de variância canônica.

	grupo	CV1	CV2	CV3	E	F	G	H	I	J	K
12	Foz	-0.34186798	0.102884162	-1.12970160							
13	Foz	-1.26936617	-0.66843253	-1.38169049							
14	Foz	-1.38863528	-0.75036960	-1.29937121							
15	Foz	0.016788967	-0.15785165	0.319863218							
16	Foz	-0.85386340	0.814784535	0.014898664							
17	Foz	-1.99771083	0.916875117	2.022256843							
18	Foz	-1.19985729	1.189437575	1.967779948							
19	Foz	-0.57845400	0.513943247	-0.42917568							
20	Foz	-0.71332028	0.976424587	1.107737087							
21	Foz	0.343563388	-1.59179845	0.336959210							
22	Foz	-0.02203084	-1.01020654	0.142472348							
23	M_mandacaia	2.774373296	-6.00670171	-0.82221207							
24	M_mandacaia	1.840594623	-4.36412075	-0.60440254							
25	M_mandacaia	2.474760632	-3.59343610	0.623549735							
26	M_mandacaia	1.010011185	-3.57396726	0.809580323							
27	M_mandacaia	1.270499380	-3.69311943	-0.67121361							
28	M_mandacaia	0.773770694	-3.10750643	1.410965963							
29	M_mandacaia	2.715881111	-4.37912839	0.936024677							
30	M_q_anthidi	4.424987137	2.854156846	0.385500243							
31	M_q_anthidi	2.424657157	1.585936438	-0.07841512							
32	M_q_anthidi	5.267458957	1.869430874	0.260945414							
33	M_q_anthidi	2.722536031	1.869548776	-0.00918281							
34	M_q_anthidi	5.764398966	1.013375088	-1.49690291							
35	M_q_anthidi	4.591684202	1.092177596	-0.38499299							
36	M_q_anthidi	5.646888165	1.648108997	1.190227987							
37	M_q_anthidi	2.679516357	3.245038846	0.633881559							
38	M_q_anthidi	2.497884674	-1.72780686	0.058660768							
39	M_q_anthidi	5.339113382	1.702534575	1.690498211							
40	M_q_quadri	-0.06313870	-0.44835188	-2.26802883							
41	M_q_quadri	1.292676888	-0.10664639	-2.97438612							
42	M_q_quadri	0.925805828	-0.38442612	-2.18966318							
43	M_q_quadri	2.129686721	-0.30447148	-1.45925748							

Figura 11 Planilha de grupos e componentes principais dos marcos anatômicos de asas de abelha diferenciadas por cores no *past*®.

A análise de UPGMA tem como o objetivo formar um fenograma, que mostrará as relações multidimensionais entre os grupos de informações fornecidas. Já a análise de variáveis canônicas mostrará graficamente a diferença interna nos grupos definidos, e a diferença externa entre grupos, formando elipsóides.

4. Resultados e Discussão

Foram encontradas doze colônias de abelhas na área de Brejo Grande, totalizando cerca de 6% dos 200 coqueiros da região delimitada, dessas colônias nove foram utilizadas nesse trabalho, por estarem ativas. Não foi encontrado nenhum exemplar de mandaçaia em Piaçabuçu-AL ou na ilha da Criminosa. Tendo o rio São Francisco como barreira de dispersão da mandaçaia uma vez que todas as amostras estão restritas à margem Sergipana.

Uma possível hipótese para a ausência dessas abelhas na ilha da Criminosa e em Piaçabuçu seria a antropização da região para a plantação de arroz e coco. Ambas possuem um território de várzea com áreas alagadas propositalmente (represamentos). Talvez a ausência de abelhas tenha acontecido em decorrência da destruição, pelo alagamento, das plantas xerófitas comuns a áreas de semi-árido (território original da abelha) e restinga (onde foram encontradas em Brejo Grande). Esse cenário pode ter sido agravado com o alagamento sofrido há alguns anos com a criação da usina do Xingó, que culminou com o alagamento total do povoado do Cabeço próximo desses locais. Ainda que escasso o material sobre a conformação original desses dois lugares, seus territórios alagados de várzea coberto por coqueiros e aningas sugerem que a conformação do rio mudou, e suas enchentes foram fortificadas. Aconselha-se um esforço maior de amostragem, procurando áreas mais próximas do tipo de restinga encontrado em Brejo Grande-SE, para determinar com precisão a ausência dessa abelha à margem alagoana da foz do rio São Francisco.

Todas as colônias amostradas nidificavam nos coqueiros atacados pela broca-do-coqueiro (*Rhynchophorus palmarum*), vale ressaltar que normalmente são derrubados pelos produtores de coco para a não proliferação da praga, fato que pode ser determinante para a conservação dessa espécie nessa região e aponta para uma necessidade premente de medidas que assegurem a manutenção dessa população, tal como a criação de áreas de proteção ambiental, atividades de educação ambiental junto aos produtores de coco e população local.

A análise de superposição ortogonal pelos quadrados mínimos (ANOVA Procrustes) demonstrou que as mandaçaias analisadas possuem uma diferença de forma significativa, e

centróides de tamanhos semelhantes, como visto na tabelas 1 e 2. Esses resultados evidenciam claramente que não existe diferença de tamanho entre as asas das espécies de mandacaia utilizadas em relação à população dessa região ($p < 0,7357$).

Tabela 1 Análise de variância de Procrustes para tamanho de centróides.

Efeito	SQ	QM	GL	F	P
Individual	36180,125989	12060,041996	3	0,42	0,7357
Residual	0,12170918	28400,061220	118		

No entanto, quando são analisadas as diferenças de forma, essas são altamente significativas, o que gera a possibilidade real de obtenção da identidade específica da população analisada quando comparada às espécies e subespécies de mandacaia utilizadas como padrão ($p < 0,0001$).

Tabela 2 Análise de variância de Procrustes para forma.

Efeito	SQ	QM	GL	F	P
Individual	0,01639179	0,0002483605	66	5,30	<0,0001
Residual	0,12170918	0,0000468834	2596		

Para que os componentes de maior variância tivessem maior peso na análise, foi feita uma matriz de covariância antes da ACP, os autovalores representaram a variância entre os pontos decrescentemente (assim o primeiro é maior que os demais), já os autovetores definiram a posição do elipsóide em relação a cada caractere.

Semelhante a ACP, a AVC se baseia em autovalores ortogonais, tendo sua primeira variável canônica explicando a maior parte da variação entre os grupos, a segunda variável explica a maioria da variação não explicada pela primeira e assim em diante, todos os AVC extraídos tem sua significância testada, indicando sua capacidade de separar ou não os grupos de observações que foram definidos *a priori*. Por fim as distâncias de procrustes entre

os centróides, uma medida descritiva da distância entre os grupos no espaço, servindo para alocar *a posteriori* novas observações ao sistema estudado (DINIZ-FILHO, 1992).

A utilização da ACP antes da AVC permitiu eliminar um possível enviesamento, já que seus autovalores e autovetores são calculados visando apenas agrupar o máximo de variância no mínimo de componentes, podendo inclusive agrupar espécimes de grupos diferentes, originalmente, em grupos de variância semelhante. Já a AVC foi realizada *a posteriori* com os dados da ACP visando comparar seu resultado de variância dentro do grupo, com a variância entre grupos confirmando que as espécies eram mais similares entre si, mesmo que próximas de outras, caso houvesse uma divergência de resultados na AVC e ACP saberíamos que os grupos seriam condicionados, caracterizando o hibridismo.

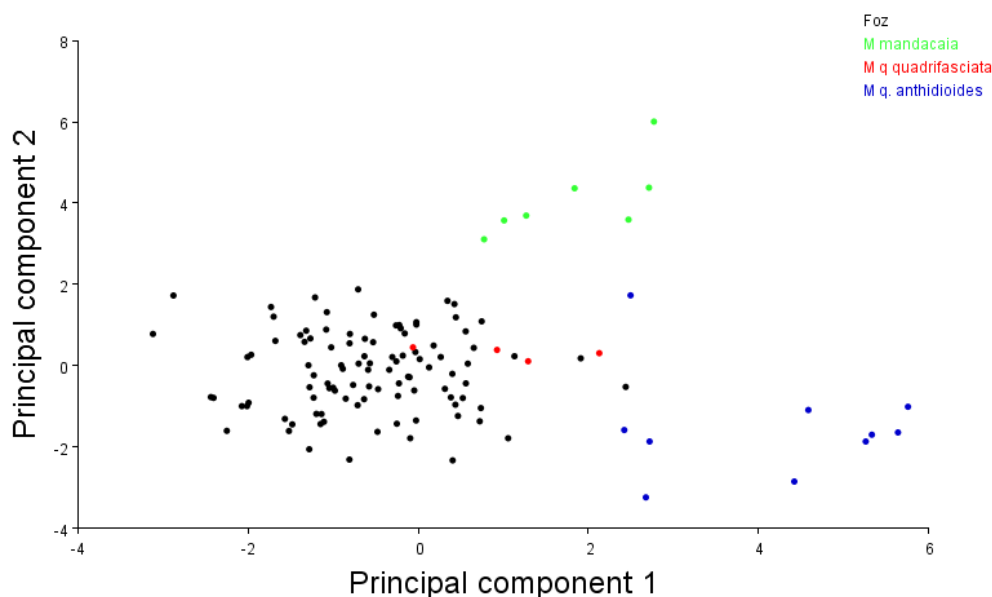


Figura 12 Análise dos componentes principais, coloridos de acordo com seu grupo de origem.

Com a ACP ficou visível que as abelhas encontradas na foz do rio São Francisco são realmente *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*, como visto na figura 12.

A análise de variáveis canônicas chegou à mesma conclusão que a ACP validando a separação das abelhas mandaçaia: *Melipona quadrifasciata anthidioides*, e *Melipona mandacaia* da *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* que ficou inserida no elipsóide das amostras de Brejo Grande, demonstrando que as *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* utilizadas como padrão pertencem estatisticamente ao mesmo grupo de Brejo Grande, como visto na figura 13.

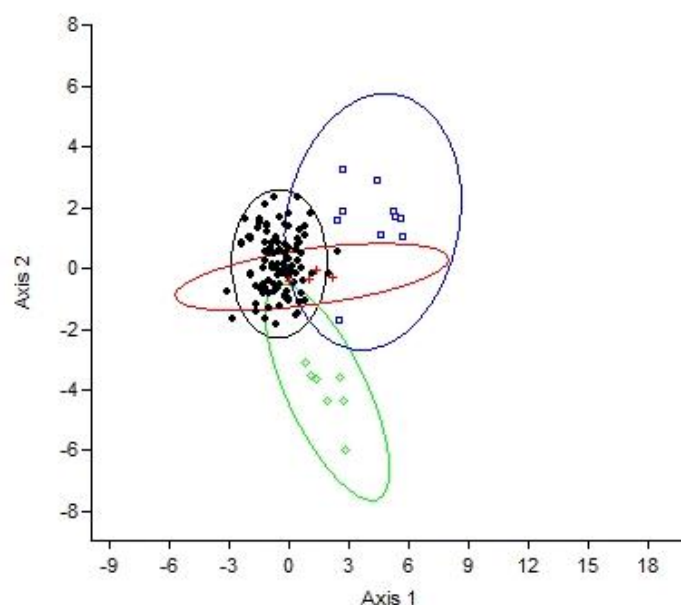


Figura 13 análise de componentes canônicos dos grupos de abelhas no *software past*®.

As análises foram submetidas a uma análise de agrupamento através de UPGMA, com o objetivo de gerar um fenograma mostrando as relações multidimensionais entre um conjunto de observações, estabelecendo grupos entre elas, o coeficiente de correlação cofenética encontrado foi de 0,80 (valores de correlação cofenética maiores que 0,7 são considerados significativos) demonstrando uma boa correlação, mesmo se tratando de espécies diferentes, como visto na figura 14.

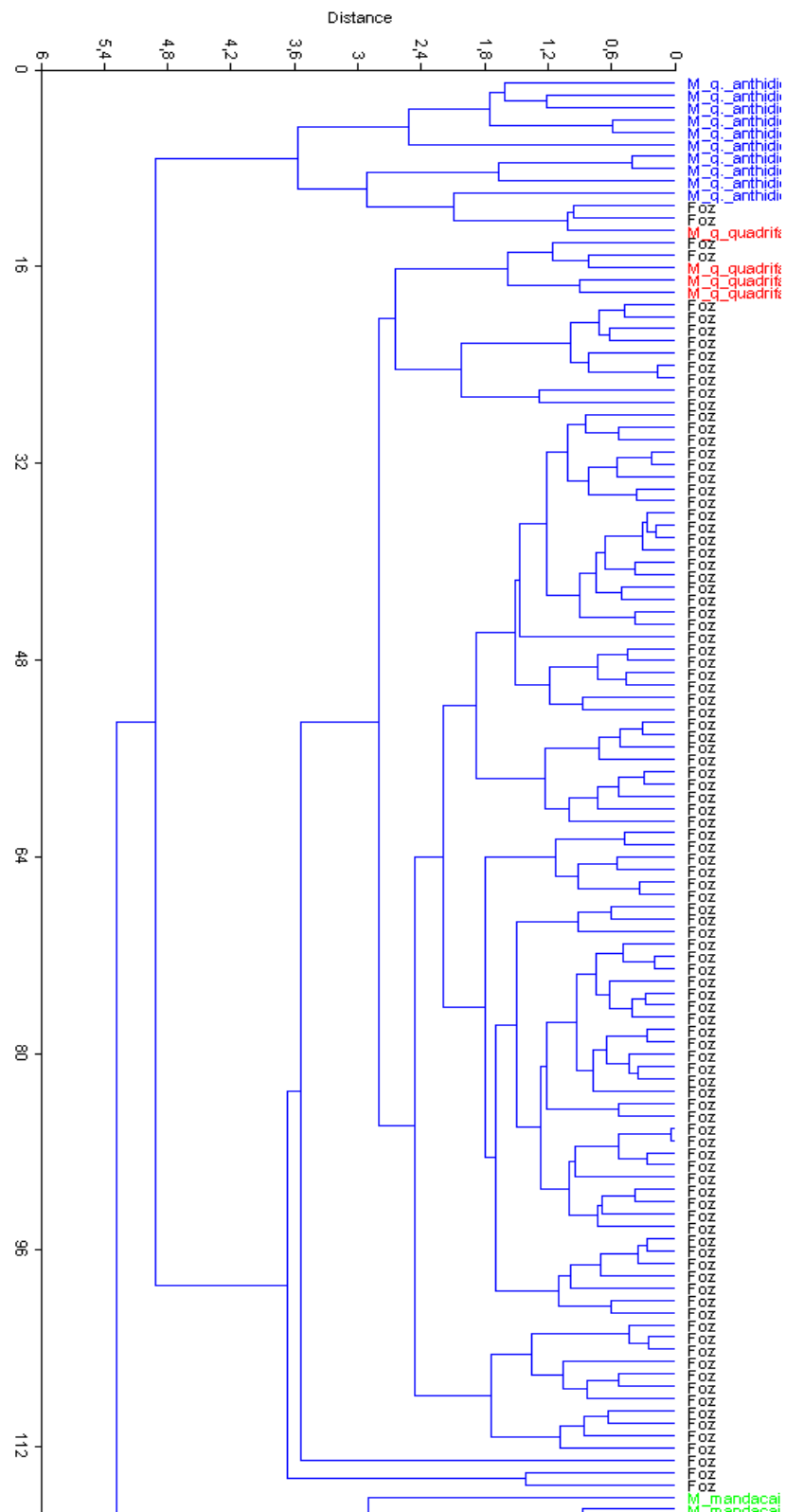


Figura 14 Fenograma dos grupos de abelhas no *software* past[®].

O fenograma evidencia os unidades taxonômicas de observação (OTU's) esses OTU's foram analisados no modo 'R', por terem partido de uma análise de ACP, gerando um coeficiente de correlação cofenética máximo de 1,0 ou -1,0. Esse coeficiente é calculado a fim de testar a representividade deste em relação às distâncias originais, já que a distância é mostrada em poucas dimensões provocando distorções. Das técnicas de SHAN, o UPGMA é aquela que, na maior parte das situações, maximiza o valor do coeficiente de correlação cofenética, provocando poucas distorções no espaço multidimensional, por esse motivo escolhido para ser utilizado nesse trabalho (DINIZ-FILHO, 1992).

Foi observado por todas as análises multivariadas que a população de abelhas madaçaias encontradas em Brejo Grande são realmente *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* como observado originalmente por Souza (2006) através da análise das faixas tergaes como observado na figura 15.



Figura 15 Figura 15A *Melipona* spp [Brejo Grande], figura 15B *Melipona Mandacaia*, figura 15C *Melipona quadrifasciata anthidioides*, 15D *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*.

5. Considerações finais

A análise multivariada identificou os espécimes de Brejo Grande como *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*. Os dados observados corroboram para o indício rio São Francisco servir de barreira geográfica para dispersão das *Meliponas quadrifasciata quadrifasciata*.

E finalmente a necessidade de criar uma área de proteção ambiental, e planos de conscientização dos produtores de coco, sobre a conservação da broca-do-coqueiro para possibilitar a nidificação da *M. quadrifasciata quadrifasciata*, que se encontra num ambiente altamente antropizado e sendo suscetível a extinção por aumento da carga genética.

6. Referências bibliográficas

ARAÚJO, Edilson Divino de. **Análise morfogeométrica de caracteres de abelhas eussociais (Hymenoptera: Apidae)**. 2002. 133 f. Tese (Doutor) - Universidade Estadual Júlio de Mesquita, Rio Claro, 2002.

ARAÚJO, E.D., M. Costa, J. Chaud-Netto & H.G. Fowler. ***Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): Interference of flight range and possible ecological implications***. *Brazilian Journal of Biology* 64: 563-368, 2004.

ARAÚJO, E. D., 2000, **Extinção em populações do gênero *Melipona* (Hymenoptera: Meliponinae)**: efeito do tamanho populacional e da produção de machos por operária. *Naturalia*, 25: 287-299.

BARNES, Robert D.; RUPPERT, Edward E.; FOX, Richard S. **Zoologia dos invertebrados**: Uma abordagem funcional-evolutiva. 7ª São Paulo: Rocca, 2005. 874-875 p.

CAMARGO, C.A. **Sex determination in bees, Production of diploid males and sex determination in *Melipona quadrifasciata***. *J. Apic. Res.* v.18, p.77-84, 1979.

CAMARGO, J.M. e PEDRO, S.R .1992 **Systematics, phylogeny Biogeography of the Meliponinae (Hymenoptera, Apis)**:A minireview.*Apidologie*23:509522, 1992.

CAMARGO, J.M. e PEDRO, S.R. *Meliponini* Lepeletier, 1836

em MOURE, J S, Urban D, Melo G A R (Orgs) **Catalogue of bee**

(Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region, Curitiba

Brasil, 1058p, 2007.

CARVALHO, G. A., KERR, W. E. & NASCIMENTO, V. A. *Sex determination in bees. XXXVII. Decrease of Xoheteroalleles in a finite population of Melipona scutellaris.*(Apidae, Meliponini). *Brazil. J. Genet.*, 18: 13-16.,1995.

CARROLL, Lewis(Charles Lutwidge Dogson).**Alice no País do Espelho:** e o que ela encontrou por lá.2ª edição, Porto Alegre,L&PM editora,2009.

DINIZ-FILHO, José Alexandre Felizola. **ESTATÍSTICA MULTIDIMENSIONAL EM BIOLOGIA EVOLUTIVA.** 1ª Rio Claro: Unesp, 1992. 34-41;64-88 p.

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 Ecol. And biogeogr. Letters*, v.4, p.195-202, 1994.

FRANCOY, Tiago Mauricio; FONSECA, Vera Lucia Imperatriz. **A MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DE ASAS E A IDENTIFICAÇÃO AUTOMÁTICA DE ESPÉCIES DE ABELHAS.** São Paulo: USP, 2010.

GILLOTT, Cedric. **Entomology.** New York: Plenum Press, 1980. 299-317 p.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S.; MCLNNES, K. Hansen. **The Insects:** An outline of entomology. Londres: Chapman & Hall, 1994.

GRODNITSKY, D. L. . *Form and function of insects wings. The Johns Hopkins University press, Baltimore, 1999.p. 261. In book reviews, systematic engomology, 2000.*

HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., e P. D. Ryan;**PAST**: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*. 4(1): 9pp. Disponível em: <http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm>. Acesso em: 08 dez. 2010.

LEVIN,S.A. .*The problem of scale in ecology.Ecology*, v.73,p.1943-1967,1992.

MIICHINER, CD (2000) **The Bees of the World. The Johns Hopkins**

Editora da universidade de Baltimore, 952 pp.

MELO G.A.R. and CAMPOS L.A.O. ; **Variações dos padrões de faixas nas populações de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1936 no Estado de Minas Gerais (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae).** Anais do XIV Congresso Brasileiro de Zoologia, Juiz de Fora, pp 76, 1987.

MORETO, G.; ARIAS, M. C. *Detection of mitochondrial DNA restriction site differences between the subspecies of *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponini)* *Neotrop. Entomol.*, v.34, n.3, p.381-385, 2005.

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

MONTEIRO, L. R.; DINIZ-FILHO, J.A.F.; REIS, S.F.; ARAÚJO, E. D. . *Geometric estimates of heritability in biological shape. Evolution (Lancaster)*, v. 56, n. 3, p. 563-572, 2002.

MOURE, J. S.; KERR, W. E. **Sugestões para modificação da sistemática do gênero**

Melipona (Hymenoptera, Apoidea). Dusenía, v.18, p. 105-29, 1950.

MOURE, J. S. **Notas sobre as espécies de *Melipona* descritas por Lepetelier em 1836 (Hymenoptera, Apidae)**. Rev Bras Biol 3:15-17,1975.

NUNES, Iorena ; *et al.* **Problemas associados à aquisição de dados em estruturas planas para fins de morfometria geométrica em abelhas eussociais**. In: IX Encontro sobre abelhas, 2010, Ribeirão Preto. Anais do IX encontro sobre abelhas: Genética e biologia evolutiva de abelhas. Ribeirão Preto : FUNPEC editora, 2010.

NUNES, L.A.; ARAÚJO, E.D.; CARVALHO C.A.L.; WALDSCHMIDT, A. M. . ***Population divergence of melipona quadrifasciata anthidioides (Hymenoptera: Apidae) endemic to the semi-arid region of state of Bahia, Brazil***. Sociobiology, v. 52,p. 81-93, 2008.

RAVEN, P. H. *et al.* **Biologia Vegetal**, Ed Guanabara/Koogan, 6ª Edição, 2001, p. 510-519.

REYMENT, R. **An idiosyncratic history of early morphometrics**, p. 15-22, In:

Marcus, L.; Corti, M.; Loy, A.; Naylor, G., Slice, D.E. (eds.), Advances in

Morphometrics. NATO ASI Series A: Life Sciences, v. 284. Plenum Publishing

Corp., New York. 1996.

RIDLEY, Mark. **Evolução**. 3ª São Paulo: Artmed Editora Sa, 2004. 407-416 p.

RIOS, Natalie. **Povoado Cabeço (Brejo Grande - SE)**. Texto publicado originalmente no Jornal Bocaberta de outubro de 2005 - Bocaberta é um periódico independente, financiada pelo Centro Acadêmico de Biologia - UNICAMP. Campinas, SP.. Disponível em: <<http://nmrios.multiply.com/journal/item/1>>. Acesso em: 08 dez. 2010.

RUTTNER, F. ***Biogeography and taxonomy of honeybees***. Ed. Springer-Verlag, New York: 1-284 p. 1988.

SILVEIRA, Fernando A.; MELO, Gabriel A.r.; ALMEIDA, Eduardo A.b.. **Abelhas brasileiras**: Sistemática e identificação. 1ª Belo Horizonte: Fundação Araucária, 2002,29-42;253 p.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry**, 3th ed. W.H. & Freeman, New York, 1995, 887p.

SOUZA, C. B.; SANTOS, D. M.; ARAUJO, E. D. ***Nidificação de Mandaçaia (Melipona quadrifasciata quadrifasciata) em coqueirais da região da foz do rio São Francisco***. Anais do XVI Congresso Brasileiro de Apicultura. Aracaju, 2006.

SOUZA, Roberaldo Carvalho de. **Área de proteção ambiental de piaçabuçu**: diagnóstico, avaliação e zoneamento. Maceió: Universidade Federal de Alagoas, 2000. 337-351 p.

SOUZA, Rogério O. *et al.* **Differentiation of *Melipona quadrifasciata* L. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) subspecies using cytochrome b PCR-RFLP patterns**. Genetics And Molecular Biology, São Paulo, n. , p.445-450, 2008.

SCHWARZ, H. ***Stingless bees (Meliponidae) of the Western Hemisphere***. Bulletin of the American Museum of Natural History, p.1-167, 1948.

WALDSCHMIDT, Ana M.; BARROS, Everaldo G. de; CAMPOS, Lucio A.o.. ***A molecular marker distinguishes the subspecies *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae).*** *Genetics And Molecular Biology*, Viçosa, n. , p.609-311, 29 mar. 2000.

WALDSCHMIDT, A. M.; MARCO JUNIOR, Paulo de; BARROS, E.G.; CAMPOS,L.A.O. ***Genetic analysis of *Melipona quadrifasciata* Lep.(Hymenoptera:Apide, Meliponinae) with RAPD markers.*** *Brazilian Journal of Biology*,v.62, p. 923-928;2002.

WILLE, A. **Philogeny and relationships among the genera and subgenera of the stingless bees (Meliponinae) of the world.** *Rev. Biol. Trop.*, v. 27, p. 241-277, 1979.