

**NATÁLIA TIE YOSHINAGA DE REZENDE**

**IMPACTOS DA QUALIDADE DO AMBIENTE NO DESENVOLVIMENTO DE ASAS  
E NO DIMORFISMO SEXUAL DE *EPICHARIS (ANEPICHARIS) DEJEANII*  
LEPELETIER (HYMENOPTERA, APIDAE, EPICHARITINI)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Dra. Karla Suemy Clemente Yotoko

Coorientadores: Dr. Helder Canto Resende e Dra. Nicole Estefanía Ibagón Escobar

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

R467i  
2024 Rezende, Natália Tie Yoshinaga, 1994-  
Impactos da qualidade do ambiente no desenvolvimento de  
asas e no dimorfismo sexual de *Epicharis (Anepicharis) dejeanii*  
Lepelletier (Hymenoptera, Apidae, Epicharitini) / Natália Tie  
Yoshinaga Rezende. – Viçosa, MG, 2024.  
1 dissertação eletrônica (42 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Karla Suemy Clemente Yotoko.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Biologia Geral, 2024.

Referências bibliográficas: f. 31-40.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.438>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Abelhas - Morfometria. 2. Asas. 3. Caracteres sexuais.  
I. Yotoko, Karla Suemy Clemente, 1974-. II. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Programa  
de Pós-Graduação em Ecologia. III. Título.

CDD 22. ed. 595.79


NATÁLIA TIE YOSHINAGA DE REZENDE

**IMPACTOS DA QUALIDADE DO AMBIENTE NO DESENVOLVIMENTO DE ASAS  
E NO DIMORFISMO SEXUAL DE *EPICCHARIS (ANEPICCHARIS) DEJEANII*  
LEPELETIER (HYMENOPTERA, APIDAE, EPICCHARITINI)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: 28 de junho de 2024

Assentimento:

Documento assinado digitalmente  
 NATALIA TIE YOSHINAGA DE REZENDE  
Data: 06/08/2024 00:41:25-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Natália Tie Yoshinaga de Rezende  
(Autora)

Documento assinado digitalmente  
 KARLA SUEMY CLEMENTE YOTOKO  
Data: 05/08/2024 14:45:55-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Karla Suemy Clemente Yotoko  
(UFV)  
(Orientadora)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

A minha orientadora **Dra. Karla Suemy Clemente Yotoko**, pela oportunidade de realizar a pesquisa. Te agradeço imensamente pela paciência, todo suporte e apoio, muito obrigada por todas as horas de trabalho e esforço empregadas para realização da dissertação.

Aos meus co-orientadores **Dr. Helder Canto Resende** e **Dra. Nicole Estefanía Ibagón Escobar**.

Aos senhores **Antônio Eustáquio Ferreira Costa** e **Oswaldo Diniz Pinheiro** pela disponibilização de espaço físico para o estudo.

À Universidade Federal de Viçosa.

Ao programa de Pós-graduação em Ecologia.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.....	12
Figura 2.....	15
Figura 3.....	20
Figura 4.....	22
Figura 5.....	23
Figura 6.....	24
Figura 7.....	25

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1.....	14
Tabela 2.....	19

## RESUMO

REZENDE, Natália Tie Yoshinaga M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2024. **Impactos da qualidade do ambiente no desenvolvimento de asas e no dimorfismo sexual de *Epicharis (Anepicharis) dejeanii* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Epicharitini).** Orientador: Karla Suemy Clemente Yotoko. Coorientadores: Helder Canto Resende e Nicole Estefanía Ibagón Escobar.

*Epicharis (Anepicharis) dejeanii* é uma abelha solitária que nidifica no solo e constrói seus ninhos em agregados. Até então, agregados da espécie foram encontrados em ambientes de Mata Atlântica e na transição deste bioma com o Cerrado. Assim como outras abelhas, apresenta dimorfismo sexual de comportamento, com fêmeas que, além de se reproduzirem, constroem, reparam e provêm as células de cria e machos que limitam o comportamento à própria alimentação e à cópula. Neste trabalho, estudamos dois agregados da espécie encontrados em duas áreas urbanas que diferem na disponibilidade de recursos para estas abelhas. Utilizando ferramentas de morfometria geométrica, comparamos parâmetros como assimetria, alometria, forma e tamanho das asas anterior e posterior de fêmeas e machos nas duas áreas para testar a hipótese de que o desenvolvimento embrionário, com foco no desenvolvimento das asas, é mais impactado em áreas com menor disponibilidade de recursos. Nossos resultados revelaram mais assimetria flutuante de tamanho nas asas posteriores, sugerindo que este par de asas é um marcador mais eficiente de diferenças ambientais, muito provavelmente por exercer papel coadjuvante no voo. Condizentemente com este resultado, encontramos claro dimorfismo sexual de forma e tamanho nas asas anteriores, sem diferenças entre as áreas, e dimorfismo sexual de tamanho das asas posteriores apenas na Área 1, que apresenta maior disponibilidade de recursos que a Área 2. Nossos resultados mostraram também que os machos apresentaram mais variância, tanto de forma quanto de tamanho que as fêmeas, resultado que dialoga com o fato de que não têm um conjunto homogêneo e estereotipado de comportamentos fundamentais para a sobrevivência da prole. Por outro lado, as diferenças entre as áreas foram detectadas na forma das asas anteriores (segundo componente principal) e posteriores (primeiro componente principal) das fêmeas, e não dos machos, revelando que este é o sexo que apresenta mais plasticidade diante de diferenças ambientais.

**Palavras chaves:** Morfometria geométrica; Assimetria flutuante; Asas posteriores; Abelhas solitárias.

## ABSTRACT

REZENDE, Natália Tie Yoshinaga de M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June 2024. **Impacts of environmental quality on wing development and sexual dimorphism of *Epicharis (Anepicharis) dejeanii* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Epicharitini)**. Advisor: Karla Suemy Clemente Yotoko. Co-supervisors: Helder Canto Resende and Nicole Estefanía Ibagón Escobar.

*Epicharis (Anepicharis) dejeanii* is a solitary bee that nests in the ground and builds its nests in aggregations. So far, aggregations of this species have been found in Atlantic Forest environments and in the transition zone between this biome and the Cerrado. Like other bees, it exhibits sexual behavioral dimorphism, with females that, in addition to reproducing, build, repair, and provision the brood cells, and males whose behavior is limited to feeding and copulating. In this study, we investigated two aggregates of the species found in two urban areas that differ in the availability of resources for these bees. Using geometric morphometry tools, we compared parameters such as asymmetry, allometry, shape, and size of the forewings and hindwings of females and males in the two areas to test the hypothesis that embryonic development, focusing on wing development, is more impacted in areas with lower resource availability. Our results revealed more fluctuating asymmetry in the size of the hindwings, suggesting that this pair of wings is a more efficient marker of environmental differences, most likely due to its auxiliary role in flight. Consistent with this result, we found clear sexual dimorphism in the shape and size of the forewings, with no differences between the areas, and sexual dimorphism in the size of the hindwings only in Area 1, which has a higher availability of resources than Area 2. Our results also showed that males exhibited more variance in both shape and size than females, a finding that aligns with the fact that they do not have a homogeneous and stereotyped set of behaviors essential for the survival of the offspring. On the other hand, the differences between the areas were detected in the shape of the females' forewings (second principal component) and hindwings (first principal component), and not the males', revealing that female is the sex that shows more plasticity in response to environmental differences.

Keywords: Geometric morphometry; Fluctuating asymmetry; Hindwings; Solitary bees.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	9
2.	OBJETIVO .....	13
	2.1.1 Objetivo principal:.....	13
	2.1.2 Objetivos específicos:.....	13
3.	MATERIAL E MÉTODOS .....	13
	3.1 Amostras .....	13
	3.2 Morfometria Geométrica.....	14
	3.2.1 Procedimentos Preliminares .....	14
	3.2.2 Assimetria Direcional e Flutuante .....	16
	3.2.3 Alometria.....	17
	3.2.4 Dimorfismo sexual de tamanho e diferenças em função da área de estudo .....	17
	3.2.5 Dimorfismo sexual de forma e diferenças em função da área de estudo.....	17
	3.2.6 Análises estatísticas .....	18
4.	RESULTADOS .....	18
	4.1 Delimitação de Marcos Anatômicos .....	18
	4.2 Assimetria .....	19
	4.3 Tamanho do Centroide .....	21
	4.4 Alometria.....	23
5.	DISCUSSÃO .....	26
	CONCLUSÕES.....	29
	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA .....	31
	MATERIAL SUPLEMENTAR.....	41

## 1. INTRODUÇÃO

Entre os Hymenoptera, é comum haver dimorfismo sexual de tamanho (Stubblefield & Seger, 1994; Ayasse et al., 2001), sendo as fêmeas, como em cerca de 80% dos insetos, maiores que os machos (Honek, 1993; Frank, 1995; Tammaru et al., 2010; Esperk et al., 2007; Helm et al., 2021; Rittschof & Denny, 2023; Khomitskiy et al., 2024). A julgar apenas pelo fato de que machos de Hymenoptera são haploides e as fêmeas são diploides (Dzierzon, 1845; Whiting, 1927), seria esperado que os machos fossem sempre menores que as fêmeas, já que genomas menores condicionam células menores (Gregory, 2001), que produzem quantidades menores de proteínas (Orr-Weaver, 2015). No entanto, há espécies na quais os machos são maiores (Teder, 2005; Rohner et al., 2018) e, mesmo nas espécies que produzem machos em média menores que as fêmeas, há machos tão grandes quanto as maiores fêmeas. Isto se explica pela diploidização das células musculares dos machos (células que não finalizam o processo de mitose, ficando com um núcleo maior e, portanto, com um volume maior e maior capacidade de produção de proteínas), de modo que estes podem ter o mesmo tamanho ou até serem maiores que as fêmeas (Aron et al., 2005).

A diferença de tamanho entre machos e fêmeas está diretamente relacionada às demandas físicas e metabólicas associadas às atividades desempenhadas por cada sexo. As fêmeas desempenham papéis cruciais na construção e manutenção dos ninhos (Antoine & Forrest, 2021) e apresentam morfologias adaptadas para carregar recursos tais como pólen, néctar e óleos florais (Cook, 1888; Buchmann, 1987; Alves-dos-Santos et al., 2007; Roswell et al., 2019). Além disso, como ocorre em outros insetos, há seleção sexual para fêmeas maiores, que podem apresentar maior fecundidade e, portanto, gerar mais descendentes (Peters, 1983; Fox & Czesak, 2000; Davidowitz, 2008; Vea et al., 2021). Machos não participam de atividade de forrageio, provisão de ninhos (Buchmann, 1987) ou posturas de ovos, sendo seu principal papel a cópula para dar origem às fêmeas da próxima geração (Zhao et al., 2021), de modo que são selecionados em função do sucesso reprodutivo (Wcislo, 1992; Hiller & Wittmann, 1994; Stone et al., 1995; Rowe & Houle, 1996; Alcock et al., 2010), que pode ou não estar vinculado ao tamanho corporal (Crozier & Page, 1985; Zhao et al., 2021).

O dimorfismo sexual de tamanho dos indivíduos pode ter sua expressão modulada por variáveis ambientais como temperatura (Radmacher & Strohm, 2010), disponibilidade, quantidade e qualidade dos recursos alimentares (Stillweel et al., 2010; Mirth et al., 2021), que afetam diretamente o desenvolvimento das larvas. Com isso, larvas malnutridas podem dar origem a adultos com modificações morfológicas e redução de tamanho (Davidowitz et al., 2004; Davidowitz & Nijhout, 2004; Stillweel et al., 2007; Teder et al., 2014; Helm et al., 2021).

Em seu trabalho com a espécie de abelha solitária *Osmia cornuta* Smith, 1853 (Hymenoptera, Megachilidae), Bosch (2008) mostrou que a disponibilidade de recursos pode interferir no tamanho corporal da prole, uma vez que interfere na quantidade de provisão das células de cria e promove a produção de indivíduos menores, tanto machos quanto fêmeas em ambientes com recursos alimentares limitados. Teder & Kaasik (2023), trabalharam com 85 espécies de insetos e destacaram que ambientes com carência de alimentos reduzem a taxa de sobrevivência e levam à formação de indivíduos menores, especialmente fêmeas. Isto sugere que as fêmeas sejam mais sensíveis que os machos à escassez nutricional, evidenciando como a limitação de recursos alimentares pode influenciar de maneira desproporcional o crescimento e a adaptação de machos e fêmeas, com implicações específicas para a saúde e o sucesso reprodutivo.

A redução do tamanho em função de componentes nutricionais destaca a capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais (Bonduriansky & Day, 2003; Johnstone et al., 2009; Veà et al., 2021). Esta plasticidade pode ser observada em diferentes aspectos, como a maturação sexual precoce em ambientes desafiadores (Blanckenhorn & Demont 2004) e a adaptação da atividade forrageira de acordo com os recursos que a localidade apresenta (Bouduriansky, 2007; Stillweel et al., 2010). As alterações de tamanho são mais notáveis no sexo de maior tamanho, que no caso de Hymenoptera é em geral o feminino (Teder et al., 2021; Cordeschi et al., 2024).

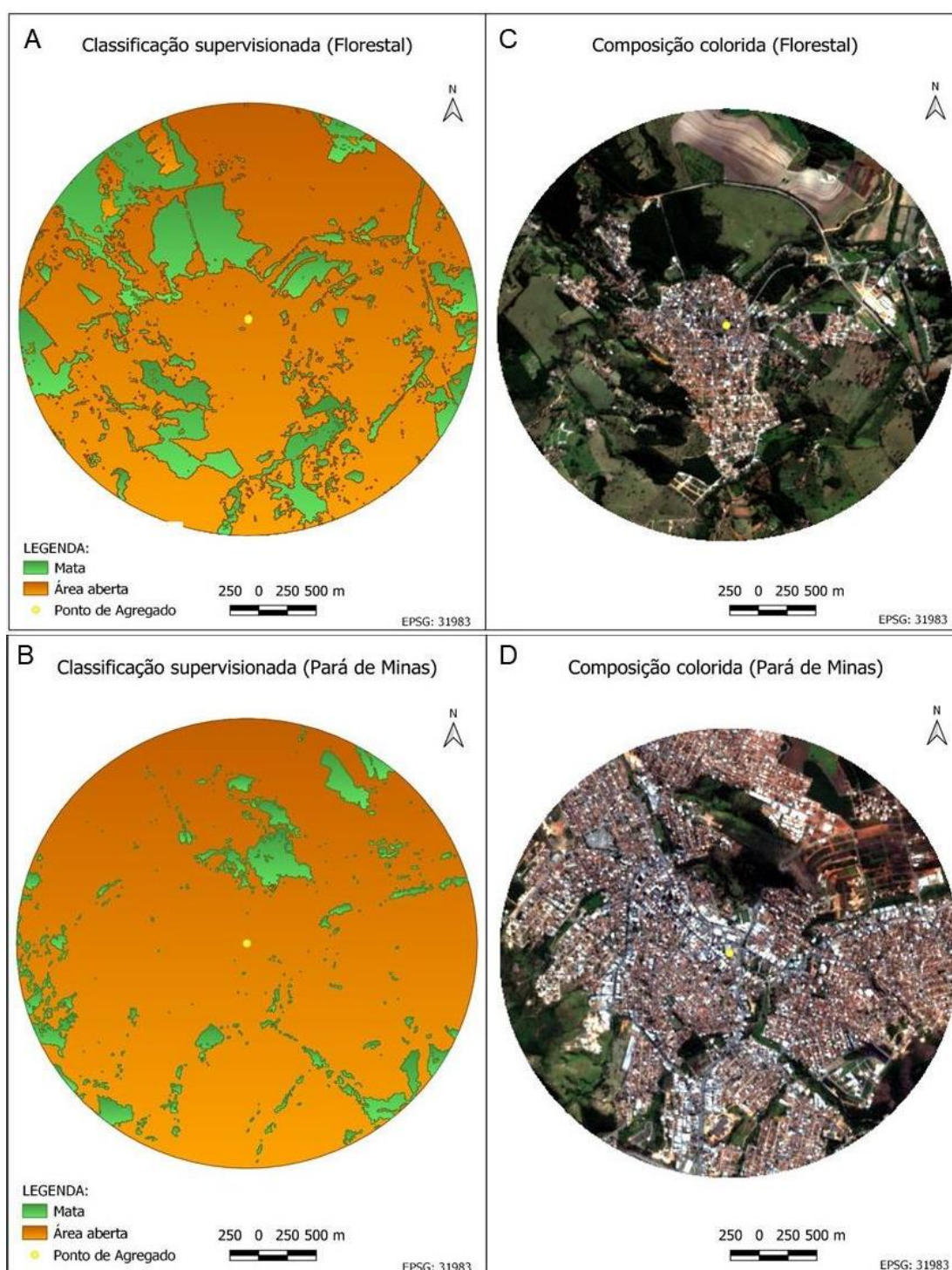
*Epicharis (Anepicharis) dejeanii* (Lepeletier, 1841), da tribo *Epicharitini* Schrottky, 1913 são abelhas solitárias nativas da região neotropical com ampla distribuição no Brasil. Estas abelhas formam agregados e nidificam no solo (Hiller & Wittmann, 1994; Moure et al., 2007; Dec & Vivallo, 2019; Dec & Vivallo, 2020; Pina et al., 2020; Uemura et al., 2021; Rezende, in prep). Há registros de agregados da espécie na Mata Atlântica (Hiller & Wittmann, 1994; Dec & Vivallo, 2019, 2020; Pina et al. 2020; Uemura et al. 2021; Faria, 2014) e em regiões de transição com o Cerrado (Rezende et al, in prep.). Apesar de não ser oligolética, apresenta certa preferência por algumas espécies vegetais, e, além de outros recursos, coleta óleo floral, provindo principalmente da família Malpigiaceae, de modo que sua ocorrência depende da presença de recursos específicos (Hiller & Wittmann, 1994; Ayasse et al., 2001; Dec & Vivallo, 2019; Uemura et al., 2021).

*E. dejeanii* apresenta dimorfismo sexual na coloração do clipeo e labro, que são amarelos nos machos e pretos nas fêmeas. A cor da escopa pode ser amarela, preta ou mesclada nas fêmeas, mas apenas preta ou amarela nos machos. Além disso, como em outras espécies de abelhas, há diferenças significativas no comportamento de fêmeas e machos. As fêmeas apresentam um amplo conjunto de comportamentos, fundamentais para a sobrevivência da

prole. São elas as responsáveis pela oviposição, coleta de recursos como pólen, néctar e óleos florais, tanto como provisão da prole, quanto para sua própria alimentação e construção de novos ninhos. Os machos, por sua vez, se restringem ao comportamento de cópula, que ocorrem de duas maneiras principais: voos rasantes nas entradas dos ninhos em busca de fêmeas ou espera pelas fêmeas nas flores em áreas próximas ao agregado (Hiller & Wittmann, 1994; Dec & Vivallo, 2020; Pina et al., 2020), o que também foi observado em outras abelhas solitárias (Paxton, 2005; Alcock et al., 2010). Pina et al. (2020) mostraram que os machos de *E. dejeanii* que adotam a estratégia de patrulha nas flores são maiores que os que adotam a estratégia de voos rasantes no ambiente do agregado. Há, entretanto, outros comportamentos descritos isoladamente, como machos sobrevoando os corredores utilizados pelas fêmeas entre o ninho e as flores nas quais elas coletam recursos (Hiller & Wittmann, 1994) ou escavando o solo à procura de fêmeas recém emergidas (Dec & Vivallo, 2020).

Neste trabalho, estudamos a forma e o tamanho das asas anteriores e posteriores de machos e fêmeas de *E. dejeanii* coletados em dois agregados localizados em regiões urbanas com vegetação de transição entre Mata Atlântica e Cerrado, no estado de Minas Gerais, mais especificamente nos municípios de Florestal (Área 1) e Pará de Minas (Área 2). De acordo com Rezende (2021), o agregado localizado na Área 1 ocupa uma área de aproximadamente 600 m<sup>2</sup> na área verde (quintal e jardim) de um lote residencial, em uma das ruas centrais do município. Enquanto o agregado localizado na Área 2 ocupa uma área de aproximadamente 200 m<sup>2</sup> no fundo de um lote sem edificações, atualmente utilizado como estacionamento para carros, em uma das ruas centrais do município.

Ainda no estudo de Rezende (2021) foram mapeadas e avaliadas as áreas verdes no entorno dos pontos centrais de cada agregado para um raio de 2 Km a partir do centro do agregado. A composição da paisagem mostra que há maior área verde no entorno do agregado da Área 1, onde a cobertura vegetal ocupa 25% da área de forrageamento delimitada, contra apenas 8% de cobertura vegetal do agregado da Área 2. A distância de voo até o fragmento florestal mais próximo ao agregado também foi menor para as abelhas da Área 1, contando com 300 m em linha reta, contra 550 m de voo para as abelhas do agregado da Área 2 (**Fig 1**).



**Figura 1.** Cobertura vegetal num raio de 2 km, em torno dos agregados coletados (A) na Área 1 (Florestal, MG) e (B) na Área 2 (Pará de Minas, MG). O ponto amarelo no centro de cada área indica a localização do agregado. O raio em torno do fragmento da Área 1 tem 25% de área verde (316,7 ha de área verde, 13,5 ha dos quais estão em uma floresta urbana). O raio em torno da Área 2 conta com apenas 8% de área verde (101,5 ha de área verde, 19,5 ha dos quais estão numa floresta urbana). C e D mostram a vista aérea das circunferências mostradas em A e B, respectivamente. Dados extraídos de Rezende, 2021.

Especificamente, utilizamos métodos de morfometria geométrica aplicados às asas anteriores e posteriores de fêmeas e machos de *E. dejeanii* coletados nas duas áreas para investigar parâmetros como assimetria direcional e flutuante, além do dimorfismo sexual de tamanho e forma para tentar correlacionar diferenças encontradas nestes parâmetros à oferta de nutrientes, que, segundo Rezende (2021) varia entre as áreas em estudo.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1.1 Objetivo principal:**

Testar a hipótese de que o desenvolvimento embrionário, com foco no desenvolvimento das asas de fêmeas e machos, é mais impactado em áreas com menor disponibilidade de recursos.

### **2.1.2 Objetivos específicos:**

1. Utilizar métodos de morfometria geométrica para comparar assimetria, alometria, forma e tamanho de asas anteriores e posteriores de machos e fêmeas de *E. dejeanii* coletados em duas áreas que diferem em termos de disponibilidade de recursos.
2. Comparar asas anteriores e posteriores quanto ao grau de dimorfismo sexual de forma e tamanho que apresentam.
3. Comparar as asas anteriores e posteriores quanto ao grau de diferenças de forma e tamanho que apresentam em função do ambiente do local de coleta.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Amostras**

Entre os anos de 2019 e 2022, foram coletados 292 espécimes de *E.dejeanii*, que se encontram armazenados no Laboratório de Genética da Conservação (LaBee) da Universidade Federal de Viçosa – *campus* Florestal (Tab.1). Estas amostras foram coletadas em dois agregados, localizados em centros urbanos nos municípios de Florestal - 19° 52' 58" S - 44° 25' 54" W (Área 1) e Pará de Minas - 19° 51' 54" S - 44° 36' 07" W (Área 2), Minas Gerais. Todas as coletas ocorreram em ambiente natural, entre os meses de fevereiro a abril, uma vez por semana no período das 08:00 às 12:00 (horário de maior atividade das abelhas). Para mitigar a perturbação que a coleta pudesse provocar em cada agregado, nos guiamos por um conjunto de restrições que consistiram em não coletar fêmeas com escopas carregadas de óleo ou pólen e

limitar o número de indivíduos coletados por dia a três indivíduos de cada cor e cada sexo (três fêmeas de escopa amarela, três de escopa preta e três de escopa mesclada; três machos de escopa amarela e três de escopa preta).

O número de machos e fêmeas coletados em cada agregado diferiu em função de particularidades locais no momento das coletas, resultando em maior quantidade de fêmeas no agregado da Área 2 e machos no agregado da Área 1 (Tab.1). O agregado da Área 2 não possui vegetação no chão, sendo fácil a visualização dos *tumulus*, indivíduos no chão e coleta com o próprio puçá. Já o agregado da Área 1 se encontra em local coberto por muita vegetação rasteira, dificultando a visualização dos *tumulus* e impossibilitando a visualização dos indivíduos no chão. Não houve coletas na Área 1 no ano de 2019, pois o agregado não havia sido descoberto até então.

**Tabela 1:** Número de Espécimes de *E. dejeanii* coletados nos agregados de Florestal, MG (Área 1 – maior cobertura vegetal) e Pará de Minas, MG (Área 2 – menor cobertura vegetal) entre os anos de 2019 e 2022.

Ano	Área 1		Área 2		Total
	♀	♂	♀	♂	
2019	0	0	12	1	13
2020	12	27	44	30	113
2021	19	23	32	9	83
2022	10	11	45	17	83
<b>Total</b>	<b>41</b>	<b>61</b>	<b>133</b>	<b>57</b>	<b>292</b>

### 3.2 Morfometria Geométrica

#### 3.2.1 Procedimentos Preliminares

Utilizando uma pinça entomológica de ponta fina, procedeu-se à remoção das quatro asas (anterior direita, anterior esquerda, posterior direita e posterior esquerda) de cada espécime de *E. dejeanii*. Cada asa foi então montada em uma lâmina de vidro com uma escala de 5 mm, e digitalizada sob microscópio estereoscópio SZ61TR - tubo trinocular com câmera fotomicrográfica (Prime Cam HD 6 megapixels) acoplada em conjunto com software Mosaic 2. 4. As imagens foram submetidas a análises de morfometria geométrica (Bookstein, 1991; revisão em Mitteroecke & Gunz, 2009). As imagens geradas foram salvas em um formato compatível com o pacote TPS (Rohlf, 2015), que permite a delimitação dos marcos anatômicos no programa TPSdig (Rohlf, 2006), que devem ser homólogos e estar presentes em todas as imagens. A Figura 2 mostra os oito marcos anatômicos delimitados em cada asa (anterior e

posterior). As asas anteriores e posteriores foram avaliadas em análises independentes. Amostras nas quais não foi possível marcar todos os oito marcos foram excluídas das análises subsequentes.

Depois de delimitados os marcos anatômicos, as formas e tamanhos das asas foram avaliados com o auxílio do programa MorphoJ (Klingenberg, 2011). O tamanho de cada asa foi estimado em termos do tamanho do centroide, que consiste na soma dos quadrados das distâncias de cada marco anatômico (**Fig. 2**) ao centroide (centro de gravidade) de cada imagem (Fornel & Cordeiro-Estrela, 2012).



**Figura 2.** Asas anterior (A) e posterior esquerdas (B) de *Epicharis (Anepicharis) dejeanii*, evidenciando os oito marcos anatômicos (em vermelho) delimitados em cada uma.

Posteriormente, foram estimadas as coordenadas de Procrustes, que resultam da sobreposição das imagens de todas as asas anteriores (ou todas as asas posteriores). Antes da sobreposição, cada conjunto de imagens de asas foi redimensionada para apresentar o mesmo tamanho de centroide. As imagens também foram posicionadas na mesma direção e sentido. Para isto, foram rotacionadas e transladadas para uma mesma posição, de modo que o marco anatômico 1 de todas as imagens estivesse num espaço restrito de coordenadas, o mesmo acontecendo com todos os outros marcos anatômicos (Rohlf, 1999).

O procedimento de delimitação dos marcos anatômicos foi feito duas vezes em cada imagem para avaliar a magnitude do erro de delimitação, que, quando significativa, compromete a estimativa de diferença de forma e tamanho entre as amostras em análise. Para avaliar a significância do erro de delimitação, fizemos uma ANOVA (Análise de Variância) considerando os efeitos das diferenças de tamanho entre indivíduos e as diferenças dos erros de delimitação no conjunto completo de asas anteriores e no de asas posteriores. No mesmo

sentido, fizemos uma MANOVA (Análise Multivariada de Variância) considerando os efeitos das diferenças de forma entre indivíduos e as diferenças dos erros de delimitação (Pillai, 1955). A continuidade das análises depende de encontrar diferenças significativas entre os indivíduos ( $p < 0,05$ ) e não significativas entre as delimitações ( $p > 0,05$ ) tanto no ANOVA quanto no MANOVA. Esta avaliação foi feita com o auxílio do programa MorphoJ.

### 3.2.2 Assimetria Direcional e Flutuante

Para estimar os impactos da assimetria (diferenças de forma e tamanho das asas esquerda e direita das asas anteriores e posteriores de *E. dejeanii*), foi feito um teste de ANOVA, que indica a significância da assimetria de tamanho ou forma direcional (se a média das asas esquerdas é significativamente diferente das asas direitas) e flutuante (se as diferenças entre as asas esquerda e direita variam significativamente entre os indivíduos). O pacote MorphoJ fornece a significância da diferença entre as médias dos lados direito e esquerdo (assimetria direcional, parâmetro “side” na saída do programa) e a significância da assimetria flutuante, dado pela interação dos parâmetros “side” e “ind”. Sempre que “side” for significativo ( $p < 0,05$ ), há assimetria direcional. Se “ind \* side” for significativo ( $p < 0,05$ ), há indicativo de assimetria flutuante, um parâmetro considerado como proxy de stress no desenvolvimento das asas (Leary & Allendorf, 1989) e que, se for diferente entre os agregados da Área 1 e da Área 2 (maior na área 2), pode indicar stress relacionado à disponibilidade de nutrientes.

O MorphoJ permite a exportação dos dados de tamanho do centroide de cada asa, bem como a exportação das coordenadas de Procrustes, ou seja, as coordenadas dos marcos anatômicos corrigidas para tamanho, direção e sentido. Para investigar os padrões de assimetria de tamanho, fizemos a subtração do tamanho do centroide da asa esquerda pela asa direita. Um resultado negativo indica que a asa esquerda é menor, um resultado positivo indica que a asa esquerda é maior e um resultado nulo indica que não há assimetria.

A partir das coordenadas de Procrustes, calculamos a distância de cada um dos marcos anatômicos na asa esquerda com seu correspondente na asa direita, gerando as coordenadas de assimetria. O somatório das coordenadas de assimetria foi utilizado como uma medida da assimetria das asas (anterior ou posterior) de cada indivíduo em estudo. Resultados positivos e negativos indicam asas esquerdas e direitas diferentes, enquanto resultados nulos indicam asas que apresentam forma simétrica.

Após o cálculo das assimetrias, os indivíduos foram agrupados nas quatro categorias de interesse (fêmeas da Área 1, fêmeas da Área 2, machos da Área 1 e machos da Área 2) e as assimetrias foram comparadas entre as categorias para aferir diferenças entre fêmeas e machos

(diferenças nos padrões de desenvolvimento), entre fêmeas e entre machos das duas áreas de coleta (diferenças no impacto da qualidade nutricional do ambiente no desenvolvimento embrionário, especificamente no desenvolvimento das asas).

Após inferida a assimetria dos dados, as análises foram realizadas levando em conta apenas as asas esquerdas de todos os indivíduos em estudo.

### 3.2.3 Alometria

Antes de avaliar as diferenças de forma e tamanho entre as amostras, foi estimada a regressão entre tamanho e forma das asas anteriores e posteriores da amostra completa (fêmeas e machos das duas localidades em estudo). Correlações significativas indicam que há um componente alométrico das diferenças de forma entre as categorias, o que significa que a forma está condicionada ao tamanho. A significância da correlação tamanho x forma foi feita no programa MorphoJ, que utiliza o tamanho do centroide e um número que representa a regressão das coordenadas de Procrustes e o tamanho, denominado RegScore1. O MorphoJ avalia a alometria em termos de percentagem da variação de forma condicionada ao tamanho e gera um nível de significância ( $p$ ). Neste estudo, sempre que a regressão foi significativa ( $p < 0,05$ ), as análises de forma foram realizadas com resíduo da regressão, também calculado com o auxílio do programa MorphoJ.

### 3.2.4 Dimorfismo sexual de tamanho e diferenças em função da área de estudo

Para verificar se há dimorfismo sexual, bem como diferenças morfométricas nas asas anteriores e posteriores de *E. dejeanni* coletadas nas Áreas 1 e 2, as amostras foram subdivididas entre localidades e entre sexos para aferir as diferenças de forma e tamanho entre machos e fêmeas em cada localidade, entre machos das duas localidades e entre fêmeas das duas localidades e relacionar estas diferenças às condições ambientais em termos de cobertura vegetal e acesso ao alimento em cada localidade.

Conforme já mencionado, o tamanho do centroide de cada asa foi estimado com o auxílio do Programa MorphoJ e exportado para o R (R Development Core Team, 2018), para as comparações estatísticas e visualização dos resultados.

### 3.2.5 Dimorfismo sexual de forma e diferenças em função da área de estudo

Os resíduos da correlação “forma x tamanho” (item 3.2.4) foram visualizados em uma análise de componentes principais (PCA) que, ao rotacionar os eixos multidimensionais, reduz o número de dimensões de forma (16 coordenadas de Procrustes) para um conjunto de

componentes, que concentram a maior parte da variação. Frequentemente a maior parte da variação pode ser visualizada na plotagem dos dois principais componentes. A estimativa dos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) foi feita com o auxílio do programa MorphoJ e os resultados exportados para o R (R Development Core Team, 2018). Além da visualização convencional, feita a partir de um gráfico de dispersão que tem como coordenadas os dois componentes principais, nós utilizamos os dados de PC1 e PC2 para investigar diferenças na forma de asas anteriores e posteriores entre machos e fêmeas e entre indivíduos coletados nas Áreas 1 e 2.

### 3.2.6 Análises estatísticas

Como estávamos interessados em detectar diferenças significativas entre machos e fêmeas (dimorfismo sexual) e entre indivíduos coletados nas Áreas 1 e 2 para aferir consequências de fatores nutricionais na morfometria das asas, iniciamos as análises pela divisão dos dados (de forma ou tamanho) em quatro categorias, a saber fêmeas da Área 1 (F.A1), fêmeas da Área 2 (F.A2), machos da Área 1 (M.A1) e machos da Área 2 (M.A2). Cada conjunto de dados foi também avaliado quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965) e as quatro categorias foram testadas quanto à homoscedasticidade (ou homogeneidade de variância) pelo teste de Levene (Levene, 1960). Conjuntos de dados com todas as categorias com distribuição normal e variâncias homogêneas foram avaliados por testes de ANOVA (Fisher, 1925). Conjuntos que não apresentaram homoscedasticidade, mas que a distribuição das categorias foi normal, foram avaliados pela ANOVA de Welch (Welch, 1947), e tiveram suas variâncias avaliadas par a par (teste de Levene) para detectar categorias com variâncias distintas. Dados em que pelo menos uma das categorias não apresentou distribuição normal foram avaliados com o teste de Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis, 1952). Como todas as comparações foram feitas levando em conta quatro categorias, sempre que encontramos diferenças significativas entre elas, procedemos testes *ad hoc*, para a comparação par a par: o teste de Tukey (Tukey, 1949) para ANOVA e o teste de Dunn (Dunn, 1964) para Kruskal. Todas as comparações foram feitas no ambiente R (R Development Core Team, 2018).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Delimitação de Marcos Anatômicos

O erro na delimitação dos marcos anatômicos não foi significativo ( $p > 0,05$ ) em qualquer conjunto de asas avaliados (machos e fêmeas das duas localidades, considerando tamanho e forma das asas anteriores e posteriores) (**Tab. 2**). Por se tratar de uma análise preliminar, a

forma foi avaliada em função das coordenadas de Procrustes, antes de calcular a regressão ao tamanho, descrita no **item 3.2.4**.

**Tabela 2** – Resultados dos testes estatísticos da significância dos erros de delimitação dos marcos anatômicos das asas anteriores (AA) e posteriores (AP) de *E. dejeanii*. TC = Tamanho do Centroide. F = fator da ANOVA, Pillai tr. = fator da MANOVA e P = p-valor.

		AA		AP	
		F	P	F	P
TC	Ind	12,18	<0,0001	52,37	<0,0001
	erro	0,87	0,91	0,32	1
		<b>Pillai tr.</b>	<b>P</b>	<b>Pillai tr.</b>	<b>P</b>
Forma	Ind	11,65	<0,0001	12,1	0
	erro	3,28	1	2,74	1

#### 4.2 Assimetria

O estudo da assimetria de tamanho revelou assimetria direcional significativa em todos os parâmetros avaliados, nas quatro categorias em análise (F.A1, F.A2, M.A1 e M.A2) (Material Suplementar 1). Especificamente, as asas esquerdas foram menores que as asas direitas em todos os conjuntos. As quatro categorias também apresentaram assimetria flutuante de tamanho nas asas posteriores, mas apenas uma delas (Fêmeas da Área 1) apresentou assimetria flutuante nas asas anteriores. Em todos os casos, a assimetria direcional (F.side) foi muito maior que a assimetria flutuante de tamanho (F.ind\*side) (ver Material Suplementar 1).

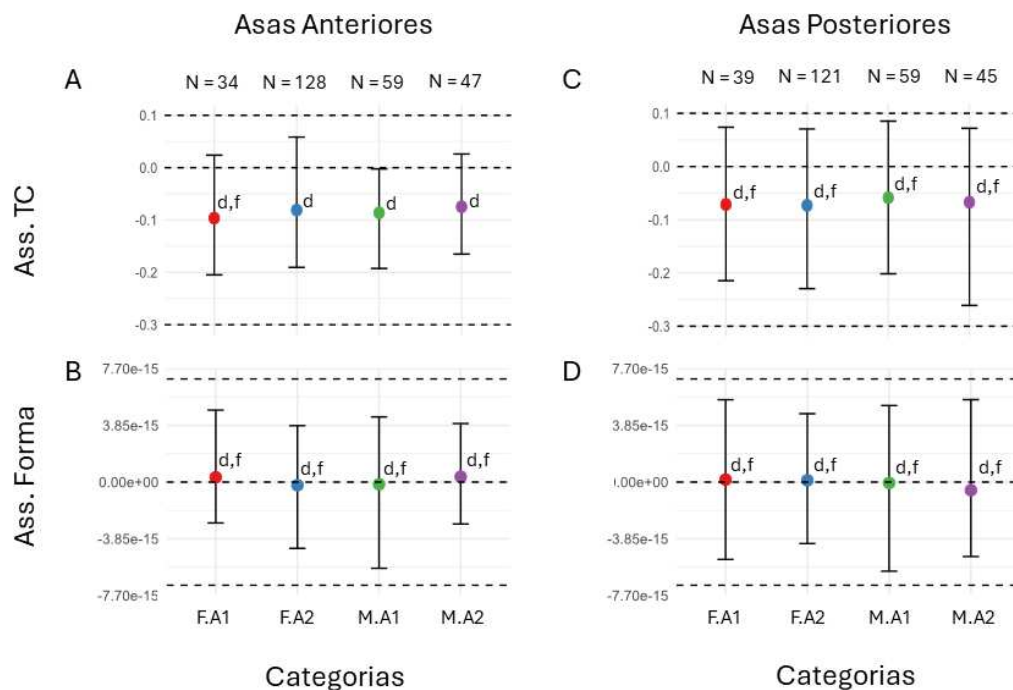
A análise da assimetria de forma revelou que as quatro categorias estudadas apresentaram assimetria direcional e flutuante tanto nas asas anteriores quanto posteriores. Os resultados sugerem ainda que a assimetria flutuante de forma resultou muito maior que a direcional (compare os valores de Pillai.tr. - side com os de Pillai.tr. - ind\*side no material suplementar 1).

A **Figura 3** mostra a representação das assimetrias (direcional e flutuante) no tamanho e forma de asas anteriores e posteriores nas quatro categorias estudadas. Na figura é possível notar que os pontos médios (marcados pelos pontos coloridos no gráfico), marcam a média das medidas de assimetria, enquanto a barra de erro traz a amplitude das medidas (95%). Apesar das medidas serem todas normais ( $p_{\text{Shapiro}} > 0,05$ ), optamos por mostrar o gráfico com amplitude em vez de estimativas de erro oriundas da variância porque a amostra de fêmeas da Área 1 é menor do que as outras, apesar de apresentar praticamente a mesma amplitude das outras

categorias, fato que pode ter influenciado a aferência de significância da assimetria flutuante de tamanho das asas anteriores destas fêmeas.

Considerando cada medida (assimetria de tamanho e forma das asas anteriores e posteriores), as categorias apresentaram homoscedasticidade ( $p_{Levene} > 0,05$ ). As categorias foram comparadas por meio de testes de ANOVA, que resultaram não significativos ( $p > 0,05$ ), indicando que as categorias não diferiram quanto à assimetria em tamanho ou forma, nas asas anteriores e posteriores.

Além de considerar a assimetria total (que gera valores positivos e negativos), verificamos também se havia diferenças na assimetria absoluta (considerando apenas as diferenças, em módulo). Esta maneira de avaliar os dados tampouco revelou diferenças significativas nas assimetrias de forma e tamanho das asas anteriores e posteriores.



**Figura 3.** Média e amplitude (95% dos dados) da assimetria (Ass.) de tamanho (TC) e forma das asas anteriores e posteriores de *E. dejeanii*. Os dados foram categorizados como fêmeas da Área 1 (F.A1 - vermelho), fêmeas da Área 2 (F.A2- azul), machos da Área 1 (M.A1 - verde) e machos da Área 2 (M.A2 – roxo). As linhas pontilhadas marcam valores idênticos (valor máximo, zero e valor mínimo) nos gráficos de assimetria de tamanho e de forma. N = xx indica o número de indivíduos avaliados em cada categoria, que corresponde ao número de indivíduos cujas duas asas foram avaliadas por categoria. **A** – Assimetria de tamanho das asas anteriores. **B** – Assimetria de forma das asas anteriores. **C** – Assimetria de tamanho das asas posteriores.

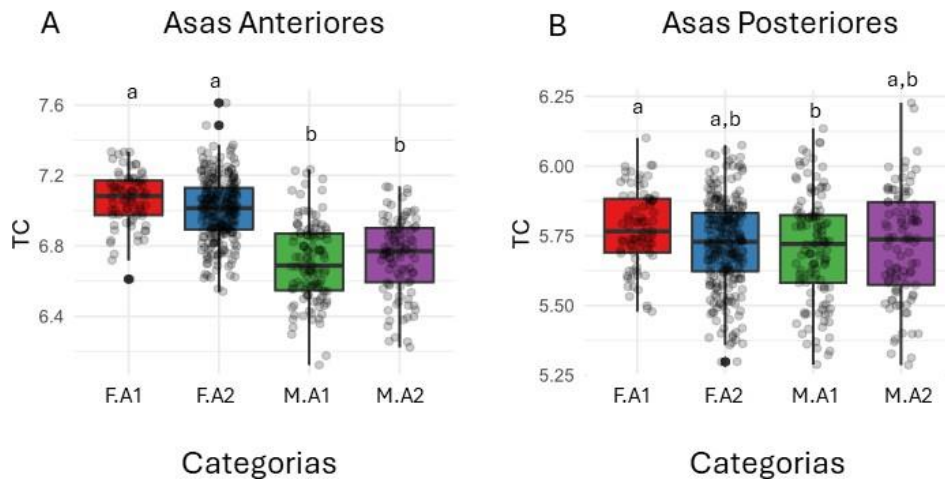
**D** – Assimetria de forma das asas posteriores. “d” denota assimetria direcional significativa e “f” denota assimetria flutuante significativa. A distribuição dos dados foi normal em todas as categorias em **A**, **B**, **C** e **D**. Encontramos homoscedasticidade (variâncias homogêneas,  $p_{\text{Levene}} > 0,05$ ) em **A**, **B** e **C**. Em **D**, não houve homoscedasticidade ( $p_{\text{Levene}} = 0,019$ ) porque a variância de F.A1 ( $1,008475e-29$ ) foi significativamente maior que de F.A2 ( $5,476963e-30$ ). O **Material Suplementar 1** mostra os resultados dos testes de ANOVA que determinaram a significância das assimetrias direcional e flutuante no tamanho e forma de cada categoria nas asas anteriores e posteriores.

Assim como os estudos de erros na delimitação dos marcos, os estudos de assimetria foram feitos com as coordenadas de Procrustes, sem a correção forma x tamanho descrita no **item 3.2.4**.

#### 4.3 Tamanho do Centroide

Um dos componentes do dimorfismo sexual é o dimorfismo de tamanho. A **Figura 4** mostra o tamanho do centroide das quatro categorias em estudo (fêmeas e machos das Áreas 1 e 2). Nas asas anteriores (**Fig. 4A**), a distribuição dos dados não resultou normal para os machos da Área 2 (todas as outras categorias apresentaram distribuição normal), e as variâncias foram diferentes, já que os machos apresentaram variâncias iguais, mas maiores que as das fêmeas, que também foram iguais). Fizemos então um teste de Kruskal-Wallis para verificar as diferenças. Constatamos que as fêmeas das duas localidades apresentam o mesmo tamanho, que é diferente e maior que o dos machos das duas localidades, que também não foram significativamente diferentes.

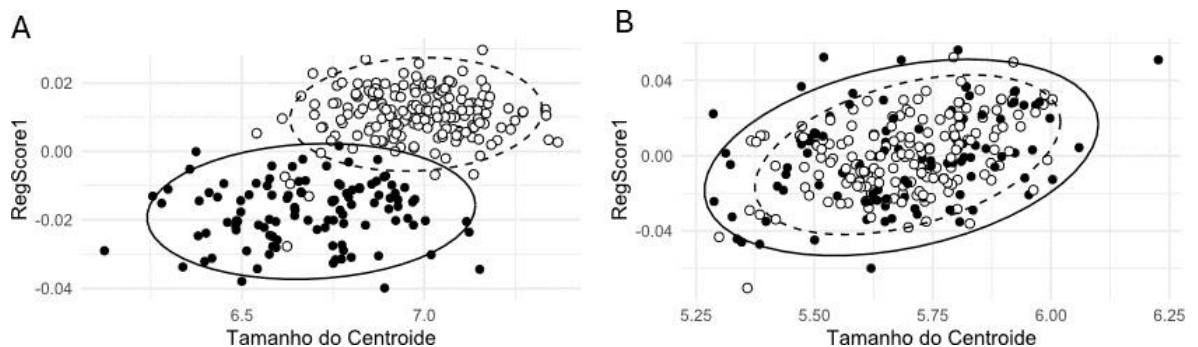
Nas asas posteriores, a distribuição foi normal nas quatro categorias, mas não encontramos evidência de dimorfismo sexual. A Anova revelou que há médias diferentes entre os quatro grupos e o teste de Tukey mostrou que machos e fêmeas da Área 1 diferiram em tamanho, sendo as fêmeas maiores que os machos (**Fig. 4B**). No entanto, machos e fêmeas da Área 2 não diferiram em tamanho e não foram significativamente diferentes dos machos e das fêmeas da Área 1, apresentando um tamanho intermediário entre eles.



**Figura 4.** BoxPlot evidenciando mediana (linha contínua preta nos boxes), quartis (limites superior e inferior dos boxes) e amplitude (95% dos dados) do tamanho do centroide (TC) das asas anteriores (A) e posteriores (B) esquerdas de *E. dejeanii*. Os dados foram divididos entre fêmeas da Área 1 (F.A1 - vermelho), fêmeas da Área 2 (F.A2 - azul), machos da Área 1 (M.A1 - verde) e machos da Área 2 (M.A2 - roxo). Os pontos em cinza representam medidas individuais de cada asa. Em **A**, a distribuição do tamanho não foi normal para os machos da Área 2 ( $p_{\text{Shapiro}} = 0,00035$ ) e as variâncias foram significativamente maiores nos machos ( $\text{var}_{\text{M.A1}} = 0,051$ ;  $\text{var}_{\text{M.A2}} = 0,056$ ) que nas fêmeas ( $\text{var}_{\text{F.A1}} = 0,024$ ;  $\text{var}_{\text{F.A2}} = 0,031$ ) ( $p_{\text{Levene}} < 0,05$ ). As letras minúsculas acima dos boxes indicam diferenças significativas inferidas pelo teste de Dunn que revelou diferenças significativas entre machos e fêmeas ( $p = 0$ ) e não significativas entre fêmeas ( $p = 0,7$ ) ou entre os machos das duas áreas ( $p = 1$ ). Em **B**, todas as categorias apresentaram distribuição normal de tamanho, mas as variâncias foram significativamente maiores ( $p_{\text{Levene}} < 0,01$ ) nos machos ( $\text{var}_{\text{M.A1}} = 0,037$ ;  $\text{var}_{\text{M.A2}} = 0,039$ ) que nas fêmeas ( $\text{var}_{\text{F.A1}} = 0,019$ ;  $\text{var}_{\text{F.A2}} = 0,025$ ) e não foram distintas entre as fêmeas das duas áreas ( $P_{\text{Levene}} = 0,28$ ) nem entre os machos ( $P_{\text{Levene}} = 0,67$ ). As letras minúsculas revelam as diferenças significativas inferidas pelo teste de Tukey, que revelou diferenças significativas entre machos e fêmeas da Área 1 ( $p = 0,04$ ), sendo todas as outras comparações par a par não significativas ( $p > 0,05$ ).

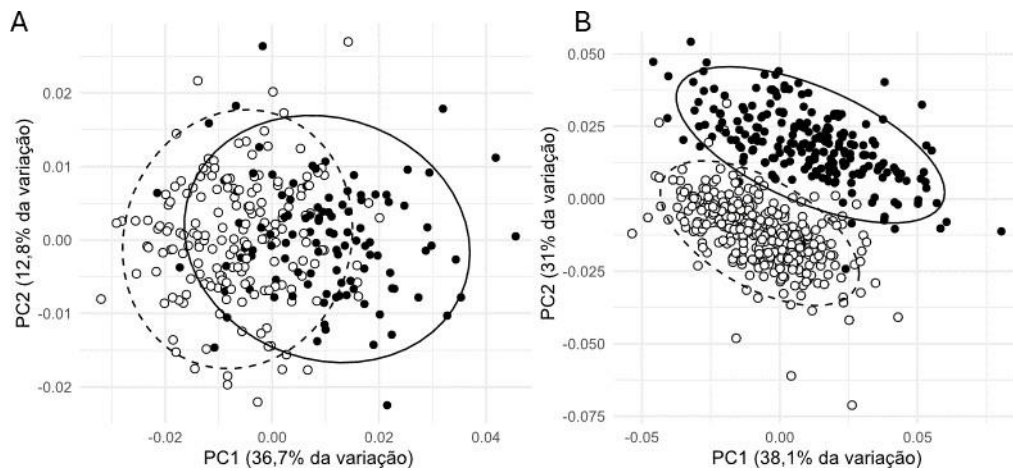
#### 4.4 Alometria

A **Figura 5** mostra a regressão forma x tamanho das asas anteriores (**Fig. 5A**) e posteriores (**Fig. 5B**). Nas asas anteriores, o tamanho responde por 14 % das diferenças de forma ( $p < 0,0001$ ) e a representação mostra dimorfismo sexual, de modo que as fêmeas apresentam asas maiores e com um formato diferente das asas dos machos. Nas asas posteriores (**Fig. 5B**), não foi possível detectar diferenças de forma e tamanho entre machos e fêmeas e o tamanho responde por apenas 5 % das diferenças de forma ( $p < 0,0001$ ). Tanto nas asas anteriores quanto posteriores, foi possível notar maior variação dos machos (círculos fechados) que das fêmeas (círculos abertos), tanto no tamanho quanto no formato das asas.



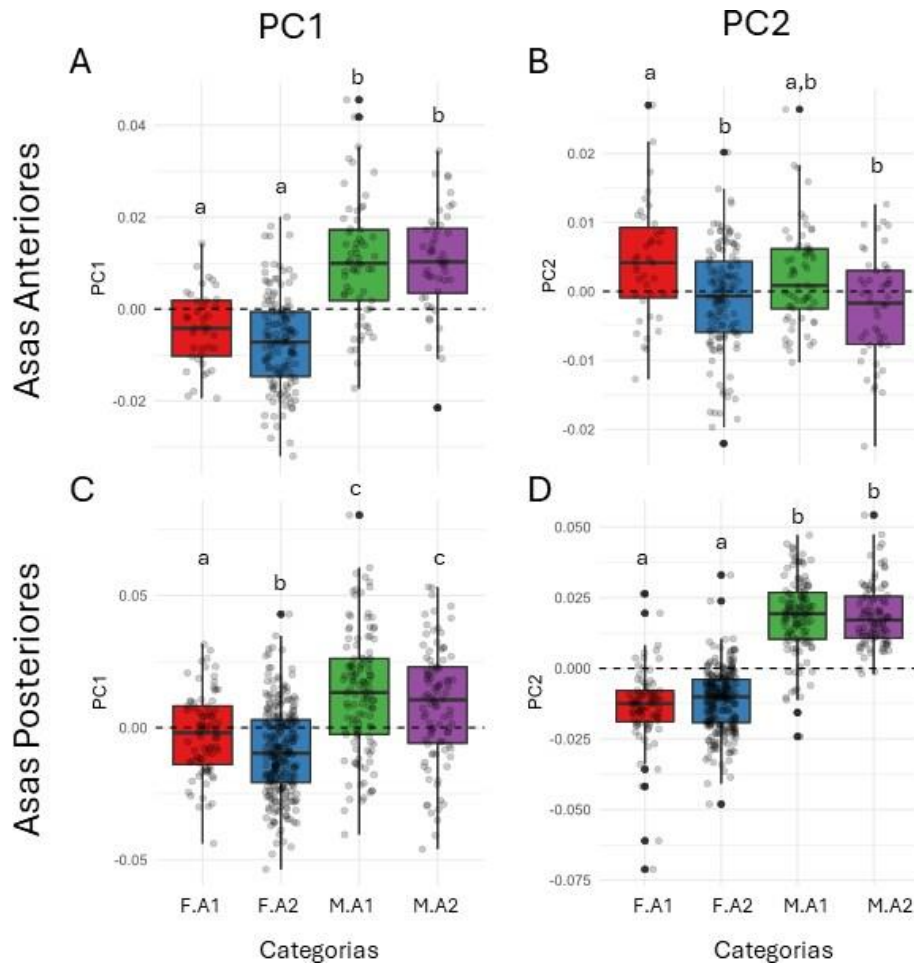
**Figura 5.** Regressão forma (RegScore1) x tamanho (tamanho do centroide) de asas anteriores (**A**) e posteriores (**B**) de machos (círculos fechados) e fêmeas (círculos abertos) de *Epicharis (Anepicharis) dejeanii*.

Como a regressão tamanho x forma foi significativa, fizemos a análise das formas (shapes) das asas anteriores e posteriores de *E. dejeanii* considerando o resíduo da regressão, calculados no MorphoJ. A **Figura 6** mostra o resultado da análise de componentes principais da amostra completa de asas anteriores e posteriores, considerando apenas a distinção entre machos e fêmeas e revela que tanto asas anteriores quanto posteriores apresentam acentuado dimorfismo sexual de forma.



**Figura 6.** Representação dos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) da análise de componentes principais do resíduo da correlação forma x tamanho (**Fig. 5**) das asas anteriores (**A**) e posteriores (**B**) de *E. dejeanii* evidenciando o dimorfismo sexual de forma. Os círculos fechados representam os machos e os círculos abertos as fêmeas. As elipses indicam a dispersão dos dados (90%).

Na **Figura 7**, mostramos os valores dos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) obtidos nas asas anteriores e posteriores detalhando o sexo e as duas áreas em estudo. Os resultados revelaram dimorfismo sexual no PC1 das asas anteriores e nos dois componentes (PC1 e PC2) das asas posteriores. O PC2 das asas anteriores e o PC1 das posteriores revelaram diferenças significativas de forma das fêmeas das duas áreas.



**Figura 7.** Detalhamento da variação de forma (**Fig. 6**), obtida pela regressão tamanho x forma e da análise de componentes principais das asas anteriores e posteriores de fêmeas (F) e machos (M) de *E. dejeani* coletados nas duas áreas de estudo. A1 – Florestal, MG, que apresenta maior disponibilidade de recursos e A2 – Pará de Minas, MG, que apresenta menor disponibilidade de recursos. **(A)** Boxplot do primeiro componente principal (PC1) da forma das asas anteriores. Todas as categorias apresentaram distribuição normal (Shapiro > 0,05) e a variância foi homogênea (Levene = 0,08). A ANOVA apontou diferenças significativas entre as categorias e o teste de Tukey revelou que tais diferenças foram significativas entre machos e fêmeas ( $p < 0,00001$ ) e não foram significativas entre machos das duas áreas ( $p = 1$ ) ou fêmeas das duas áreas ( $p = 0,4$ ). **(B)** PC2 das asas anteriores. Três das quatro categorias apresentaram distribuição normal ( $p_{\text{Shapiro}} > 0,05$ ), diferentemente dos machos da Área 1 ( $p_{\text{Shapiro}} = 0,027$ ). A variância foi homogênea ( $p_{\text{Levene}} = 0,79$ ). O teste de Kruskal revelou diferenças significativas entre as categorias e o teste *ad hoc* de Dunn mostrou que as fêmeas da Área 1 foram significativamente diferentes das fêmeas ( $p_{\text{Dunn}} = 0,0035$ ) e machos ( $p_{\text{Dunn}} = 0,0012$ ) da Área 2.

(C) PC1 das asas posteriores. Todas as categorias apresentaram distribuição normal ( $p_{\text{Shapiro}} > 0,05$ ), mas as variâncias não foram homogêneas, já que as fêmeas ( $\text{Var}_{F.A1} = 0,00024$ ;  $\text{Var}_{F.A2} = 0,00028$ ) apresentaram variância significativamente menor que os machos ( $\text{Var}_{M.A1} = 0,00052$ ;  $\text{Var}_{M.A2} = 0,00048$ ) ( $p_{\text{Levene}} < 0,01$ ). Fêmeas e machos das duas áreas apresentaram variâncias homogêneas ( $p_{\text{Levene.F}} = 0,45$ ;  $p_{\text{Levene.M}} = 0,79$ ). O teste de Tukey revelou diferenças significativas entre as categorias ( $p < 0,05$ ), exceto entre machos das duas áreas ( $p = 0,27$ ). (D) PC2 das asas posteriores. Nenhuma das categorias apresentou distribuição normal ( $p_{\text{Shapiro}} < 0,05$ ) e a variância foi homogênea ( $p_{\text{Levene}} = 0,216$ ). O teste de Dunn revelou diferenças significativas entre machos e fêmeas ( $p_{\text{Dunn}} = 0$ ), mas não revelou diferenças entre fêmeas ou entre machos das duas áreas ( $p_{\text{Dunn}} = 1$ ).

## 5. DISCUSSÃO

O trabalho aqui apresentado é o primeiro estudo de morfometria de asas de *E. dejeanii*, sendo os agregados em estudo, coletados em Florestal (Área1) e Pará de Minas (Área2), os primeiros registros da espécie no estado de Minas Gerais, e em área de transição entre Cerrado e Mata atlântica. Cabe dizer que todos os outros agregados foram encontrados no bioma de Mata Atlântica.

Tínhamos como principal objetivo verificar se as diferenças em termos de cobertura vegetal das duas áreas de coleta impactam significativamente parâmetros morfométricos como o grau de assimetria e o dimorfismo sexual na forma e no tamanho das asas de espécimes de *E. dejeanii*.

O estudo de assimetria do tamanho das asas revelou que as asas esquerdas são significativamente menores que as direitas nas asas anteriores e posteriores, o que parece ser uma característica desta espécie. De fato, há registros de assimetria de tamanho de asas de insetos que mostram que asas esquerdas menores que as direitas é um padrão relativamente comum (Smith et al., 1997; Lopuch & Tofilski, 2016; Szentgyörgyi et al., 2016; Banaszak-Cibicka et al., 2018; Karthika et al., 2021). Em termos de detectar alterações morfométricas devidas às diferenças entre as duas áreas de coleta, no entanto, a assimetria que mais interessa é a flutuante, considerada um *proxy* de perturbações no desenvolvimento (Palmer & Strobeck, 1986; Palmer & Strobeck, 2003; Angtuaco & Leyesa, 2004; Hoffmann et al., 2005; Arce et al., 2022), que pode, por exemplo, ser causadas por deficiências nutricionais (Silva et al., 2009; Mielczarek et al., 2021).

Com nosso conjunto de dados, percebemos que as asas posteriores apresentaram assimetria flutuante de tamanho (**Fig. 3A**) em todas as categorias, o que não ocorreu com as

asas anteriores, nas quais apenas uma das categorias, as fêmeas da Área 1, apresentaram assimetria flutuante de tamanho. A assimetria de forma não foi diferente entre as asas posteriores e anteriores. Pode parecer, a partir deste resultado, que a Área 1, com mais cobertura vegetal, é a que provoca mais perturbações no desenvolvimento, e que tais perturbações são mais perceptíveis nas fêmeas. No entanto, uma avaliação cuidadosa dos dados mostra que, apesar de apresentar amplitude de variação equivalente às outras categorias (mostrada na **Fig. 3A**), a categoria F.A1 é a representada pelo menor número de indivíduos, o que parece afetar artificialmente a significância da assimetria flutuante. Devido a nossos cuidados em reduzir ao máximo o impacto de nossa coleta nos agregados, reduzindo a coleta em cada dia a três indivíduos de cada categoria de sexo e cor (ver **item 3.1**), acabamos com um número relativamente menor de fêmeas coletadas na Área 1.

Se considerarmos a detecção de assimetria flutuante como um proxy de stress (Parsons, 1990; Palmer, 1994; Klingenberg & McIntyre, 1998; Beasley et al., 2013; Klingenberg, 2015; Nunes et al., 2015; Benetíz et al., 2020; Zakharov et al., 2020; Pignataro et al., 2023), podemos sugerir que as diferenças encontradas na assimetria flutuante de tamanho entre asas anteriores e posteriores sejam resultado de seleção natural, que reduz o impacto de eventuais perturbações no desenvolvimento nas asas anteriores, num processo conhecido como canalização (Waddington, 1942; Debat & David, 2001; Buskirk & Steiner, 2009; Pigliucci & Müller, 2010; Gutiérrez, 2020). De fato, as asas anteriores são maiores e devem desempenhar funções críticas e primárias na qualidade do voo, enquanto as posteriores desempenham um papel secundário: se fixam às asas anteriores por meio de pequenos ganchos e auxiliam na aerodinâmica e sustentação durante o voo (Ma et al., 2019; Pfau, 2020). Neste sentido, é possível sugerir que as asas posteriores estejam mais sujeitas a perturbações no desenvolvimento, e que, portanto, sejam mais úteis em estudos que visam comparar o impacto de diferenças ambientais.

Na análise dos tamanhos das asas, verificamos que as asas anteriores apresentaram dimorfismo sexual nas duas áreas estudadas, com asas das fêmeas maiores que as dos machos, conforme o esperado pelas diferenças de tamanho corporal normalmente encontradas em Hymenoptera (Fairbairn, 1997; Shibata et al., 2020; Vigueira et al., 2023; Hüftlein et al., 2024).

As asas posteriores mostraram dimorfismo sexual significativo na Área 1, no mesmo sentido que as asas anteriores. No entanto, na Área 2, fêmeas e machos resultaram no mesmo tamanho de asas posteriores, o que pode estar relacionado à menor qualidade do ambiente em termos nutricionais.

Considerando que as fêmeas de Hymenoptera têm a capacidade de escolher ovipor um ovo fecundado (que dá origem a fêmeas) ou não fecundado (que dá origem a machos) (Flanders,

1965; Gerber & Klostermeyer, 1970, Bosch & Vicens, 2006), se as asas posteriores estiverem mais correlacionadas com o tamanho do indivíduo que as anteriores, algo a ser testado no futuro, podemos levantar a hipótese de que na Área 1 as fêmeas têm mais condições de selecionar células de cria maiores e mais bem providas para depositar ovos fecundados e células de cria menores e com menos nutrientes para depositar ovos não fecundados.

Tanto nas asas anteriores quanto posteriores, a variância de tamanho foi significativamente maior nos machos que nas fêmeas, o que pode indicar uma preferência de células de cria mais providas e homogêneas para as fêmeas que para os machos, em ambas as áreas. Tal diferença na variância também pode significar que o desenvolvimento das asas esteja mais canalizado em fêmeas que em machos. Esta inferência faz sentido à luz dos diferentes estilos de vida de machos e fêmeas de *E. dejeanii*, uma vez que todas as fêmeas apresentam o mesmo conjunto de comportamentos de cuidado, provimento e manutenção de células de cria (Maccagnani & Sgolastra, 2020), enquanto os machos podem apresentar diferentes comportamentos de cópula, que podem estar relacionados à maior variação de tamanho de suas asas. É importante mencionar que nossos dados de tamanho de asas não refletem o padrão mostrado por Pina et al. (2020), onde os machos de *E. dejeanii* que apresentaram diferentes estratégias de cópula também apresentaram tamanhos diferentes. Isto pode indicar que o tamanho dos indivíduos não está diretamente correlacionado ao tamanho das asas. O teste de normalidade dos dados de tamanho revelou distribuição normal nas quatro categorias (fêmeas e machos de cada área) nas asas posteriores e nas fêmeas e machos da Área 1 nas asas anteriores. No entanto, machos da Área 2 não apresentaram distribuição normal. Uma análise mais detalhada, no entanto, não mostrou duas modas (dados não mostrados), mas uma distribuição enviesada para a direita.

Nosso estudo de alometria revelou maior influência do tamanho nas asas anteriores que nas posteriores. Em ambas as asas, a regressão revelou que além de serem mais variáveis em tamanho (eixo X da regressão), os machos também são mais variáveis em forma (eixo Y da regressão **Fig.5**). Nas anteriores, ficou claro também que as maiores asas pertencem às fêmeas e as menores aos machos, o que não ocorreu nas asas posteriores. Este resultado reforça que as diferenças nas asas anteriores refletem melhor os comportamentos de machos e fêmeas que as diferenças nas asas posteriores.

Descontada a alometria, a análise de componentes principais revelou dimorfismo sexual de forma tanto nas asas anteriores quanto posteriores (**Fig. 6**). Nas anteriores, a maior parte da variação concentra-se no primeiro componente (PC1), que também foi o mais importante para o dimorfismo sexual (**Fig. 7A**). O PC1 das asas anteriores não apresentou qualquer diferença

entre as áreas, apenas entre machos e fêmeas. O PC2 das asas anteriores, por sua vez, revelou diferenças significativas entre as fêmeas das duas áreas, mas não entre os machos (**Fig. 7.B**), padrão que se repetiu no PC1 das asas posteriores e que confirma a observação de Teder & Tammaru, 2005 e Santoni et al., 2023, que mostraram que o sexo com mais plasticidade em função de diferenças nutricionais é o sexo maior, no caso de *E. dejeanii*, as fêmeas. Curiosamente, foi possível detectar dimorfismo sexual no PC1 (e no PC2) das asas posteriores, mas não no PC2 das asas anteriores.

Uma busca na literatura revelou a ampla utilização da morfometria geométrica de asas de abelhas na resolução de questões taxonômicas e detecção de variação morfológica entre populações (De Meulemeester et al., 2012; Aytekin et al., 2007; Bonatti et al., 2014; Charistos et al., 2014; Falamarzi et al., 2016; Gerard et al., 2018; Grassi-Sella et al., 2018; Dos Santos et al., 2019; Bustamante et al., 2020; Henriques et al., 2020; Haldhar et al., 2021). Há também estudos que envolvem a detecção de alterações de forma em função de distúrbios devidos a fatores de estresse, que, no entanto, estão focados nas asas anteriores (Dellicour et al., 2017; Andrade et al., 2020; Ferrari et al., 2024).

Em nosso trabalho, as asas posteriores se mostraram mais interessantes para comparar os indivíduos coletados nas duas áreas que as asas anteriores, revelando que apesar de menores e terem papel coadjuvante no voo, mas talvez justamente por isto, estão mais sujeitas a se moldar a diferenças entre os ambientes, fazendo da morfometria geométrica de asas posteriores uma ferramenta valiosa para detectar diferenças na qualidade do ambiente. Diante destes resultados, sugerimos que estudos que envolvam perturbações ambientais no desenvolvimento embrionário de abelhas, daqui em diante, foquem também nas asas posteriores para que tenhamos um panorama mais amplo sobre a utilidade destas asas em programas de detecção de estresse ambiental.

## CONCLUSÕES

1. Asas posteriores apresentaram maior susceptibilidade a estresses do desenvolvimento que as anteriores, sugerindo que a morfometria geométrica das asas posteriores seja uma poderosa ferramenta para comparar o impacto de alterações ambientais em *E. dejeanii*.
2. O dimorfismo sexual de tamanho foi mais evidente e homogêneo entre as duas áreas nas asas anteriores que nas posteriores. As asas posteriores das fêmeas foram maiores que os machos na Área 1 (com maior disponibilidade de alimento), refletindo a possibilidade de mais provimento nas células de cria que recebem ovos fecundados (fêmeas) que nas que recebem ovos não fecundados (machos). Na Área 2, as asas posteriores não apresentaram dimorfismo sexual.

3. Os machos apresentaram variância de tamanho maior que a das fêmeas, evidenciando possível canalização no desenvolvimento das fêmeas, que performam o mesmo repertório de comportamentos, diferente dos machos, que podem apresentar comportamentos distintos.
4. No estudo de forma, feito com os resíduos da regressão tamanho x forma, o PC2 das asas anteriores e o PC1 das posteriores revelaram diferenças significativas entre as fêmeas das duas áreas, mas não entre os machos, reforçando serem as fêmeas o sexo mais plástico.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- Alcock, J., Bailey, W.J., Simmons, L.W. (2010). **The mating system of *Amegilla* (Asarapoda paracalva Brooks (Hymenoptera: Apidae))**. *Journal of Insect Behavior*, 23, 69–79.
- Alves-dos-Santos, I., Machado, I.C. & Gaglianone, M.C. (2007). **História natural das abelhas coletoras de óleo**. *Oecologia Brasiliensis*, 11 (4): 544-557.
- Andrade, B.R., Santos, E.B., Nunes, L.A., Nascimento, A.S. and De Carvalho, C.A.L. (2020). **Fluctuating asymmetry in *Melipona scutellaris* (L.) 1811 (Hymenoptera: Apidae) associated to stress due to transportation of Colonies**. *Sociobiology*, 67(3): 417-424.
- Angtuaco, S.P. and Leyesa, M. (2004). **Fluctuating Asymmetry: An Early Warning Indicator of Environmental Stress**. *Asian Journal of Biology Education*, Vol. 2.
- Antoine, C. and Forrest, J. (2021). **Nesting habitat of ground-nesting bees: a review**. *Ecological Entomology*, 46, 143–159.
- Arce, A.N., Cantwell-Jones, A., Tansley, M., Barnes, I., Brace, S., Mullin, V.E., Notton, D., Ollerton, J., Eatough, E., Rhodes, M.W., Bian, X., Hogan, J., Hunter, T., Jackson, S., Whiffin, A., Blagoderov, V., Broad, G., Judd, S., Kokkini, P., Livermore, L., Dixit, M.K., Pearse, W.D. and Gill, R.J. (2023). **Signatures of increasing environmental stress in bumblebee wings over the past century: Insights from museum specimens**. *Journal of Animal Ecology*, 92:297–309.
- Aron, S., Menten, L., Bockstaele, D.R.V., Blank. S.M. and Roisin, Y. (2005). **When Hymenopteran Males Reinvented Diploidy**. *Current Biology*, Vol. 15, 824–827.
- Ayasse, M., Paxton, R.J. and Teng, J. (2001). **Mating behavior and Chemical communication in the order Hymenoptera**. *Annual Review of Entomology*, 46:31–78.
- Aytekin, M.A., Terzo, M., Rasmont, P. & Çağatay, N. (2007). **Landmark based geometric morphometric analysis of wing shape in *Sibiricobombus Vogt* (Hymenoptera: Apidae: *Bombus Latreille*)**. *Annales de la Société Entomologique de France*, 43:1, 95-102.
- Banaszak-Cibicka, W., Fliszkiewicz, M., Langowska, A. and Zmihorski, M. (2018). **Body size and wing asymmetry in bees along an urbanization gradient**. *Apidologie*, 49:297–306.
- Beasley, D.A.E., Bonisoli-Alquati, A. and Timothy A. Mousseau, T.A. (2013). **The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: A meta-analysis**. *Ecological Indicators*, 30 218–226.
- Benítez, H.A., Lemic, D., Villalobos-Leiva, A., Bažok, R., Órdenes-Claveria, R., Živkovi'c, I.P. and Mikac, K.M. (2020). **Breaking Symmetry: Fluctuating Asymmetry and Geometric Morphometrics as Tools for Evaluating Developmental Instability under Diverse Agroecosystems**. *Review, Symmetry*, 12, 1789.

- Blanckenhorn, W.U. and Demont, M. (2004). **Bergmann and converse Bergmann latitudinal clines in arthropods: two ends of a continuum?.** *Integrative and Comparative Biology*, 44:413–24.
- Bonatti, V., Simões, Z.L.P., Franco, F.F. & Tiago Mauricio Franco, T.M. (2014). **Evidence of at least two evolutionary lineages in *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) suggested by mtDNA variability and geometric morphometrics of forewings.** *Naturwissenschaften*, 101:17–24.
- Bonduriansky, R. (2007). **The evolution of condition-dependent sexual dimorphism.** *The American Naturalist*, 169(1), 9-19.
- Bonduriansky, R. and Day, T. (2003). **The evolution of static allometry in sexually selected traits.** *Evolution*, 57:2450 - 2458.
- Bookstein, F.L. (1991). **Morphometric Tools for Landmark Data Geometric and Biology.** Cambridge University, Cambridge.
- Bosch J. (2008). **Production of undersized offspring in a solitary bee.** *Animal Behaviour*, 75:809 - 816.
- Bosch, J. and Vicens, N. (2006). **Relationship between body size, provisioning rate, longevity and reproductive success in females of the solitary bee *Osmia cornuta*.** *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60:26 - 33.
- Buchmann, S.L. (1987). **The ecology of oil flowers and their bees.** *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 18:343 - 69.
- Buskirk, J.V. & Steiner, U.K. (2009). **The fitness costs of developmental canalization and plasticity.** *Journal of Evolutionary Biology*, 22:852 - 860.
- Bustamante, T., Baiser, B. and Ellis, J.D. (2020). **Comparing classical and geometric morphometric methods to discriminate between the South African honey bee subspecies *Apis mellifera scutellata* and *Apis mellifera capensis* (Hymenoptera: Apidae).** *Apidologie*, 51:123 - 136.
- Charistos, L., Hatjina, F., Bouga, M., Mladenovic, M. and Maistros, A.D. (2014). **Morphological discrimination of Greek Honey Bee populations based on geometric morphometrics analysis of wing shape.** *Journal of Apicultural Science*, Vol. 58 No. 1.
- Cook, A.J. (1888). **Morphology of the legs of hymenopterous insects.** *The American Naturalist*, Vol. 22, No. 255.
- Cordeschi, G., Canestrelli, D. & Porretta, D. (2024). **Sex-biased phenotypic plasticity affects sexual dimorphism patterns under changing environmental conditions.** *Scientific Reports*, 14, 892.

- Crozier, R.H and Page, R.E. (1985). **On Being the Right Size: Male Contributions and Multiple Mating in Social Hymenoptera.** Behavioral Ecology and Sociobiology, Vol. 18, No. 2, pp. 105-115
- Davidowitz, G. 2008. **Population and environmental effects on the size-fecundity relationship in a common grasshopper across an aridity gradient.** Journal of Orthoptera Research, 17:265–71.
- Davidowitz, G., D’Amico, L.J., Nijhout, H.F. (2004). **The effects of environmental variation on a mechanism that controls insect body size.** Evolutionary Ecology Research, 6:49–62.
- Davidowitz, G., Nijhout, H.F. (2004). **The physiological basis of reaction norms: the interaction among growth rate, the duration of growth and body size.** Integrative and Comparative Biology, 44:443–49.
- De Meulemeester, T., Michez, D., Aytekin, A.M. & Danforth, B.N. (2012). **Taxonomic affinity of halictid bee fossils (Hymenoptera: Anthophila) based on geometric morphometrics analyses of wing shape.** Journal of Systematic Palaeontology, 10:4, 755-764.
- Debat, V. and David, P. (2001). **Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability.** Trends in Ecology & Evolution, Vol.16 No.10.
- Dec, E. & Vivallo, F. (2019). **Nesting biology and immature stages of the oil-collecting bee *Epicharis dejeanii* (Apidae: Centridini).** Apidologie, 50:606–615.
- Dec, E. & Vivallo, F. (2020). **Reproductive behavior of the oil-collecting bee *Epicharis dejeanii* (Apidae: Centridini).** Apidologie.
- Dellicour, S., Gerard, M., Prunier, J.G., Dewulf, A., Kuhlmann, M. and Michez, D. (2017). **Distribution and predictors of wing shape and size variability in three sister species of solitary bees.** PLoS ONE, 12 (3).
- Dos Santos, C.F., Dos Santos, P.D.S., Marques, D.M., Da-Costa, T. and Blochtein, B. (2019). **Geometric morphometrics of the forewing shape and size discriminate *Plebeia* species (Hymenoptera: Apidae) nesting in different substrates.** The Royal Entomological Society, Systematic Entomology.
- Dunn, O.J. (1964). **Multiple comparisons using rank sums.** Technometrics, 6(3), 241-252.
- Dzierzon, J. (1845). **Gutachten über die von Herrn Direktor Stöhr im ersten und zweiten Kapitel des General-Gutachtens aufgestellten Fragen.** *Eichstädter Bienenzeitung* 1: 109–113, 119–121.
- Esperk, T., Tammaru, T., Nylin, S., & Teder, T. (2007). **Achieving high sexual size dimorphism in insects: females add instars.** *Ecological Entomology*, 32(3), 243-256.

- Fairbairn, D.J. (1997). **Allometry for sexual size dimorphism: Pattern and Process in the Coevolution of Body Size in Males and Females.** *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 28:659–87.
- Falamarzi, S., Habibpour, B., Mossadegh, M.S. and Monfared, A. (2016). **Differentiation of five species of Megachile (Hymenoptera: Megachilidae), based on wing shape.** *Journal of Apicultural Science*, Vol. 60 No. 2.
- Faria, L.B & Santos, I.A. **Nicho trófico de abelhas coletoras de óleo das tribos Centridini e Tetapediini (Hymenoptera, Apidae) em diferentes escalas biológicas.** Dissertação. PPG em Ciências, área de Ecologia, Universidade de São Paulo. 2014.
- Ferrari, A., Tommasi, N. and Polidori, C. (2024). **Urbanisation reduced body size but potentially improved flight performance in bees and wasps.** *Basic and Applied Ecology*, 74 57–65.
- Fisher, R.A. (1925). **Statistical Methods for Research Workers.** Edinburgh: Oliver and Boyd.
- Flanders, S.E. (1965). **On the sexuality and sex ratios of hymenopterous populations.** *American Naturalist*, 93: 489-494.
- Fornel, R., Cordeiro - Estrela, P. (2012). **Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos.** (Org.). *Temas em Biologia: Edição comemorativa aos 20 anos do Curso de Ciências Biológicas e aos 5 anos do PPG-Ecologia da URI Campus de Erechim.* 1ed.Erechim: EDIFAPES, p. 101-120.
- Fox C.W., Czesak M.E. (2000). **Evolutionary ecology of progeny size in arthropods.** *Annual Review of Entomology*, 45:341–69.
- Frank, S.A. (1995). **Sex Allocation in Solitary Bees and Wasps.** *The American Naturalist*, Vol. 146, No. 2, pp. 316-323.
- Gérard, M., Vanderplanck, M., Franzen, M., Kuhlmann, M., Potts, S.G., Rasmont, P., Schweiger, O. and Michez, D. (2018). **Patterns of size variation in bees at a continental scale: does Bergmann's rule apply?** *Oikos*, 127(8).
- Gerber, H.S., Klostermeyer, E.C. (1970). **Sex control by bees: a voluntary act of egg fertilization during oviposition.** *Science*, 167(3914):82-4.
- Grassi-Sella, M.L., Garófalo, C.A. and Francoy, T.M. (2018). **Morphological similarity of widely separated populations of two Euglossini (Hymenoptera; Apidae) species based on geometric morphometrics of wings.** *Apidologie*, 49:151–161.
- Gregory, T.R. (2001). **Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma.** *Biological Reviews*, 76(1), 65-101.

- Gutierrez, Y. (2020). **Multiple mechanisms in which insects respond to environmental stressors: canalization, plasticity and evolution.** *Revista de Ciencias Agrícolas*, 37(2):90-99.
- Haldhar, S.M., Singh, K.L., Gupta, M.K. & Devi, A.S. (2021). **Morphometric analysis on different species of honeybees in NEH region of India.** *Journal of Agriculture and Ecology*, Vol. 12, 62-73.
- Helm, B.R., Baldwin, M.A., Rinehart, J.P., Yocum, G.D., Greenlee, K.J., Bowsher, J.H., (2021). **Body and wing allometries reveal flight-fecundity tradeoff in response to larval provisioning in *Osmia lignaria* (Hymenoptera: megachilidae).** *Journal of Insect Science*, 21, 1–8.
- Henriques, D., Chávez-Galarza, J., Teixeira, J.S.G., Ferreira, H., Neves, C.J., Francoy, T.M. and Pinto, M.A. (2020). **Wing Geometric Morphometrics of Workers and Drones and Single Nucleotide Polymorphisms Provide Similar Genetic Structure in the Iberian Honey Bee (*Apis mellifera iberiensis*).** *Insects*, 11, 89.
- Hiller, B. & Wittmann, D. (1994). **Seasonality, nesting biology and mating behavior of the oil-collecting bee *Epicharis dejeanii* (Anthophoridae, Centridini).** *Biociências*, 2(1):107–124.
- Hoffmann, A.A., Woods, R.E., Collins, E., Wallin, K., White, A. and McKenzie, J.A. (2005). **Wing shape versus asymmetry as an indicator of changing environmental conditions in insects.** *Australian Journal of Entomology*, 44, 233–243.
- Honek, A. (1993). **Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: A general relationship.** *OIKOS*, 66: 483-492.
- Hüftlein, F., Ritschar, S. and Laforsch, C. (2024). **Sexual dimorphism in the proventriculus of the buff-tailed bumblebee *Bombus terrestris* (L. 1758) (Hymenoptera: Apidae).** *Journal of Morphology*, 285(2).
- Johnstone R.A., Rands S.A. and Evans M.R. (2009). **Sexual selection and condition-dependence.** *Journal of Evolutionary Biology*, 22, 2387–2394.
- Karthika, K., Anand, P.P., Seena, S. and Vardhanan, Y.S. (2022). **Wing phenotypic plasticity, quantitative genetics, modularity, and phylogenetic signal analysis revealed the niche partitioning in two fruit fly species, *Bactrocera dorsalis* and *Zeugodacus cucurbitae*.** *International Journal of Tropical Insect Science*, 42: 1487- 1504.
- Khomitskiy, E., Avtaeva, T., Kushaliev, S., Zamotajlov, A., Shagidullin, R. and Sukhodolskaya, R. (2024). **Sexual Dimorphism in Physiological Reactions to Biotope Type (the Case Study in Ground Beetles).** *Population Genetics – From DNA to Evolutionary Biology*.

- Klingenberg, C.P. (2011). **MORPHOJ: an integrated software package for geometric morphometrics**. *Molecular Ecology Resources*, 11, 353–357.
- Klingenberg, C.P. (2015). **Analyzing Fluctuating Asymmetry with Geometric Morphometrics: Concepts, Methods, and Applications**. Review, *Symmetry*, 7, 843-934;
- Klingenberg, C.P. and McIntyre, G.S. (1998). **Geometric Morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with procrustes methods**. *Evolution*, 52(5). pp. 1363-1375
- Kruskal, W.H. & Wallis, W.A. (1952). **Use of ranks in one-criterion variance analysis**. *Journal of the American Statistical Association*, 47(260), 583-621.
- Leary, R.F., & Allendorf, F.W. (1989). **Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology**. *Trends in Ecology & Evolution*, 4(7), 214-217.
- Levene, H. (1960). **Robust tests for equality of variances**. In I. Olkin (Ed.), *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling*, pp. 278-292.
- Łopuch, S. and Tofilski, A. (2016). **The relationship between asymmetry, size and unusual venation in honey bees (*Apis mellifera*)**. *Bulletin of Entomological Research*, 106, 304–313
- Ma, Y., Rena, H., Rajabib, H., Zhaoc, H., Ninga, J. and Gorb, S. (2019). **Structure, properties and functions of the forewing-hindwing coupling of honeybees**. *Journal of Insect Physiology*, 118 103936.
- Maccagnani, B., Sgolastra, F. (2020). **Solitary bees as pollinators**. In: Smagghe, G., Boecking, O., Maccagnani, B., Mänd, M., Kevan, P. (eds). *Entomovectoring for Precision Biocontrol and Enhanced Pollination of Crops*. Springer, Cham.
- Mielczarek, A., Mielczarek, L., and Wojciechowicz-Żytka, E. (2021). **The influence of heavy metals on the shape and asymmetry of wings of female *Polistes nimpha* (Hymenoptera, Vespidae) living on contaminated sites**. *Ecotoxicology*, 30:1854–1861.
- Mirth C.K., Saunders T.E., Amourda C. (2021). **Growing up in a changing world: Environmental regulation of development in insects**. *Annual Review of Entomology*, 66:81–99.
- Mitteroecker, P., Gunz, P. (2009). **Advances in Geometric Morphometrics**. *Evolutionary Biology*, 36, 235–247.
- Moure, J.S., Urban, D. & Melo, G.A.R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** - online version. Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2024.

- Nunes, L.A., Araújo, E.D. & Marchini, L.C. (2015). **Fluctuating asymmetry in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) as bioindicator of anthropogenic environments.** *Revista Biología Tropical*, Vol. 63 (3): 673-682.
- Orr-Weaver, T.L. (2015). **When bigger is better: the role of polyploidy in organogenesis.** *Trends in Genetics*, 31(6):307-15.
- Palmer, A.R. (1994). **Fluctuating asymmetry analyses: A primer.** In *Developmental Instability: Its Origins and Implications*; Markow, T.A., Ed.; Kluwer: Dordrecht, The Netherlands, pp. 335–364.
- Palmer, A.R., Strobeck, C. (1986). **Fluctuating asymmetry: Measurement, analysis, patterns.** *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 17, 391–421.
- Palmer, A.R. & Strobeck, C. (2003). **Fluctuating asymmetry analyses revisited.** In **Developmental Instability: Causes and Consequences.** Polak, M., Ed.; Oxford University Press: New York, NY, USA, pp. 279–319.
- Parsons, P.A. (1990). **Fluctuating asymmetry: An epigenetic measure of stress.** *Biological Reviews*, 65, 131–145.
- Paxton, R.J. (2005). **Male mating behavior and mating systems of bees: an overview.** *Apidologie* 36 145-156.
- Peters, R. H. (1983). **The Ecological Implications of Body Size.** Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press.
- Pfau, H.K. (2020). **On the functional morphology of the metathorax and hind wing of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae).** In: O.P. Jenkins (Ed.), *Advances in Animal Science and Zoology*, Vol. 16: 119–147. Nova Publishers, Hauppauge, NY, USA.
- Pigliucci, M., Müller, G.B. (2010). **Evolution - the Extended Synthesis.** The MIT Press.
- Pignataro, T., Lourenço, G.M., Beirão, M. and Cornelissen, T. (2023). **Wings are not perfect: increased wing asymmetry in a tropical butterfly as a response to forest fragmentation.** *The Science of Nature*, 110:28.
- Pillai, K.C.S. (1955). **Some New Test Criteria in Multivariate Analysis.** *The Annals of Mathematical Statistics*, 26 (1) 117 – 121.
- Pina, W.C., Shibatta, L.S., Uemura, N., Gobatto, A.L., Freiria, G.A. & Silvia, S.H. (2020). **Male strategies and mating behavior in the Neotropical bee *Epicharis (Anepicharis) dejeanii* (Apidae: Centridini).** *Journal of Apicultural Research*.
- R (Development Core Team, 2018). **A language and environment for statistical computing.**
- Radmacher, S. and Strohm, E. (2010). **Factors affecting offspring body size in the solitary bee *Osmia bicornis* (Hymenoptera, Megachilidae).** *Apidologie*, 41:169.

- Rezende, N.T.Y. **Refúgios urbanos na conservação da abelha *Epicharis (Anepicharis) dejeanii* Lepeletier, 1841.** (2021), 34. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Viçosa, Campus Florestal, Florestal, MG.
- Rittschof, C.C. and Denny, A.S. (2023). **The Impacts of Early-Life Experience on Bee Phenotypes and Fitness.** *Integrative and Comparative Biology*, vol 0, pp. 1–17.
- Rohlf, F.J. (1999). **Shape Statistics: Procrustes Superimpositions and Tangent Spaces.** *Journal of Classification*, 16 (2): 197–223.
- Rohlf, F.J. (2006). **TpsDig, Digitize Landmarks and Outlines, Version 2.05.** Stony Brook, NY: Department of Ecology and Evolution, State University of New York.
- Rohlf, F.J. (2015). **The tps series of software. Hystrix,** *The Italian Journal of Mammalogy*, V 26 (1): 9–12. doi:10.4404/hystrix-26.1-11264.
- Rohner, P.T., Teder, T., Esperk, T., Lu'pold, S. & Blanckenhorn, W. (2018). **The evolution of male-biased sexual size dimorphism is associated with increased body size plasticity in males.** *Functional Ecology*, 32, 581–591.
- Roswell, M., Dushoff, J. and Winfree, M. (2019). **Male and female bees show large differences in floral preference.** *PLoS ONE*, 14(4): e0214909.
- Rowe, L. & Houle, D. (1996). **The lek paradox and the capture of genetic variance by condition dependent traits.** *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 263 (1375), 1415-1421.
- Santoni, M.M., Magri, L.A., Silva, V.O., Silva, B.H. and Lama, M.A.L. (2023). **Sex Ratio, Sexual Dimorphism, and Wing Geometric Morphometrics in Species of *Trypoxylon Latreille, 1796* (Hymenoptera: Crabronidae).** *Neotropical Entomology*, 52:1005–1017.
- Shapiro, S.S., & Wilk, M.B. (1965). **An analysis of variance test for normality (complete samples).** *Biometrika*, 52(3-4), 591-611.
- Shibata, L., Santoni, M.M., Silva, V.O. and Del Lama, M.A. (2020). **Nesting Biology, Sexual Dimorphism, and Populational Morphometric Variation in *Podium denticulatum* F. Smith, 1856** (Hymenoptera: Sphecidae). *Sociobiology*, 67(4): 572-583.
- Silva, M.C., Lomônaco, C. and Kerr, W.E. (2009). **Climatic and anthropic influence on size and fluctuating asymmetry of Euglossine bees (Hymenoptera, Apidae) in a semideciduous seasonal forest reserve.** *Genetics and Molecular Research*, 8 (2): 730-737.
- Smith, D.R., Crespi, B.J. and Bookstein. F.L. (1997). **Fluctuating asymmetry in the honey bee, *Apis mellifera*: effects of ploidy and hybridization.** *Journal of Evolutionary Biology*, 10:551–574.

- Stillwell, R.C., Blanckenhorn, W.U., Teder, T., Davidowitz, G. and Fox, C.W. (2010). **Sex Differences in Phenotypic Plasticity Affect Variation in Sexual Size Dimorphism in Insects: From Physiology to Evolution.** *Annual Review of Entomology*, 55:227–45.
- Stillwell, R.C., Wallin, W.G., Hitchcock, L.J. and Fox, C.W. (2007). **Phenotypic plasticity in a complex world: interactive effects of food and temperature on fitness components of a seed beetle.** *Oecologia*, 153:309–21.
- Stone G.N., Loder P.M.J. and Blackburn T.M. (1995). **Foraging and courtship behavior in males of the solitary bee *Anthophora plumipes* (hymenoptera, anthophoridae) — thermal physiology and the roles of body size.** *Ecological Entomology*, 20:169-183.
- Stubblefield, J.W and Seger, J. (1994). **Sexual dimorphism in the Hymenoptera.** Cambridge University Press, 71-103.
- Szentgyörgyi, H., Czekonska, K. and Tofilski, A. (2016). **Influence of pollen deprivation on the fore wing asymmetry of honeybee workers and drones.** *Apidologie*, 47:653–662.
- Tammaru, T., Esperk, T., Ivanov, V. & Teder, T. (2010). **Proximate sources of sexual size dimorphism in insects: locating constraints on larval growth schedules.** *Evolutionary Ecology*, Volume 24, 161–175.
- Teder, T. (2005). **Male-biased size dimorphism in ichneumonine wasps (Hymenoptera: Ichneumonidae) - the role of sexual selection for large male size.** *Ecological Entomology*, 30(3), 342–349.
- Teder, T. (2014). **Sexual size dimorphism requires a corresponding sex difference in development time: A meta-analysis in insects.** *Functional Ecology*, 28, 479– 486.
- Teder, T., Kaasik, A., Taits, K. and Tammaru, T. (2021). **Why do males emerge before females? Sexual size dimorphism drives sexual bimaturism in insects.** *Biological Reviews*, 96, 2461–2475.
- Teder, T. and Kaasik, A. (2023). **Early-life food stress hits females harder than males in insects: A meta-analysis of sex differences in environmental sensitivity.** *Ecology Letters*, 26:1419–1431.
- Teder, T. & Tammaru, T. (2005). **Sexual size dimorphism within species increases with body size in insects.** *Oikos*, 108, 321–334.
- Tukey, J.W. (1949). **Comparing individual means in the analysis of variance.** *Biometrics*, 5(2), 99-114.
- Uemura, N., Gobatto, A.L., Pina, W.C., Ono, R.H., Sofia, S.H. (2021). **Nest Structure, Seasonality and Female Behavior of *Epicharis (Anepicharis) dejeanii* Lepeletier**

- (Hymenoptera, Apidae, Centridini) in a Restinga Ecosystem, in Southern Brazil.** *Sociobiology*, 68(1): e-5792.
- Vea, I.M., Wilcox, A., Frankino, W.A. and Shingleton, A.W. (2021). **Sex-Specific Plasticity Explains Genetic Variation in Sexual Size Dimorphism in *Drosophila*.** *BioRxiv*.
- Vigueira, P.A., Vigueira, C.C., Campbell, J.W., Ladner, S., Hayes, G. and Riser, E. (2023). **Sexual dimorphism in excess power index of four North American native bees (Hymenoptera, Andrenidae, Apidae, and Halictidae).** *Journal of Hymenoptera*, 96: 121 - 128.
- Waddington, C.H. (1942). **Canalization of development and the inheritance of acquired characters.** *Nature*, 150 (3811), 563–565.
- Wcislo W.T. (1992). **Attraction and learning in matefinding by solitary bees, *Lasioglossum (Dialictus) figueresi* Wcislo and *Nomia triangulifera* Vachal (Hymenoptera, Halictidae),** *Behavioral Ecology and Sociobiology* ,31, 139–148.
- Welch, B.L. (1947). **The generalization of 'Student's' problem when several different population variances are involved.** *Biometrika*, 34(1-2), 28-35.
- Whiting, A.R. (1927). **Genetic evidence of diploid males in *Habrobracon*.** *Biological Bulletin*, 53(5), 438-449.
- Zakharov, V.M., Shadrina, E.G. and Trofimov, I.E. (2020). **Fluctuating Asymmetry, Developmental Noise and Developmental Stability: Future Prospects for the Population Developmental Biology Approach.** *Review, Symmetry*, 12, 1376.
- Zhao, H., Mashilingi, S.K., Liu, Y. and An, J. (2021). **Factors Influencing the Reproductive Ability of Male Bees: Current Knowledge and Further Directions.** *Insects*, 12, 529.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

**Material Suplementar 1:** Resultados dos testes de ANOVA para inferir a assimetria de forma (coordenadas de Procrustes) e tamanho (tamanho do centroide) de machos e fêmeas coletados nas áreas 1 e 2. Nas comparações de tamanho foram mostradas a intensidade (Fator – F) e significância (P) das diferenças entre os indivíduos (Ind), da assimetria direcional (Side) e da assimetria flutuante (Ind\*side) nas fêmeas e machos de cada área. Nas comparações de forma foram mostradas a intensidade (Pillai.tr) e a significância (P) das diferenças entre os indivíduos (Ind), da assimetria direcional (Side) e da assimetria flutuante (Ind\*side). Estão marcados em vermelho os valores não significativos da assimetria flutuante de tamanho. Todas as outras estimativas de assimetria foram significativas. Chama a atenção o fato de que no tamanho a assimetria direcional foi mais intensa que a flutuante, enquanto na forma a assimetria flutuante foi mais intensa que a direcional.

Asas	Parâmetro	Efeito	Área 1				Área 2				
			Fêmeas		Machos		Fêmeas		Machos		
Ant			F	P	F	P	F	P	F	P	
	tamanho	Ind	11,11	<.0001	87,66	<.0001	4,65	<.0001	86,15	<.0001	
		Side	38,03	<.0001	191,07	<.0001	48,65	<.0001	164,58	<.0001	
		Ind*side	4,71	<.0001	0,91	0,6576	2,8	0,4899	1,43	0,0739	
	Forma			Pillai.tr	P	Pillai.tr	P	Pillai.tr	P	Pillai.tr	P
		Ind	9,8	<.0001	10,39	<.0001	9,82	<.0001	10,06	<.0001	
		Side	0,85	<.0001	0,92	<.0001	0,85	<.0001	0,9	<.0001	
			Ind*side	6,65	<.0001	6,31	<.0001	6,77	<.0001	6,49	<.0001
	Post			F	P	F	P	F	P	F	P
		tamanho	Ind	11,11	<.0001	28,8	<.0001	13,58	<.0001	21,68	<.0001
Side			38,03	<.0001	45,93	<.0001	110,93	<.0001	37,36	<.0001	

		<u>Ind*side</u>	<u>4,71</u>	<u>&lt;.0001</u>	<u>4,04</u>	<u>&lt;.0001</u>	<u>4,27</u>	<u>&lt;.0001</u>	<u>3,63</u>	<u>&lt;.0001</u>
		<u>Pillai.tr</u>	<u>P</u>	<u>Pillai.tr</u>	<u>P</u>	<u>Pillai.tr</u>	<u>P</u>	<u>Pillai.tr</u>	<u>P</u>	<u>P</u>
<b>Forma</b>	<b>Ind</b>	9,8	<.0001	10,2	<.0001	9,73	<.0001	9,67	<.0001	
	<b>Side</b>	0,85	<.0001	0,83	<.0001	0,73	<.0001	0,78	<.0001	
	<b>Ind*side</b>	6,65	<.0001	7,32	<.0001	7,18	<.0001	7,26	<.0001	