

POLLYANA LEÃO GONÇALVES

**MODELAGEM PREDITIVA E GENÉTICA APLICADAS À  
CONSERVAÇÃO DA ABELHA NATIVA SEM FERRÃO *Melipona  
rufiventris* Lepeletier, 1836 (HYMENOPTERA: APIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

FLORESTAL  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca da Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Florestal**

T

G635m  
2017

Gonçalves, Pollyana Leão, 1991-  
**Modelagem preditiva e genética aplicadas à  
conservação da abelha nativa sem ferrão *Melipona rufiventris*  
Lepelletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae).** : . / Pollyana Leão  
Gonçalves. – Florestal, MG, 2017.  
x, 65f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Helder Canto Resende.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Abelha sem ferrão. 2. Abelha em extinção. 3. Abelha nativa. 4. Abelhas nativas: Genética. 5. Modelagem preditiva. I. Universidade Federal de Viçosa. Instituto de Ciências Agrárias. Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários. II. Título.

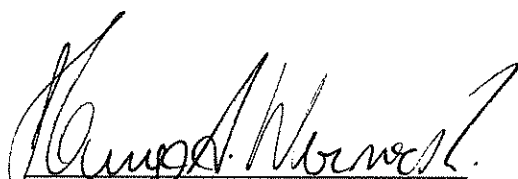
638.1

POLLYANA LEÃO GONÇALVES

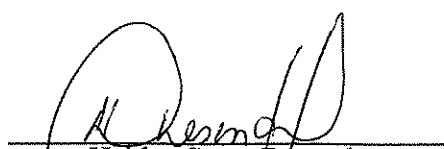
**MODELAGEM PREDITIVA E GENÉTICA APLICADAS À  
CONSERVAÇÃO DA ABELHA NATIVA SEM FERRÃO *Melipona  
rufiventris* Lepeletier, 1836 (HYMENOPTERA: APIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de agosto de 2017.

  
Hugo de Azevedo Werneck

  
Marco Antônio de Oliveira

  
Helder Canto Resende  
(Orientador)

*A minha mãe, dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu bom Deus por nunca ter me abandonado e por me carregar quando eu não conseguia caminhar com as próprias pernas. Por ter me agraciado durante toda a vida e por permitir ser feliz apesar de tudo.

À minha família que sempre acreditou em mim e sempre rezou e torceu muito para que esse dia chegasse, eu amo muito vocês. Em especial agradeço à minha mãe, que sempre abriu mão de seus sonhos para me ajudar a realizar os meus. Essa mulher é meu exemplo de força, garra, dedicação, fé, esperança e amor. Assumiu muito bem o seu papel e sempre fez mais que sua obrigação, fazendo também o papel de pai. Altruísta, nunca mediu esforços para me dar o que era preciso. Amo muito essa mulher!

Ao meu orientador Helder por ter me acolhido desde o primeiro contato e por ter me iniciado nesse mundo louco da pesquisa, por ter acreditado no meu trabalho desde a iniciação científica e por ser mais que um orientador, ser um amigo. Obrigada pelos sábios conselhos e puxões de orelha quando eu precisava. Espero que nossa amizade perdure pra sempre. Aproveito para agradecer à Paula por ouvir meus lamentos, por todas as orações e por sempre ter a palavra certa na hora certa.

Ao amigo José Eustáquio, por toda ajuda e ensinamentos ao longo do tempo de convivência. Obrigada também por aceitar ser co-orientador nesse trabalho.

Ao cara que me salvou ajudando em muitas extrações, me emprestando material e por ter me ensinado tantas coisas Hugo Werneck. Tenho a honra de ter esse cara na minha banca.

Ao grande mestre e amigo Marco Antônio, o cara que me mostrou que certas coisas só dependem de mim e que sempre afirma que de nada adianta ser doutor e não cumprimentar o porteiro. Tenho imensa felicidade em conhecer esse cara de caráter ímpar e humildade sem igual. Obrigada pelos inúmeros conselhos, conversas descontraídas, amizade e por ter se desdobrado para fazer parte da minha banca. Outro amigo que quero ao meu lado em todos os momentos.

Aos amigos que sempre solícitos contribuíram de uma forma ou de outra para que essa dissertação fosse concretizada: Henrique C. Costa e Emanuel Teixeira por terem aceitado com tanta presteza colaborar com esse trabalho, a ajuda de vocês foi incalculável. Maria Clara e Elisa Monteze pelas caronas para a UFMG.

Ao meu namorado Cliver, companheiro de todas as horas, agradeço por fazer parte da minha vida pessoal e profissional. Profissionalmente me inspiro sempre em você, na sua determinação, inteligência e foco. Pessoalmente, você é uma das pessoas que mais acredita em mim, mais do que eu mesma. Obrigada por sempre estar ao meu lado, mesmo com esses 278Km que nos separam, obrigada por fazer os meus dias melhores e muito obrigada por ser o primeiro a corrigir todas as versões dessa dissertação e pelo abstract. Também quero agradecer a toda a sua família pelo apoio e carinho.

Aos meus irmãos de mães diferentes (Deus sabia que nenhuma mãe conseguiria aguentar todos nós juntos) Iara, Joicy, Kelbia, Samuel e Victor Hugo por toda torcida, pela amizade de uma vida inteira e principalmente por desculparem minha ausência em tantos momentos ao longo desses anos. Saibam que todos foram, são e sempre serão muito especiais pra mim, porque mesmo longe sei que posso contar sempre com vocês.

Aos amigos que ganhei com a UFV: Amanda, Bruninha, Ingrid, Lucas, Natan, Tchu e Vitor por sempre terem me proporcionado as melhores conversas e risadas, espero que a nossa amizade se fortaleça sempre. Com vocês dividi momentos bons e momentos horríveis. Inúmeras extrações e PCRs que deram errado, material desaparecido e é com vocês que quero dividir essa conquista.

Ao professor que me apresentou a biologia e o seu segmento mais lindo, a genética, ainda no Ensino Médio, o qual eu tenho o prazer de ter como amigo. Túlio, obrigada por sempre me apoiar e torcer por mim e o meu agradecimento especial por ter me ensinado tanto e por ter ficado imensamente feliz por ter uma aluna estudando Ciências Biológicas. Estendo este agradecimento a todos os professores que tive ao longo de toda a vida, desde Tia Loudinha e Tia Síntia que me ensinaram a ler e escrever até os de graduação e de pós: vocês são inesquecíveis. Em especial à professora Pollyanna Amaral, primeira orientadora, ainda na época da monitoria de bioquímica, exemplo de profissional e de ser humano.

Aos pesquisadores que me forneceram dados de ocorrência de *Melipona rufiventris*, Prof. Denilce Lopes (UFV), Prof. Eduardo Almeida (USP), José Eustáquio (UFMG), Prof. Lúcio Campos (UFV), Prof. Fernando Silveira (UFMG). Aos dois últimos agradeço também pela acolhida nos seus laboratórios e coleções entomológicas, agradeço por todo ensinamento durante esse tempo. Agradeço também aos meliponicultores que nos permitiram coletar espécimes para as análises genéticas e aos colegas que acompanharam as coletas.

Ao pessoal que conheci nos laboratórios que utilizei para a realização dessa pesquisa sempre trocando valiosos conhecimentos de teoria e prática ou até mesmo compartilhando experiências de vida e ocasiões de desespero que a pós pode trazer. Agradeço principalmente à Renata, técnica do laboratório de Biologia Molecular de Insetos da UFV, pela presteza, empréstimo de material e conversas descontraídas sempre bem produtivas. Obrigada por toda ajuda desde a IC.

A banca examinadora, por atenderem tão prontamente ao meu pedido, pelas correções e ajudas no meu trabalho. Vocês são muito bons!

Ao programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários da Universidade Federal de Viçosa – *campus* UFV Florestal pela oportunidade da realização deste trabalho. Agradeço em especial aos secretários do programa que sempre foram solícitos. Estendo este agradecimento aos funcionários do registro escolar de Florestal e Viçosa.

À CAPES e à FAPEMIG pela concessão da bolsa de estudos.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	x
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
<b>CAPÍTULO 1. ASPECTOS DA DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E MODELAGEM PREDITIVA DE DISTRIBUIÇÃO DE <i>Melipona rufiventris</i> Lepeletier, 1836 (APIDAE: MELIPONINI).....</b>	<b>12</b>
1. RESUMO .....	12
2. INTRODUÇÃO .....	13
3. METODOLOGIA .....	15
3.1. Dados bióticos.....	15
3.2. Confecção dos mapas.....	16
3.3. Modelagem preditiva de distribuição de <i>Melipona rufiventris</i> .....	16
3.3.1. Variáveis preditoras .....	16
3.3.2. Calibração e avaliação do modelo .....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	19
4.1. Distribuição geográfica de <i>Melipona rufiventris</i> .....	19
4.2. Distribuição geográfica em relação aos remanescentes do Cerrado .....	19
4.3. Distribuição geográfica em relação à vegetação do Cerrado.....	22
4.4. Distribuição geográfica em relação às unidades de conservação .....	24
4.5. Distribuição geográfica em relação às áreas prioritárias para conservação.....	26
4.6. Distribuição geográfica em relação às áreas prioritárias para a conservação de invertebrados no estado de Minas Gerais .....	28
4.7. Distribuição geográfica potencial de <i>Melipona rufiventris</i> .....	30
5. CONCLUSÕES .....	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36
7. ANEXOS .....	41
<b>CAPÍTULO 2. ANÁLISES GENÉTICAS E MOLECULARES APLICADAS À CONSERVAÇÃO DE <i>Melipona rufiventris</i> Lepeletier, 1836 (APIDAE: MELIPONINI).....</b>	<b>44</b>
1. RESUMO .....	44
2. INTRODUÇÃO .....	45
3. METODOLOGIA .....	47
3.1. Material biológico .....	47
3.2. Extração de DNA, amplificação dos fragmentos de interesse e sequenciamento ...	48
3.3. Análises moleculares .....	49
3.4. Inferências filogenéticas e redes de haplótipos.....	50
3.4.1. Inferências filogenéticas .....	50
3.4.2. Rede de haplótipos .....	50
4. RESULTADOS.....	51
4.1. Inferências filogenéticas .....	51

4.2.Rede de haplótipos .....	57
5. DISCUSSÃO .....	58
5.1.Inferências filogenéticas acerca do grupo <i>rufiventris</i> .....	58
5.2.Diversidade e conservação local de <i>Melipona rufiventris</i> .....	60
6. CONCLUSÕES .....	61
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
CONCLUSÕES GERAIS .....	65

## RESUMO

GONÇALVES, Pollyana Leão, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa – *campus* Florestal, agosto de 2017. **Modelagem preditiva e genética aplicadas à conservação da abelha nativa sem ferrão *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae).** Orientador: Helder Canto Resende. Coorientador: José Eustáquio Santos Júnior.

O Cerrado tem sido severamente degradado e Unidades de Conservação protegem uma pequena parte do seu território. As *abelhas* da tribo Meliponini são endêmicas das regiões tropicais e o gênero *Melipona* é o mais rico do Brasil. *Melipona rufiventris* Lepeletier (1836) ocorre no Cerrado brasileiro e está ameaçada de extinção. Essa espécie integra um grupo de espécies conhecido como grupo *rufiventris*, que possui morfologia semelhante e distribuição em quase todo território do Brasil. O programa de conservação de *M. rufiventris* deve conter informações sobre a sua distribuição geográfica e dados moleculares para o desenvolvimento de populações de conservação. O objetivo deste trabalho foi estimar área potencial de ocorrência de *M. rufiventris*, identificar genótipos promissores para compor uma população de conservação e estudar as relações filogenéticas entre algumas espécies do grupo *rufiventris*. Mapas contendo os pontos de presença da espécie e características principais para sua conservação foram elaborados utilizando o software QGIS. A área potencial da espécie foi estimada com base na adequação climática do ambiente. Duas regiões do DNA, o gene Citocromo C oxidase I (COI) e o Espaçador Intergênico Transcrito 1 (ITS1) foram utilizadas em amplificações via PCR para os estudos de inferência filogenética e elaboração da rede de haplótipos. Os mapas mostraram que a área de ocorrência de *M. rufiventris* é ampla, mas está altamente degradada e os fragmentos remanescentes são rodeados de áreas cujo uso do solo foi convertido em agropecuária e pastagens. As áreas prioritárias para conservação do Cerrado não contemplam toda distribuição da espécie e as Unidades de Conservação existentes são muito poucas e isoladas, dificultando a identificação de áreas que possam receber populações de *M. rufiventris*. Os modelos gerados indicam uma grande área potencial de ocorrência, porém ela se encontra em uma região degradada com várias interferências antrópicas. Existe adequabilidade climática para a espécie em regiões de Mata Atlântica, mas essas áreas não são vistas como áreas naturais de *M. rufiventris*. Os resultados das análises moleculares mostram a relação próxima existente entre as populações de uruçú-amarela do sudeste do Brasil e revela que a espécie ainda não descrita encontrada no noroeste e no norte de Minas Gerais é mais intimamente relacionada com *Melipona flavolineata* do que com *M. rufiventris*.

Oito haplótipos foram identificados e todos eles devem compor as populações de conservação que serão manejadas para os locais indicados para conservação da espécie.

## ABSTRACT

GONÇALVES, Pollyana Leão, M.sc., Universidade Federal de Viçosa – *campus* Florestal, August, 2017. **Predictive modeling and genetic applied to the conservation of native bee *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae)**. Adviser: Helder Canto Resende. Co-adviser: José Eustáquio Santos Júnior.

The Cerrado have been severely degraded and Conservation Units protect a small part of its territory. The bees of the tribe Meliponini are endemic from the tropical regions and the genus *Melipona* is the richest in Brazil. *Melipona rufiventris* Lepeletier (1836) occurs in the Brazilian Cerrado and is endangered. This species integrates a group of species known as the *rufiventris* group, which has similar morphology and distribution in almost all Brazilian territory. The *M. rufiventris* conservation program should contain information on its geographical distribution and molecular data for the development of conservation populations. The aim of this work was to estimate the potential occurrence area of *M. rufiventris*, to identify promising genotypes to compose a conservation population and to study the phylogenetic relationships between some species of the *rufiventris* group. Maps containing the presence points of the species and the main characteristics to its conservation were elaborated using the QGIS software. The potential area of the species was estimated based on the climatic suitability of the environment. Two regions of the DNA, the Cytochrome C oxidase I (COI) gene and the Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) were used in PCR amplifications for the phylogenetic inference studies and elaboration of the haplotype network. The maps showed that the occurrence area of *M. rufiventris* is broad, but is highly degraded and the remaining fragments are surrounded by areas whose land use was converted into agriculture and pasture. The priority areas for conservation of the Cerrado do not include all distribution of the species and the existing Conservation Units are very few and isolated, making it difficult to identify areas that can receive populations of *M. rufiventris*. The generated models indicate a large potential area of occurrence, but it is in a degraded region with several anthropic interferences. There is climatic suitability for the species in regions of the Atlantic Forest, but these areas are not seen as natural areas of *M. rufiventris*. The results of the molecular analyzes show the close relationship between urucu amarela populations in the southeast of Brazil and reveals that the species not yet described in the northwest and north of Minas Gerais is most closely related to *Melipona flavolineata* than to *M. rufiventris*. Eight haplotypes were identified and all of them must compose the conservation populations that will be managed to the places indicated for conservation of the species.

## INTRODUÇÃO GERAL

A biodiversidade não está distribuída de maneira uniforme ao longo do planeta (Gaston, 2000). Segundo Lomolino (2001), há quase duzentos anos já eram reconhecidos dois dos padrões da biogeografia moderna: latitudinal e altitudinal. O gradiente de altitude evidencia um número maior de espécies em altitudes intermediárias (Rahbek, 1995). Já padrão latitudinal postula uma associação negativa entre riqueza de espécies e a latitude, ou seja, quanto menor a latitude maior a riqueza de espécies (Hillebrand, 2004) e apesar deste ser um dos primeiros padrões a ser reconhecido (Lomolino, 2001) ainda não apresenta um consenso sobre os mecanismos que resultam na diferença espacial da distribuição da riqueza de espécies (Hillebrand, 2004). Existem poucas exceções relacionadas ao gradiente latitudinal, entre elas encontra-se as abelhas (Silveira et al. 2002), cuja riqueza de espécies é maior em latitudes menores (Hillebrand, 2004). Segundo Michener (1979), a fauna de abelhas da América do Sul é progressivamente mais rica no Cerrado quando comparados aos campos nativos do sul do Brasil.

Abrigando 9,5% das espécies animais do planeta (Lewinsohn e Prado, 2005) o Brasil é conceituado como megadiverso (Mittermeier et al. 1997) e possui em seu território seis biomas, sendo dois deles considerados como *hotspots* mundiais da biodiversidade, o Cerrado e a Mata Atlântica (Myers et al. 2000; Myers, 2003; Mittermeier et al. 2004). O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil e o mais expressivo no estado de Minas Gerais e se apresenta como um mosaico de diferentes fitofisionomias que variam desde campos abertos até formações mais densas (Oliveira e Marquis, 2002). Este bioma abriga cerca de 30% das espécies do país e é considerado o berço das águas do Brasil (WWF, 2015).

Apesar da importância de sua manutenção, o bioma vem sendo degradado de forma acelerada desde 1970 (Santos et al. 2014). Sano et al. (2007) mostraram que aproximadamente 40% da área de vegetação original do Cerrado já foi desmatada ou antropizada, e o bioma está cada vez mais ameaçado pela perda da vegetação original (Klink e Machado, 2005). Diversas atividades foram responsáveis pela grande fração perdida de Cerrado original, dentre elas a expansão de pastagem, agricultura, desmatamento e incêndios (WWF, 2015). Os processos relacionados com fragmentação e perda de habitats são considerados como os mais impactantes para a biodiversidade (Fahrig, 2003), logo as espécies existentes no Cerrado estão sob constante ameaça. Rylands e Brandon (2005) atentam que as unidades de conservação são a chave para conservar o que resta dos *hotspots*, mas apenas

7,7% do território do Cerrado se encontra atualmente protegido pelas Unidades de Conservação (Oliveira et al. 2017).

O Cerrado é o refúgio de 35% das abelhas das regiões tropicais (Cavalcanti e Joly, 2002). Segundo Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger (1988) 75% das espécies vegetais estudadas do Cerrado eram polinizadas, primária ou secundariamente, por abelhas, o que as torna indispensáveis para a preservação da vegetação nativa. A polinização é um serviço ecossistêmico que garante a manutenção do ciclo de reprodução sexuada de inúmeras espécies vegetais, garantindo a disponibilidade de alimentos para consumidores primários (Campos, 1998), e sua ausência pode comprometer a produção de alimentos (Klein et al. 2007). As abelhas são consideradas os polinizadores mais importantes (Balestieri et al. 2002) auxiliando a produtividade em diversas culturas agrícolas com importância econômica (Freitas e Cruz, 2010). Nos cultivos agrícolas, esses insetos são considerados os com maior eficiência (Souza et al. 2008a).

As espécies da tribo Meliponini (Hymenoptera: Apidae), popularmente conhecidas como abelhas sem ferrão são eussociais e ocorrem nas regiões tropicais do mundo e nas subtropicais do hemisfério sul e geralmente constroem seus ninhos em cavidades preexistentes em ocos de árvores (Michener, 2000; Silveira et al. 2002). Dentre as abelhas sem ferrão, o gênero *Melipona* é o que possui maior riqueza de espécies no Brasil (Silveira et al. 2002; Silva e Paz, 2012; Silva et al. 2014), com no mínimo 40 espécies (Camargo e Pedro, 2013). Esse gênero encontra-se distribuído em toda região neotropical (Silveira et al. 2002) e apresentam atividade polinizadora em um grande número de espécies nativas (Kerr et al. 2001; Michener, 2007).

Porém, mesmo sendo reconhecida sua importância, muitas espécies de *Melipona* estão sofrendo uma grande redução populacional, principalmente devido à destruição e fragmentação dos habitats. Atualmente três espécies de *Melipona* se encontram na lista de espécies ameaçadas de extinção *Melipona capixaba* Moure e Camargo (1994), *Melipona scutellaris* Latreille (1811) e *Melipona rufiventris* Lepeletier (1836).

A espécie *M. rufiventris* (Apidae: Meliponini), popularmente conhecida como tujuba ou urucu-amarela, é endêmica do Cerrado brasileiro e, como já mencionado, encontra-se na Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção, editada pelo ICMBio em 2014 na categoria em perigo (EN)<sup>a</sup> (Silveira et al. 2014). Sua ocorrência é restrita a regiões de fitofisionomias florestais do Cerrado - cerrado denso e cerradão - nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Bahia, Piauí e Tocantins (Camargo e Pedro, 2013). Mesmo com

distribuição relativamente ampla, populações naturais de *M. rufiventris* são cada vez mais difíceis de serem encontradas, já que seus habitats têm sido severamente degradados.

As populações remanescentes de *M. rufiventris* encontram-se fragmentadas em sua área natural de ocorrência (Silveira et al. 2014). Sua frequência foi afetada pela degradação ambiental, já não sendo mais encontrada em áreas impactadas (Silveira e Campos, 1995). Mesmo nos locais onde tem sido registrada, apresenta baixa densidade (Silveira et al. 2014) e sua abundância nas amostragens é pequena, quando comparadas com outras espécies do mesmo gênero (Lopes, 2004).

*Melipona rufiventris* integra um grupo de espécies conhecido como grupo *rufiventris* e que possui representantes em quase todos os estados do Brasil (Silveira et al. 2002; Melo, 2003; Camargo e Pedro, 2013). Esse grupo é representado por nove espécies taxonomicamente válidas (Camargo e Pedro, 2013) que se assemelham em muitos caracteres morfológicos, incluindo a coloração. As espécies do grupo *rufiventris* são: *Melipona brachychaeta* Moure (1950), *Melipona captiosa* Moure (1962), *Melipona cramptoni* Cockerell (1920), *Melipona dubia* Moure e Kerr (1950) *Melipona flavolineata* Friese (1900), *Melipona fulva* Lepeletier (1836), *Melipona mondury* Smith (1863), *Melipona paraensis* Ducke (1916) e *M. rufiventris*. O grupo *rufiventris* possui uma grande probabilidade de apresentar ecótipos adaptados a diferentes locais, como resultado de sua extensa distribuição, a qual expõe as espécies a variadas condições ambientais, assim como foi proposto para *Melipona subnitida* Ducke (1910) por Bonatti et al. (2010). Essas diferenças podem implicar em incertezas taxonômicas, seja considerando mais de uma espécie como sendo uma só, ou, reconhecendo cada variante morfológica como sendo espécies diferentes. Assim como foi afirmado por Melo (2003), a distinção das abelhas pertencentes ao grupo *rufiventris* baseadas em caracteres morfológicos não é fácil.

---

**a** Categoria EM PERIGO – EN- B2ab (i,ii,iii,iv): táxon que enfrenta risco muito alto de extinção na natureza. Distribuição geográfica restrita e apresentando fragmentação, declínio ou flutuações; cuja extensão de ocorrência estimada é menor que 500 km<sup>2</sup>; área de ocupação é severamente fragmentada e com contínuo declínio na extensão de sua ocorrência, área de ocupação, área, extensão e/ou qualidade do habitat, número de localidades (IUCN, 2001).

As populações de urucu-amarela presentes no sudeste brasileiro eram consideradas como uma única espécie (Moure, 1975; Pedro e Camargo, 1999). No entanto, Moure e Kerr (1950) e Moure (1975) já observavam que alguns espécimes apresentavam coloração diferente nos pelos corbiculares e Moure (1992), se baseando em caracteres morfológicos, sugeriu que os espécimes avaliados poderiam representar espécies diferentes. Melo (2003), também se baseando em caracteres morfológicos, reconheceu que no sudeste existiam ao menos duas espécies sendo tratadas como *M. rufiventris* e sugeriu que a forma encontrada em região de Mata Atlântica fosse tratada como *Melipona mondury* Smith (1863), pois os espécimes provenientes do referido bioma concordavam com a descrição original da espécie. Sendo assim *M. rufiventris* passou a ser utilizado apenas para espécimes provenientes do Cerrado.

Trabalhos utilizando técnicas moleculares vêm sendo empregados com a finalidade de diferenciar as populações de urucu amarela provenientes do estado de Minas Gerais, entre eles tem-se Costa (2003), Busse et al. (2003), Schetino et al. (2003), Lopes (2004), que trabalhando com marcadores isoenzimáticos, RAPD, PCR/RFLP da região COI/COII do mtDNA microssatélites, respectivamente, identificaram diferenças genéticas entre indivíduos de regiões de Mata Atlântica e de Cerrado e mostraram ainda que os espécimes oriundos de duas localidades no Cerrado mineiro, Brasilândia de Minas e Dom Bosco, apresentavam padrões que os diferenciavam dos demais representantes do Cerrado.

*M. rufiventris* encontra-se ameaçada de extinção e o seu habitat sofre constante degradação por fatores antrópicos, o que ressalta a necessidade de ações para sua conservação. A diversidade como um todo está sendo rapidamente reduzida e muitas espécies não conseguem assegurar sua sobrevivência sem esforços externos (Frankham et al. 2008), tais como a reprodução assistida em cativeiro e a reintrodução/translocação desses indivíduos (ou populações). As decisões devem ser tomadas com rapidez para garantir a sobrevivência do maior número de espécies possível.

Para um programa efetivo de conservação, informações sobre a distribuição geográfica da espécie são essenciais. A partir dessas informações são tomadas as decisões sobre quais áreas são prioritárias para conservar, para otimizar o esforço amostral de espécimes e também de dados ambientais. Porém, existem áreas de difícil acesso e/ou o esforço amostral é pequeno o que torna difícil saber com confiança a área de ocorrência da população remanescente. Nesse cenário, a modelagem de distribuição potencial surge como importante alternativa que tem como objetivo determinar o grau de ameaça, sobretudo em espécies com poucas informações

sobre sua área de vida (Pearson et al. 2007, Batalha-Filho et al. 2011). A criação de modelos preditivos apresenta as vantagens de ser de baixo custo e eficaz, podendo ser utilizada até mesmo nas análises de elaboração de Unidades de Conservação (Peterson, 2001). Alguns algoritmos têm sido aplicados para criar modelos que representem condições ambientais exigidas pelas espécies e que podem ser projetadas sobre um mapa que exhibe as áreas potenciais de ocorrência das espécies baseados em seu nicho ecológico (Giannini et al. 2012).

Associados às informações sobre a distribuição das espécies, estudos populacionais podem contribuir para o manejo racional e para a conservação dos meliponíneos. A genética da conservação como área do conhecimento usa de teoria e técnicas da genética com o objetivo de preservar as espécies como entidades capazes de se adaptar às mudanças ambientais (Allendorf e Lukart, 2006; Frankham et al. 2008). Ela é um importante instrumento para a gestão da conservação, pois fornece informações importantes sobre a biologia da espécie que são fundamentais para seu manejo e conservação (Frankham et al. 2008). Estudos moleculares são de grande importância quando se trata de conservação de espécies ameaçadas. Por meio deles é possível delimitar unidades evolutivamente significativas, tomar decisões acerca de reintrodução/translocação de populações de conservação e a resolução de incertezas taxonômicas (Frankham et al. 2008).

Neste contexto, trabalhos com técnicas de biologia molecular são utilizadas para verificar a diversidade genética de populações de *Meliponas* (Batalha-Filho et al. 2011; Nunes et al. 2003; Ruiz et al. 2014). Um dos métodos utilizados em estudos populacionais de abelhas é a aplicação de ferramentas moleculares, que proporcionam informações sobre os parâmetros fundamentais e características relevantes para o manejo e conservação (Zayed, 2009). Dentre as técnicas de biologia molecular estão os marcadores moleculares.

O DNA mitocondrial (mtDNA) é amplamente usado nos estudos genéticos voltados à conservação devido a características intrínsecas da molécula tais como a herança exclusivamente materna, a presença de regiões conservadas e de regiões com altas taxas de mutação, o seu tamanho reduzido, a ausência de íntrons, a ausência de recombinação ou rearranjo (Francisco et al. 2001; Sousa et al. 2003; Weinlich et al. 2004). As análises mais utilizadas em conservação usando mtDNA são estudos de dinâmica populacional, filogenia, biogeografia e diversidade genética (Souza et al. 2008b; Barni et al. 2007).

O reconhecimento da região conhecida como espaçador interno transcrito 1 (ITS1) do DNA ribossômico nuclear (rDNA) surgiu com a necessidade de marcadores do genoma

nuclear que servissem para filogenia de forma à complementar os dados fornecidos pelas análises com mtDNA (Jobes e Thien, 1997). O ITS1 é parte integrante do loco eucariótico do DNA ribossômico (rDNA) e separa duas regiões funcionais do rDNA: a 18S e a 5,8S. Possui evolução relativamente rápida e pode ser usado em reconstruções filogenéticas de táxons relacionados (Armbruster e Korte, 2006). Segundo Fernandes-Salomão et al. (2002) e Ruiz et al. (2014), a região ITS1 de *Melipona* demonstra potencial filogenético para estudos entre espécies. O espaçador ITS1 serve também para avaliar variações intraespecíficas em populações de *Melipona*, como demonstrado por Cruz et al. (2006) com *M. subnitida* e por Ruiz et al. (2014) com *Melipona yucatanica* Moure e Roubik (1988).

Considerando a necessidade de estudos relacionados à *M. rufiventris*, o presente estudo teve por objetivo levantar conhecimento acerca da história natural da espécie, com ênfase em sua conservação; identificação de potenciais áreas de ocorrência natural; diagnosticar dentre as populações os genótipos promissores para sua conservação.

O presente estudo foi dividido em dois capítulos. No primeiro, utilizando pontos de ocorrência de *M. rufiventris*, foi estimado um modelo de distribuição potencial com o objetivo de estimar a área potencial de ocorrência da espécie, associando essa distribuição com unidades de conservação úteis para a formação de populações para a conservação da espécie. No segundo capítulo foram utilizadas sequências de COI e ITS1 para análises de diversidade genética de colônias da espécie *M. rufiventris* com ocorrência na região da Serra da Canastra no estado de Minas Gerais. Foram comparadas colônias naturais e colônias manejadas por criadores, com o objetivo de verificar a potencial utilidade de colônias manejadas como fonte de diversidade genética para a formação de populações de conservação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allendorf, F.W.; Luikart, G. (2006) Conservation and the Genetics of Populations. Wiley Blackwell, Oxford.
- Armbruster, G.F.J.; Korte, A. (2006) Genomic nucleotide variation in the ITS1 rDNA spacer of land snails. *Journal of molluscan studies*, 72: 211-219.
- Balestieri, J.B.P.; Alves-Júnior, V.V.; Alves, M.M.B.M.; Silva, A.C.G. (2002) Levantamento de abelhas Euglossinae ao longo do transecto Dourados-Sidrolândia – Campo Grande / MS, associado à linha de instalação do gasoduto. In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 14. Campo Grande, MS, Anais. Campo Grande, MS: CBA. p 45.
- Barni, G.S.; Strapazzon, R.; Guerra-Júnior, J.C.V.; Moretto, G. (2007) Mitochondrial genome differences between the stingless bees *Melipona rufiventris* and *Melipona mondury* (Apidae: Meliponini). *Genetics and Molecular Research*, 6(1): 8-14.
- Batalha-Filho, H.; Waldschmidt, A.M.; Alves, R.M.O. (2011) Distribuição potencial de abelhas sem ferrão endêmica da caatinga, *Melipona mandacaia* (Hymenoptera, Apidae). *Cruz das Almas. Magistra*, 23(3): 129-133.
- Bonatti, V.; Borges, R.C.; Fonseca, V.L.I.; Francoy, T.M. (2010) Variabilidade morfológica em populações de *Melipona subnitida* no nordeste brasileiro avaliada com morfometria geométrica de asas. In: 10º Congresso Iberolatinoamericano de Apicultura, Natal – RN. CD-ROM.
- Camargo, J.M.F.; Pedro, S.E.M. (2013) Meliponini Lepeletier, 1836. In: 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: 02/03/2016.
- Camargo, J.M.F.; Vit, P. (2013) Historical biogeography of the Meliponini (Hymenoptera, Apidae, Apinae) of the Neotropical Region. In: Vit, P.; Pedro, S.R.; Roubik, D. *Pot-Honey: A legacy of stingless bees*. Springer. Nova York, EEUU. 654p.
- Campos, L.A.O. (1998) *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 In: Machado, A.B.M.; Fonseca, G.A.B.; Machado, R.B.; Aguiar, L.M.S.; Lins, L.V. (eds.) *Livro vermelho das espécies ameaçadas de extinção da fauna de Minas Gerais, Belo Horizonte*. Biodiversitas, p 560-561.
- Cavalcanti, R.; Joly, C. (2002) The conservation of the Cerrados. In: Oliveira, P.S.; Marquis, J. (eds.) *The Cerrado of Brazil: Ecology and Natural History of a neotropical savanna*. p 351-367. Columbia University Press, New York.
- Costa, R.G. (2003) Variabilidade genética em populações de *Melipona rufiventris* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae) no estado de Minas Gerais – Brasil. Dissertação. Univesidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Cruz, D.O.; Jorge, D.M.M.; Pereira, J.O.P.; Torres, D.C.; Soares, C.E.A.; Freitas, B.M., Grangeiro, T.B. (2006) Intraespecific variation in the first internal transcribed spacer of the nuclear ribosomal DNA in *Melipona subnitida* (Hymenoptera, Apidae), an endemic stingless bee from northeastern Brazil. *Apidologie*, 37: 376-386.

- Fahrig, L. (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review Ecology, Evolution and Systematics*, 34: 487-515.
- Fernandes-Salomão, T.M.; Muro-Abda, J.L.; Campos, L.A.O.; Araújo, E.F. (2002) Brief report mitochondrial and nuclear DNA characterization in the *Melipona* species (Hymenoptera, Meliponini) by RFLP analysis. *Hereditas*, 137: 229-233.
- Francisco, F.O.; Silvestre, D.; Arias, M.C. (2001) Mitochondrial DNA characterization of five species of *Plebeia* (Apidae: Meliponini): RFLP and restrictions maps. *Apidologie*, 32(4): 323-332.
- Frankham, R.; Ballou, J.D.; Briscoe, D.A. (2008) *Fundamentos da Genética da Conservação*. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP. 280p.
- Freitas, B.M.; Cruz, D.O. (2010) As abelhas na polinização de culturas agrícolas. In: II semana dos polinizadores: palestras. Embrapa semiárido. Petrolina - PE. 84p.
- Gaston, K.J. (2000) Global patterns in biodiversity. *Nature*, 405: 220-227.
- Giannini, T.C.; Siqueira, M.F.; Acosta, A.L.; Barreto, F.C.C.; Saraiva, A.M.; Alves-dos-Santos, I. (2012) Desafios atuais da modelagem preditiva de distribuição de espécies. *Rodriguésia*, 63(3): 733-749.
- Hillebrand, H. (2004) On the generality of the latitudinal diversity gradient. *The American Naturalist*, 163(2): 192-211.
- IUCN (2001) IUCN Red List Categories: version 3.1. Prepared by the IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Jobes, D.V.; Thien, L.B. (1997) A conserved motif in the 5,8S ribosomal RNA (rRNA) gene is a useful diagnostic marker for plant internal transcribed spacer (ITS) sequences. *Plant molecular biology reporter*, 15: 326-334.
- Kerr, W.E.; Carvalho, G.A.; Silva, A.C.; Assis, M.G.P. (2001) Aspectos pouco mencionados da biodiversidade Amazônica. *Parceria e Estratégias*, 12(2): 20-41.
- Klein, A.M.; Vaissière, B.; Cane, J.H.; Dewenter, I.S.; Cunningham, S.A.; Kremen, C.; Tscharntke, T. (2007) Importance of pollinators in changing landscape for world crops. *Proceedings of the royal society*, 274: 303-313.
- Klink, C.A.; Machado, R.B. (2005) Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conservation Biology*, 19: 707-713.
- Lewinsohn, T.M.; Prado, P.I. (2005) How many species are there in Brazil? *Conservation Biology*, 19(3): 619-624.
- Lomolino, M.V. (2001) Elevation gradients of species-density: historical and prospective views. *Global Ecology and Biogeography*, 10: 3-13.
- Lopes, D.M. (2004) Diversidade e estrutura genética em populações de *Melipona rufiventris* e *Melipona mondury* (Hymenoptera: Apidae) por análise de microssatélite. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 64p.

- Melo, G.A.R. (2003) Notas sobre meliponíneos neotropicais, com descrição de três novas espécies (Hymenoptera, Apidae). In: Melo, G.A.R. e Alves-dos-Santos, I. Apoidea Neotropical: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure. Editora UNESC, Santa Catarina, Brasil. p 85-92.
- Michener, C.D. (1979) Biogeography of the bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 66: 277-347.
- Michener, C.D. (2000) *The bees of the World*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, USA. 913p.
- Michener, C.D. (2007) *The bees of the world*. 2ªed. Johns Hopkins University. Baltimore, MD, EEUU. 992p.
- Mittermeier, R.A.; Gil, P.R.; Hoffmann, M.; Pilgrim, J.; Brooks, T.; Mittermeier, C.G.; Lamoreux, J.; Fonseca, G.A.B. (2004) Hotspots revisited. CEMEX, México. 391p.
- Mittermeier, R.A.; Gil, P.R.; Mittermeier, C.G. (1997) Megadiversity: Earth's biologically wealthiest nations. CEMEX, Agrupación Serra Madre, S. C., México.
- Moure, J.S. (1975) Notas sobre as espécies de *Melipona* descritas por Lepeletier em 1836 (Hymenoptera: Apidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 35(4): 615-623.
- Moure, J.S. (1992) Melikerria e Eomelipona, dois subgêneros novos em *Melipona* Illiger, 1806 (Hymenoptera, Apidae) p 32-38. In: Cruz-Landim, C.; Chaud-Neto, J. (eds.) Anais do Encontro Brasileiro de Biologia de Abelhas e Outros Insetos Sociais. Homenagem aos 70 anos de Warwick Estevan Kerr. Naturalia, número especial. São Paulo: Editora UNESP. 283p.
- Moure, J.S.; Kerr, W.E. (1950) Sugestões para a modificação da sistemática do gênero *Melipona* (Hymenoptera-Apoidea). *Dusenya*, 1(2): 105-129.
- Myers, N. (2003) Biodiversity hotspots revised. *BioScience*, 53: 916-917.
- Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Fonseca, G.A.B.; Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- Nunes, L.A.; Passos, G.B.; Carvalho, C.A.L.; Araújo, E.D. (2003) Size and shape in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera; Meliponini). *Brazilian Journal of Biology*, 73(4): 887-893.
- Oliveira, P.S.; Marquis, R.J. (2002) *The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*. Columbia University Press. 368p.
- Oliveira, U.; Soares-Filho, B.S.; Paglia, A.P.; Brescovit, A.D.; Carvalho, C.J.B.; Silva, D.P.; Rezende, D.T.; Leite, F.S.F.; Batista, J.A.N.; Barbosa, J.P.P.P.; Stehmann, J.R.; Ascher, J.S.; Vasconcelos, M.F.; De-Marco, P.; Löwenberg-Neto, P.; Ferro, V.G.; Santos, A.J. (2017) Biodiversity conservation gaps in the Brazilian protected areas. *Scientific Reports*. 7(9141): 1-9.

- Pearson, R.G.; Raxworthy, C.J.; Nakamura, M.; Peterson, A.T. (2007) Predicting species distributions from small number of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, 34: 347-357.
- Pedro, S.E.M.; Camargo, J.M.F. (1999) Apoidea Apiformes. In: Joly, C.A.; Bicudo, C.E.M. (Orgs.) Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil. Síntese do conhecimento ao final do século XX. 5: Invertebrados Terrestres. FAPESP. p 193-211.
- Pedro, S.R. (2014) The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology* 61: 348-354.
- Peterson, A.T. (2001) Predicting species geographic distribution based on ecological niche modeling. *Condor*, 103(3): 599-605.
- Rahbek, C. (1995) The elevation gradient of species richness: a uniform pattern? *Ecography*, 18: 200-205.
- Ruiz, C.; May-Itzá, W.; Quezada-Euán, J.J.G.; La Rúa, P. (2014) Utility of the ITS1 region for phylogenetic analysis in stingless bees: a case study of the endangered *Melipona yucatanica* Camargo, Moure and Roubik (Apidae: Meliponini). *Sociobiology*, 61(4): 470-477.
- Rylands, A.B.; Brandon, K. (2005) Unidades de conservação brasileiras. *Megadiversidade*, 1(1): 27-35.
- Sano, E.E.; Ferreira, L.G.; Asner, G.P.; Steinke, E.T. (2007) Spatial and temporal probabilities of obtaining cloud-free Landsat images over the Brazilian tropical savanna. *International Journal of Remote Sensing*, 28: 2739-2752.
- Santos, M.A.; Barbieri, A.F.; Machado, C.J.; Carvalho, J.A.M. (2014) Minas Gerais e o marco inicial da ocupação do Cerrado brasileiro: o papel do estado. *Revista do Desenvolvimento Regional*, Santa Cruz do Sul, 19(1): 261-275.
- Silberbauer-Gottsberger, I.; Gottsberger, G. (1998) A polinização de plantas de Cerrado. *Revista Brasileira de Biologia*, 48: 651-663.
- Silva, G.R.; Pereira, F.M.; Souza, B.A.; Lopes, M.T.R.; Campelo, J.E.G.; Diniz, F.M. (2014) Aspectos bioecológicos e genético-comportamentais envolvidos na conservação da abelha Jandaíra, *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponini), e o uso de ferramentas moleculares nos estudos de diversidade. *Arquivos do Instituto Biológico*, 81: 299-308.
- Silva, W.P.; Paz, J.R.L. (2012) Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. *Natureza online*, 10(3): 146-152.
- Silveira, F.A.; Campos, M.J.O. (1995) A melissofauna de Corumbataí (SP) e Paraopeba (MG) e uma análise da biogeografia das abelhas do Cerrado brasileiro (Hymenoptera, Apoidea). *Revista Brasileira Entomologia*. 39(2): 371-401. In: Lopes DM (2004) Diversidade e estrutura genética em populações de *Melipona rufiventris* e *Melipona mondury* (Hymenoptera: Apidae) por análise de microssatélite. Dissertação. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 64p.
- Silveira, F.A.; Melo, G.A.; Almeida, E.A. (2002) Abelhas Brasileiras. Sistemática e Identificação. Araucária, Belo Horizonte, Brasil. 254 p.

Silveira, F.A.; Melo, G.A.R.; Campos, L.A.O.; Pedro, S.R.M. (2014) Invertebrados terrestres – *Melipona* (Michmelia) *rufiventris* Lepeletier, 1836 – Tujuba. Lista de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção - ICMBio. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/lista-de-especies/6006-especie-6006>> Acessado em: 16/02/2016

Sousa, C.S.; Kerr, W.E.; Bonetti, A.M.; Souza, C.S.; Santana, F.A.; Goulart, L.R.; Oliveira, R.C.; Vieira, C.U.; Vasconcelos, S.M. (2003) Comparação das técnicas de SSCP, DS-PCR, PCR-RFLP para detecção de mutação no gene mitocondrial 16S rRNA em populações de *Melipona rufiventris*. Bioscience Journal, 19(1): 65-70.

Souza, D.T.M.; Toledo, V.A.A.; Pinto, A.S. (2008) (a) Ecologia da polinização. Piracicaba: CP 2. 32p.

Souza, B.A.; Carvalho, C.A.L.; Alves, R.M.O. (2008) (b) Notas sobre a bionomia de *Melipona asilvai* (Apidae: Meliponini) como subsídio à sua criação racional. Archivos de Zootecnia, 57(217): 53-62.

Weinlich, R.; Francisco, F.O.; Arias, M.C. (2004) Mitochondrial DNA restriction and genomic maps of seven species of *Melipona* (Apidae: Meliponini). Apidologie, 35(4): 365-370.

WWF (2015) Áreas prioritárias para conservação da biodiversidade no Cerrado e pantanal. Brasília, DF. WWF-Brail. 128p.

Zayed, A. (2009) Bee genetic and conservation. Apidologie, 40(3): 237-262.

Busse, A.H.P.; Borges, A.A.; Tavares, M.G.; Campos, L.A.O. (2003) Variabilidade genética em populações de *Melipona rufiventris* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) no estado de Minas Gerais – Brasil. In: Anais do 49º Congresso Nacional de Genética. CD-ROM.

Schetino, M.A.A.; Souza, T.C.; Salomão, T.M.F.; Campos, L.A.O. (2003) Distinção entre populações de *Melipona rufiventris* de Minas Gerais por meio de marcadores RFLP da região COI-I/COI-II do DNA mitocondrial. In: Anais do 49º Congresso Nacional de Genética. CD-ROM.

# **CAPÍTULO 1 – Distribuição geográfica e modelagem preditiva de distribuição de *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 (Apidae: Meliponini)**

## **1. RESUMO**

*Melipona rufiventris* (Hymenoptera: Apidae) encontra-se ameaçada de extinção principalmente pela destruição e fragmentação de seu habitat em consequência do desmatamento para atividades agropecuárias. Para um efetivo plano de conservação é necessário conhecer a distribuição da espécie, porém amostragens são onerosas e demoradas. A modelagem ecológica de distribuição potencial é uma alternativa a esse impasse. Buscou-se aqui, estimar e conhecer algumas características da área de distribuição de *M. rufiventris* com o objetivo de identificar possíveis áreas para reintrodução/translocação de populações de conservação. Para isso, foram obtidos registros de ocorrência da espécie que foram processados e utilizados em mapas juntamente com outros shapefiles de características informativas para a conservação da espécie. Os procedimentos de modelagem foram realizados no pacote estatístico R Core Team (2016) com o pacote biomod2, utilizando camadas bioclimáticas disponíveis no WorldClim e três algoritmos: Bioclim, Modelos Lineares Generalizados e Máxima, avaliados com TSS e AUC. Foi elaborado um modelo consenso e o limiar de TSS foi utilizado nas transformações binárias para produzir as representações finais das distribuições potenciais de *M. rufiventris*. Os resultados mostram que o Cerrado, área de ocorrência da espécie, possui poucos remanescentes e estes estão altamente fragmentados, o uso do solo foi amplamente convertido pela agropecuária e poucas são as unidades de conservação que poderão abrigar populações de conservação de *M. rufiventris*. Os modelos gerados apresentaram bom desempenho, com alto poder preditivo mostrando uma ampla área potencial de ocorrência de *M. rufiventris* que extrapola os limites do cerrado em direção à Mata Atlântica, indicando adequação ambiental para a espécie em algumas regiões de Mata.

## 2. INTRODUÇÃO

O Cerrado, juntamente com o Chaco e a Caatinga constituem uma formação vegetacional conhecida como diagonal seca ou diagonal de formações abertas que se localiza ao leste dos Andes e ao sul da Bacia Amazônica (Werneck, 2016). Essa área, pertence à região tropical do planeta está situada entre biomas florestais e sofre influência de uma grande diversidade de condições ambientais (Werneck, 2016). O Cerrado é amplamente distribuído no Brasil central e na região leste da Bolívia, conhecido por ser a maior savana neotropical é considerado um *hotspot* da biodiversidade sob forte ameaça antrópica (Werneck, 2016; Mittermeier et al. 2000; Myers et al. 2000). Caracterizado por sua heterogeneidade espacial e ambiental (Silva et al. 2006) apresenta-se, ao longo de sua extensão, como um mosaico de diferentes fitofisionomias (Ribeiro e Walter, 2008).

Cerrado é a grande fronteira agrícola do mundo, capaz de responder à crescente demanda por produtos agrícolas (Costa et al. 2002). A degradação do bioma se intensificou a partir de 1970 (Santos et al. 2014), chegando a perder aproximadamente 40% da área da sua vegetação original por meio do desmatamento e outros fatores antrópicos (Sano et al. 2007), fazendo com que o bioma se encontre cada vez mais ameaçado pela perda da vegetação original (Klink e Machado, 2005).

Há uma estimativa de que 87,5% das espécies de angiosperma são dependentes da zoofilia e a maior parte das espécies de árvores das florestas tropicais é polinizada por insetos com predominância das abelhas (Ollerton et al. 2011). A conservação de muitos habitats depende da preservação das populações de abelhas, sem as quais a reprodução da maior parte da flora estaria severamente limitada (Michener, 2007). A ausência de polinização resulta na redução direta na produção agrícola (Aizen et al. 2009). O valor econômico da polinização chama atenção para o declínio dos agentes polinizadores, estima-se que para a América do Sul a polinização representou €11,6 bilhões (Gallai et al. 2009).

Uma espécie representante da entomofauna do Cerrado é a abelha sem ferrão *Melipona rufiventris* Lepeletier 1836 (Apidae: Meliponini) que se encontra na Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção (Silveira et al. 2014). Sua ocorrência é conhecida como restrita a regiões de fitofisionomias florestais do Cerrado nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Bahia, Piauí e Tocantins (Camargo e Pedro, 2013).

*M. rufiventris* juntamente com *M. brachycaeta*, *M. captiosa*, *M. cramptoni*, *M. dubia*, *M. flavolineata*, *M. fulva*, *M. mondury* e *M. paraensis*, formam um grupo conhecido como grupo

*rufiventris* (Camargo e Pedro, 2013). Todas as espécies citadas tem o nome popular de uruçum-amarela, são muito semelhantes entre si, fazendo com que sua distinção seja difícil (Melo, 2003) e apresentam distribuição em praticamente todo território nacional (Silveira et al. 2002; Melo, 2003) (Tabela 1).

Tabela 1. Representantes do grupo *rufiventris* e os respectivos estados de ocorrência no Brasil.

Espécie	Ocorrência no Brasil
<i>M. brachychaeta</i>	AC, MT e RO
<i>M. captiosa</i>	AC, AP e AM
<i>M. cramptoni</i>	RR
<i>M. dubia</i>	AC, AM e RO
<i>M. flavolineata</i>	CE, MA, PA e TO
<i>M. fulva</i>	AP, AM, PA e RR
<i>M. mondury</i>	BA, ES, MG, PR, RS, RJ, SC e SP
<i>M. paraensis</i>	AP, AM, PA
<i>M. rufiventris</i>	BA, GO, MT, MS, MG, PI, SP e TO

Mesmo com distribuição ampla, *M. rufiventris* sofreu um severo declínio populacional devido à ação predatória de meleiros e pela destruição do seu habitat já que a espécie necessita de grandes áreas para a manutenção de suas colônias e de troncos grossos para a construção de seus ninhos (Campos, 1998). As populações naturais de *M. rufiventris*, assim como sua área de ocorrência, encontram-se fragmentadas (Silveira et al. 2014) e é possível notar que a degradação ambiental afetou a densidade da espécie que não é mais encontrada em áreas impactadas (Silveira e Campos, 1995).

A efetiva conservação de espécies ameaçadas necessita de estimativas de alta precisão sobre a distribuição da espécie a ser protegida (Margules e Pressey, 2000). Sendo assim, conhecer a área de ocorrência de uma espécie é de fundamental importância para avaliar quais os fatores aumentam o risco de extinção, para avaliar o status de ameaça e também para fazer um manejo de populações com a finalidade de aumentar o número de populações da espécie. Porém, amostragens demandam muito tempo, mão de obra e recursos financeiros. Nesse cenário, a modelagem preditiva de distribuição de espécies surge como alternativa para diminuir a lacuna de conhecimento quanto às informações geográficas dos organismos em estudo (Batalha-Filho et al. 2011; Gianinni et al. 2012). Alguns modelos relacionam as espécies com as suas respectivas respostas ao meio em que vivem, gerando, previsões dos locais mais prováveis para a ocorrência de uma determinada espécie, conseguindo determinar

regiões potenciais para a conservação de espécies ameaçadas (Araújo e Williams, 2000; Engler et al. 2004). Por meio desses modelos também é possível determinar os melhores locais para a reintrodução de espécies (Hirzel et al. 2002).

Considerando todas as dificuldades de amostragem de espécies, especialmente as ameaçadas de extinção, este capítulo busca estimar e conhecer algumas características da área de distribuição de *M. rufiventris* assim como alguns aspectos da história natural da espécie.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Dados bióticos**

Os dados bióticos (registros de presença da espécie) foram obtidos através de revisões bibliográficas, bancos de dados informatizados, como o speciesLink (<http://splink.cria.org.br>) e o Global Biodiversity Information Facility (GBIF), visitas às coleções entomológicas: Coleção da Universidade Federal de Minas Gerais e Coleção da Universidade Federal de Viçosa, observações de outros pesquisadores e coleta ativa (Tabela 1 do anexo). As coordenadas provenientes de espécimes obtidos mediante coleta ativa foram obtidas com auxílio de um GPS Garmim® GPSMAP76CSX.

Para que os pontos obtidos em coleções fossem referentes apenas à *M. rufiventris* foi utilizada uma chave dicotômica para as espécies de *Melipona* com ocorrência no estado de Minas Gerais disponível em Obiols (2008).

É importante ressaltar que os registros obtidos não representam toda área de ocorrência possível de *M. rufiventris*. Entretanto, o número de pontos da base de dados compilada é suficiente para o propósito deste estudo.

A localização dos dados bióticos foi verificada por meio do *Google Maps*, do software *Google Earth* versão 7.1, e de ferramentas do speciesLink (geoLoc e info XY). Foi definido um padrão para as coordenadas geográficas no sistema XY e o *datum* usado foi o WGS84. A conversão de coordenadas, quando necessária, foi feita usando uma calculadora de conversão, disponível site do INPE.

Durante o processamento dos dados, os pontos de ocorrência duvidosos, com localidade incompleta ou incerta, com coordenadas repetidas ou *outliers* foram excluídos da pesquisa.

### 3.2. Confeção dos mapas

Os mapas foram confeccionados utilizando o software QGIS v2.14 e os *shapefiles*, obtidos em plataformas virtuais, utilizados foram: (1) unidades de conservação; (2) áreas prioritárias para conservação de invertebrados no estado de Minas Gerais; (3) remanescentes do Cerrado; (4) biomas do Brasil; (5) limites físicos dos municípios e estados brasileiros; (6) áreas prioritárias para conservação no Brasil; (7) principais bacias hidrográficas.

### 3.3. Modelagem preditiva de distribuição de *M. rufiventris*

#### 3.3.1. Variáveis preditoras

As variáveis ambientais utilizadas para a modelagem geográfica das áreas de ocorrência atual de *M. rufiventris* foram selecionadas dentre as 19 camadas bioclimáticas disponíveis no banco de dados WorldClim (versão 1.4) <<http://www.worldclim.org/>> (Hijmans et al. 2005), baixadas em uma resolução de 2,5 minutos de arco ( $\approx 0,041^\circ$  nos trópicos) para a América do Sul (Tabela 2). A camada de altitude foi obtida como dito para as camadas ambientais. Essas variáveis representam as tendências anuais, sazonalidade e fatores ambientais extremos ou limitantes.

As variáveis colineares foram reduzidas usando uma Análise de Componentes Principais (PCA), derivando 19 novas variáveis ortogonais (componentes principais – PCs – daqui em diante). Foram utilizados os quatro primeiros PCs, que representam 99,08% de todas as variações climáticas e altitudinais originais, como camadas preditoras finais. Esse método de seleção de preditores foi utilizado uma vez que não existe informação disponível sobre quais variáveis abióticas são ditas como principais determinantes para a história de vida e a distribuição geográfica de *M. rufiventris*.

Tabela 2. Variáveis bioclimáticas iniciais utilizadas para a elaboração do modelo de predição de distribuição geográfica de *M. rufiventris*.

<b>Variáveis bioclimáticas</b>			
Derivadas de temperatura		Derivadas de precipitação	
Código	Descrição	Código	Descrição
bio1	Temperatura média anual	bio12	Precipitação anual
bio2	Faixa diurna média (média mensal (temp max - temp min))	bio13	Precipitação do mês mais úmido
	Isotermalidade (bio2/bio7) (*100)		Precipitação do mês mais seco
bio3		bio14	

bio4	Sazonalidade da temperatura (desvio padrão *100)	bio15	Sazonalidade de precipitação (coeficiente de variação)
bio5	Temperatura máxima do mês mais quente	bio16	Precipitação do trimestre mais úmido
bio6	Temperatura mínima do mês mais frio	bio17	Precipitação do trimestre mais seco
bio7	Faixa de temperatura anual (bio5-bio6)	bio18	Precipitação do trimestre mais quente
bio8	Temperatura média do trimestre mais úmido	bio19	Precipitação do trimestre mais frio
bio9	Temperatura média do trimestre mais seco		
bio10	Temperatura média do trimestre mais quente		
bio11	Temperatura média do trimestre mais frio		

---

### 3.3.2. Calibração e avaliação do modelo

Os procedimentos de modelagem foram realizados com o pacote biomod2 versão 3.3-7 (Thuiller et al. 2009; 2016) implementado na versão R 3.3.2 (R Core Team 2016). Foram utilizados três algoritmos de modelagem representando as três “famílias” dos métodos de modelagem de nicho ecológico (Ecological Niche Modeling - ENM) atualmente disponíveis (Rangel e Loyola, 2012): (1) Bioclim (Busby, 1991; Nix, 1986); (2) Modelos Lineares Generalizados – GLM (Guisa et al. 2002) e (3) Máxima entropia – MaxEnt (Phillips et al. 2006). O algoritmo Bioclim funciona apenas com dados de presença da espécie, selecionando todas as localidades ambientalmente adequadas abrangidas por um “envelope” delimitado pelos valores extremos das variáveis preditoras obtidas a partir do conjunto de dados da ocorrência da espécie (Busby, 1991; Nix, 1986). Modelos lineares generalizados (GLM) são extensões dos modelos lineares clássicos que podem lidar com distribuições de erros que não seguem normalidade da variável resposta (Franklin, 2010; Rangel e Loyola, 2012). O GLM estima as áreas adequadas ao ajustar uma função que descreve a relação entre presença/ausência da espécie e de seus preditores (Franklin, 2010; Rangel e Loyola, 2012). Como não existem dados confiáveis de ausência de *M. rufiventris* e os mesmos são escassos para as espécies tropicais, na calibração do modelo são usadas dados de ausência simulada (conhecidos como pseudo-ausência) (Chefaoui e Lobo, 2008; Franklin, 2010). O algoritmo MaxEnt é um método de aprendizagem mecânica baseado no princípio de entropia máxima (Phillips et al. 2006). Ele estima a distribuição mais uniforme (= entropia máxima) em toda a área de estudo, desde que o valor esperado de cada variável preditora sob esta distribuição

estimada corresponda à sua média empírica (Phillips et al. 2006). O MaxEnt também requer dados de presença e de ausência (ou pseudo-ausência) (Franklin, 2010; Phillips et al. 2006).

Os modelos foram realizados usando os parâmetros padrão dos algoritmos (ver Thuiller et al. 2016), exceto o número de interações de MaxEnt estabelecidas em 500 (Pearson et al. 2007). Foram executadas 10 repetições dos modelos de cada algoritmo, usando 70% dos dados de ocorrência para treinamento e 30% para testar os modelos, selecionando ocorrências por validação cruzada (Fielding e Bell, 1997; Franklin, 2010). Cada repetição do modelo foi executada usando 10 pseudo-ausências selecionadas aleatoriamente por registro de ocorrência (Chefaoui e Lobo, 2008; Giovanelli et al. 2010). Com a finalidade de avaliar as réplicas dos modelos foi utilizada a curva ROC (Característica Operacional do Receptor) (Fielding e Bell, 1997; Franklin, 2010). A área sob a curva ROC (AUC) se apresenta como um único valor que representa o desempenho preditivo do modelo. A AUC varia de 0,5 a 1,0 sendo que uma predição aleatória produz AUC de 0,5, e os valores mais próximos de 1,0 indicam as melhores predições (Fielding e Bell, 1997; Phillips et al. 2006).

Como os diferentes algoritmos de modelagem produzem diferentes representações da distribuição potencial de uma espécie (Araujo e New, 2007; Diniz-Filho et al. 2009), foi extraída a média entre todas as réplicas de modelo com  $AUC > 0,7$ , usando a opção “todos” da função “BIOMOD\_Ensemble Modeling” (Thuiller et al. 2016). Este procedimento resultou em uma produção contínua de adequação ambiental, representando um modelo consenso. O modelo consenso foi avaliado aplicando o True Skilled Statistic (TSS) (Allouche et al. 2006). O TSS é uma estatística dependente do limiar que varia de -1 a +1, onde os valores negativos ou próximos de zero correspondem a modelos que são piores do que uma distribuição aleatória, enquanto os valores próximos de +1 representam um acordo perfeito entre as distribuições observadas e modeladas (Allouche et al. 2006). Os modelos aceitáveis atingem um TSS mínimo de 0,5 e os modelos excelentes tem um valor de TSS mínimo de 0,7 (Allouche et al. 2006). O procedimento do modelo de conjunto no biomod2 retorna um valor limiar de adequação que leva ao melhor resultado para uma métrica de avaliação dada (Thuiller et al. 2016), embora permitindo uma taxa de omissão, ao contrário do “limiar inferior de presença” comumente usado (Pearson et al. 2007). No presente trabalho foi usado o limiar de TSS para permitir transformações binárias dos resultados consenso contínuo, produzindo as representações finais das distribuições potenciais de *M. rufiventris*.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **4.1. Distribuição geográfica de *M. rufiventris***

Foram registrados 101 pontos de ocorrência de *M. rufiventris* em 51 cidades do Cerrado brasileiro conforme apresentado na Tabela 1 do anexo. Nesse estudo todas as informações de coleta ou registros de ninho, naturais ou não, foram consideradas como parte da distribuição atual da espécie. Dentre os pontos coletados para esse estudo se encontram amostras nativas e também amostras que foram coletadas na natureza e são mantidas por criadores da região. Considerando que a maioria dos pontos foi obtida a partir de revisão bibliográfica, não é possível definir se os mesmos são oriundos de colônias nativas ou se foram manejadas por meliponicultores. Assim como alerta Resende (2012), mesmo os ninhos encontrados em áreas de vegetação nativa não indicam ocorrência natural da espécie, já que eles podem ser resultados do processo de enxameamento ao ocuparem áreas nativas após terem sido introduzidos na região por meliponicultores. Dessa forma, a distribuição potencial aqui discutida, se relaciona mais com a distribuição onde a espécie pode ser manejada para fins de conservação, do que propriamente da distribuição natural de *M. rufiventris*, tendo em vista o objetivo de determinar áreas potenciais de manutenção da espécie em populações de conservação.

### **4.2. Distribuição geográfica em relação aos remanescentes do Cerrado**

Os pontos de ocorrência de *M. rufiventris* (pontos vermelhos e amarelos) obtidos com esse estudo estão localizados predominantemente na região do Cerrado que possui poucos remanescentes da cobertura vegetal original do bioma (Figura 1). As áreas mais conservadas possuem pouca ou nenhuma amostragem. Essas lacunas de amostragem são comuns, assim como Collen et al. (2008) afirmaram, há enormes lacunas na coleta de dados biológicos nos países tropicais, especialmente no Brasil e o mesmo se aplica à *M. rufiventris*.

Ao se observar a figura 1 é possível notar que os pontos de esforço amostral deste trabalho (pontos vermelhos) se encontram em áreas altamente impactadas, porém cercadas por muitos remanescentes. Essas áreas de vegetação original são regiões potenciais para abrigar populações da espécie, para tal, as mesmas necessitam ser estudadas levando em consideração as condições exigidas pela espécie em questão.

Há pontos de amostragem em áreas de transição Cerrado/Mata Atlântica, incluindo um dos pontos de coleta, porém este último é referente a cinco colônias que foram introduzidas na cidade de Florestal-MG e que não conseguiram se estabelecer no local da translocação.

A análise da figura 1 mostra uma redução na cobertura vegetal original do bioma. O que é comprovado com literatura específica da área que mostra inclusive que o desmatamento do Cerrado é impulsionado principalmente por ser o seu território um grande produtor na atual demanda por produtos agrícolas (IPEA, 2011) e biocombustíveis, procurados como alternativas para atenuar as mudanças climáticas globais (Gibbs et al. 2008). Segundo Sano et al. (2007) a vegetação remanescente do Cerrado é equivalente a 60% de sua área original. O intenso desmatamento do Cerrado coloca em risco as espécies que o tem como área de ocorrência já que a perda de habitats é considerada a maior ameaça à biodiversidade (Primack e Rodrigues, 2001).

Também é possível observar que os habitats remanescentes possuem distribuição fragmentada, o que compromete a biodiversidade, interfere na biologia das espécies e no potencial das mesmas para a conservação (Klink e Machado, 2005). Populações pequenas traz efeitos deletérios para as espécies (Primack e Rodrigues, 2001; Frankham et al. 2008). Dentre as consequências da redução da população está o aumento na frequência de acasalamentos endogâmicos (Frankham et al. 2008) o que representa mais um entrave na conservação de abelhas devido ao mecanismo genético de determinação sexual nesses indivíduos. O aumento da endogamia leva ao surgimento de machos diploides nas colônias (Kerr et al. 1996) e em *Melipona* esses machos são estéreis ou com baixa capacidade reprodutiva ou são mortos pelas operárias ao emergirem dos favos. Outro problema é que em colônias onde muitos machos diploides são produzidos as rainhas são eliminadas pelas operárias, levando à redução das populações das colônias e à sua extinção (Carvalho et al. 1995).

A diminuição e fragmentação do Cerrado compromete a área de vida de *M. rufiventris*. A baixa abundância da espécie foi relatada em algumas localidades do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte (Pompeu, 2003), Brasilândia (Damasceno, 1998) Uberlândia (Silveira, comunicação pessoal). *M. rufiventris* não foi encontrada em áreas impactadas em Paraopeba (Silveira e Campos, 1995; Silveira, comunicação pessoal) e em Bocaiúva (Silveira, comunicação pessoal). Um dos fatores que contribuem para a diminuição das populações da espécie é exatamente a perda de seu habitat (Campos, 1998).

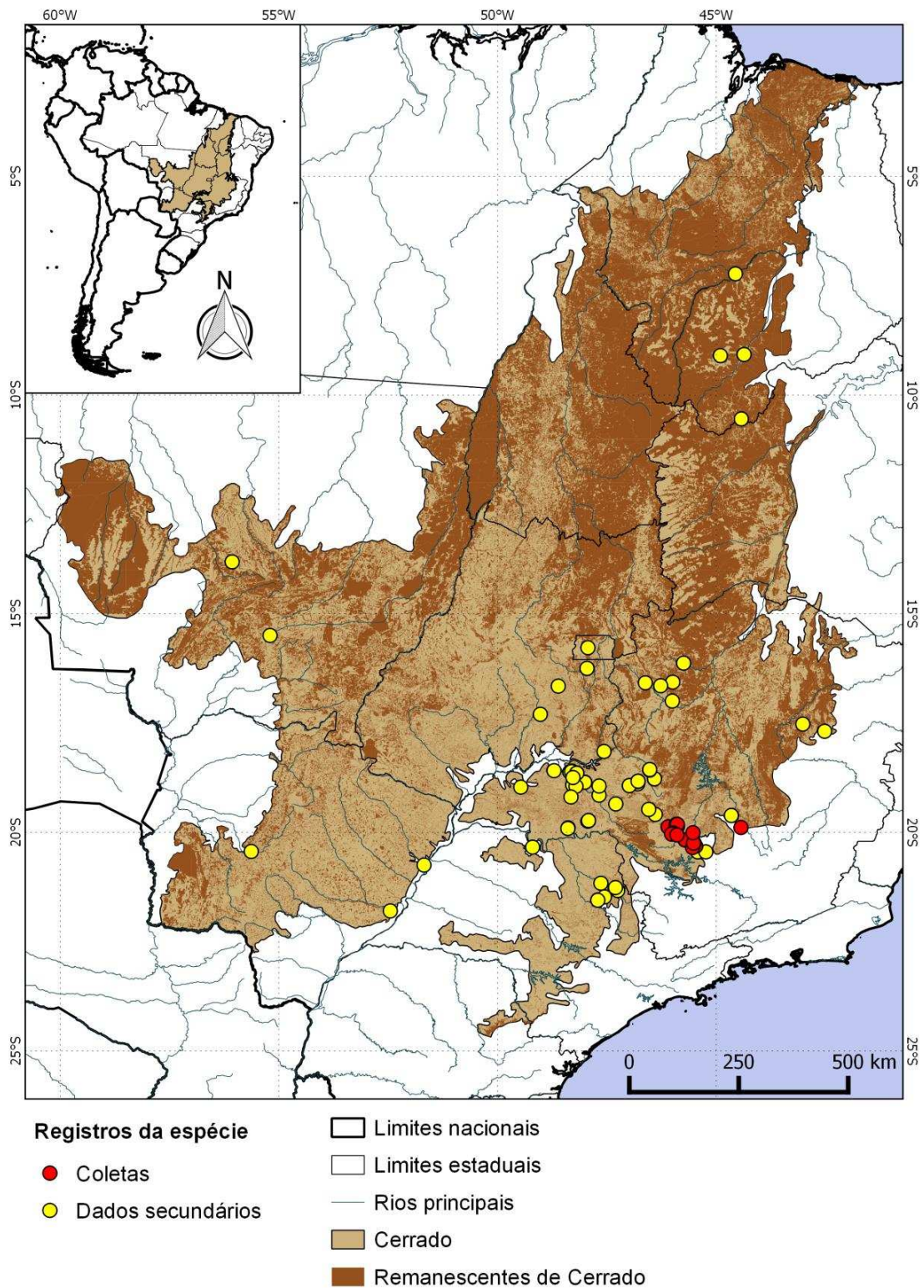


Figura 1. Mapa de delimitação do Bioma Cerrado, indicando a área original e os remanescentes deste Bioma. Os pontos amostrais indicam os locais de ocorrência natural e de manejo de colônias de *Melipona rufiventris*. Pontos em vermelho indicam locais de coleta deste trabalho e em amarelo os dados obtidos em coleções e outras fontes de referência (Tabela 1 do anexo).

### **4.3. Distribuição geográfica em relação à vegetação do Cerrado**

O Cerrado é conhecido por sua heterogeneidade, já que sua vegetação original forma um mosaico de diferentes fitofisionomias que vão desde formações savânicas a formações florestais (Ribeiro e Walter, 1998). O processo de ocupação do Cerrado que ocorre desde 1970 continua mantendo esse padrão de diferentes tipos de “vegetação”. No trabalho de Eva et al. (2004) o Cerrado aparece dividido em três classes: campos, savanas e agricultura.

A análise do mapa de tipos vegetacionais atuais do Cerrado (Figura 2) permite identificar que *M. rufiventris* ocorre em mais de um tipo de vegetação. Há predomínio dos pontos na área mais degradada do bioma, onde a vegetação natural foi convertida principalmente pela agropecuária. Segundo a estimativa realizada por Sano et al. (2007), cerca de 40% das áreas naturais do Cerrado já foram convertidas para uso humano – cultura agrícola, pastagem nativa e cultivadas, reflorestamento, área urbana e mineração.

As amostras oriundas do nordeste do Brasil estão localizadas em áreas de vegetação do tipo Savana-estépica próximas à floresta estacional semidecidual. Ao comparar o mapa de tipos de vegetação com o de remanescentes do Cerrado nota-se que os pontos localizados na região nordeste do Brasil estão nas áreas que possuem maior número de remanescentes.

Os pontos de coleta específicos deste estudo (pontos vermelhos) encontram-se em áreas degradadas com predomínio do uso do solo pela agropecuária, porém cercadas de vegetação do tipo savana, presentes nos fragmentos remanescentes da região. Essas áreas podem ser utilizadas para reintrodução/translocação de colônias da população de conservação, com o objetivo de aumentar a abundância de *M. rufiventris* em sua área de ocorrência, revertendo o quadro de declínio e garantindo a sobrevivência da espécie em longo prazo. Entende-se por reintrodução a soltura de animais de qualquer origem em uma área onde a espécie foi extinta, já a translocação é referida como a transferência de indivíduos de uma área de ocorrência natural para outra dentro da sua região de distribuição (Baker, 2002).

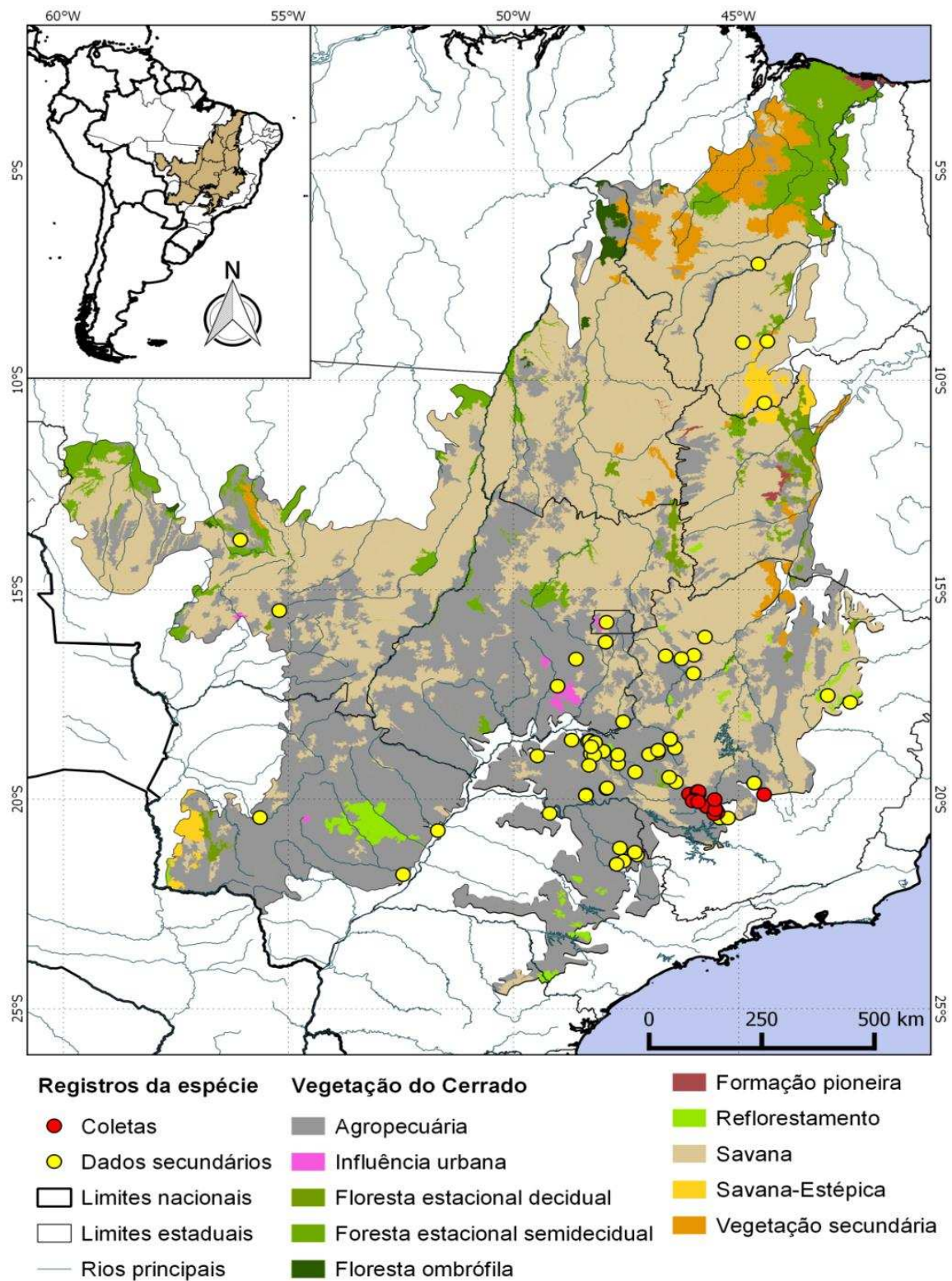


Figura 2. Mapa de tipos fitofisionômicos do Cerrado e áreas antropizadas. Os pontos amostrais indicam os locais de ocorrência natural e de manejo de colônias de *Melipona rufiventris*. Pontos em vermelho indicam locais de coleta deste trabalho e em amarelo os dados obtidos em coleções e outras fontes de referência (Tabela 1 do anexo).

#### **4.4. Distribuição geográfica em relação às unidades de conservação**

Os pontos de ocorrência de *M. rufiventris* levantados nesse trabalho são predominantemente encontrados na região com menor representatividade de Unidades de Conservação (UCs) do bioma (Figura 3). Não há uma uniformidade na distribuição das UCs ao longo do Cerrado, uma vez que a região nordeste apresenta marcada concentração de áreas preservadas por lei e as poucas UCs que estão presentes nas regiões central e sul do bioma são menores e isoladas em relação a outras unidades e também em relação aos remanescentes (Garcia et al. 2011). Essa análise indica que os locais com amostragem se encontram modificados, isto é, não representam mais áreas naturais de Cerrado, e com poucos locais protegidos, submetendo a biodiversidade dessa região a uma situação de alta vulnerabilidade.

As unidades de conservação visam à manutenção de determinadas áreas, garantindo as condições de perpetuação das espécies nelas existentes (IUCN, 2014), mas apenas 7,7% do bioma é legalmente protegido (Oliveira et al. 2017) desse total, uma pequena parte é de proteção integral o que permitiu que Garcia et al. (2011) afirmassem que o Cerrado é bioma que possui a menor porcentagem de área sob Proteção Integral.

Os pontos de coleta (pontos vermelhos) foram estrategicamente arranjados na adjacência de uma unidade de conservação do tipo Proteção Integral, o Parque Nacional da Serra da Canastra, com a finalidade de buscar indícios que permitam concluir se essa unidade de conservação é um local potencial para receber colônias de população de conservação por meio de translocação de colônias.

Ao longo de toda distribuição de *M. rufiventris* se nota a presença de possíveis áreas para reintrodução/translocação de colônias são elas as atuais unidades de conservação do tipo proteção integral, já que são protegidas por lei e o esperado é que as mesmas se mantenham com vegetação original por um período de tempo mais longo garantindo a manutenção da espécie.

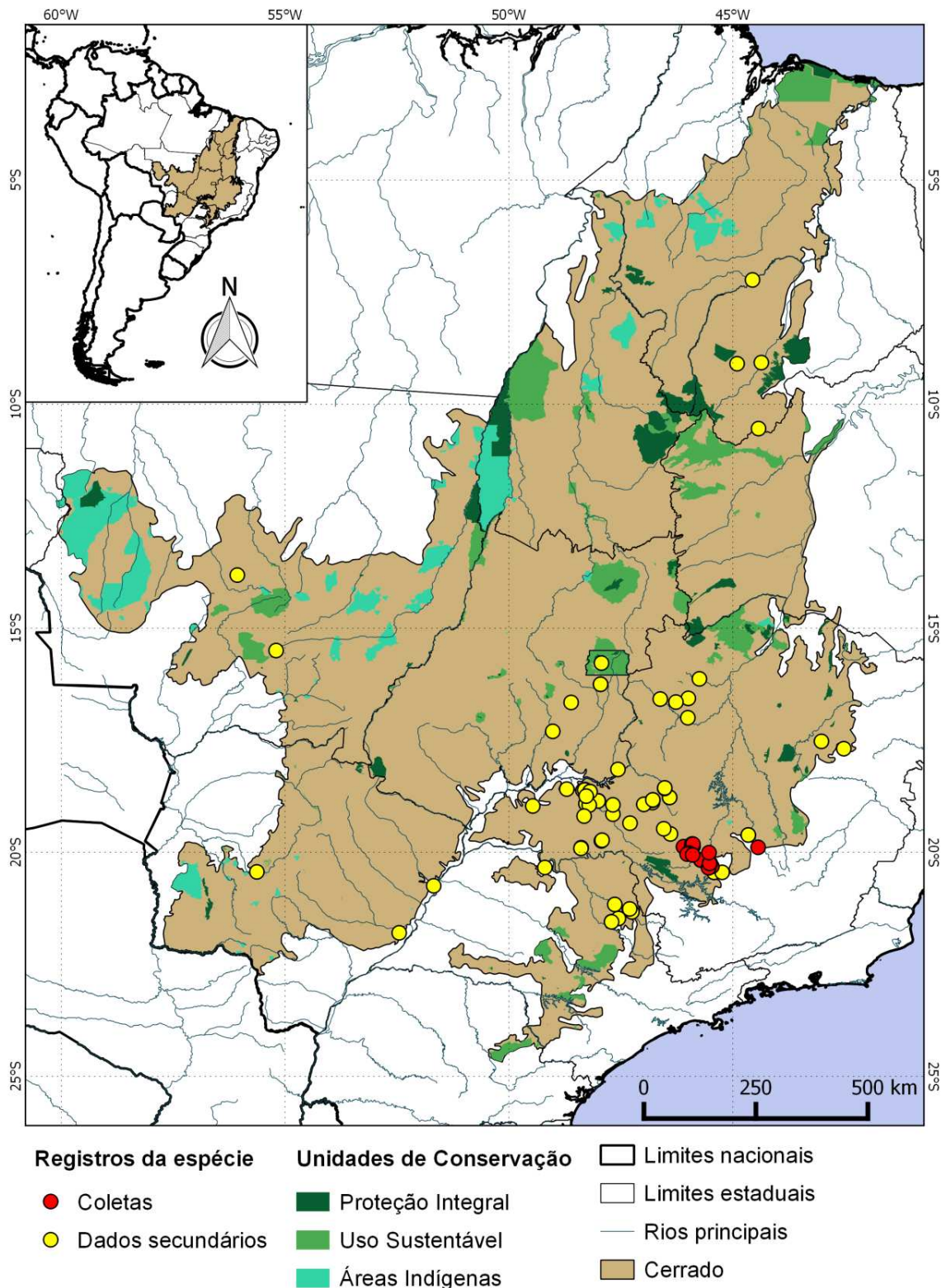


Figura 3. Mapa indicando as Unidades de Conservação no Bioma Cerrado. Os pontos amostrais indicam os locais de ocorrência natural e de manejo de colônias de *Melipona rufiventris*. Pontos em vermelho indicam locais de coleta deste trabalho e em amarelo os dados obtidos em coleções e outras fontes de referência (Tabela 1 do anexo).

#### **4.5. Distribuição geográfica em relação às áreas prioritárias para a conservação**

Os pontos referentes ao esforço amostral realizado para esse estudo (pontos vermelhos) estão concentrados em área de prioridade muito alta para a conservação e cercados por áreas enquadradas na categoria mais alta de prioridade, com exceção de um único ponto que representa cinco colônias introduzidas na cidade de Florestal-MG (Figura 4). A mancha vermelha adjacente aos pontos vermelhos é o Parque Nacional Serra da Canastra, que quando comparado com o mapa de Unidades de Conservação (UCs) presentes no Cerrado (figura 3), nota-se que a extensão da área prioritária é maior do que a da UC, indicando que os arredores da Serra da Canastra devem ser protegidos, aumentando a área do parque e consequentemente o seu potencial de proteção da biodiversidade.

Há pontos secundários (círculos amarelos no mapa) próximos a áreas com diferentes graus de prioridade, mas a maioria deles está em localidades que não se enquadram em nenhuma das categorias, pois já foram degradadas e não mais apresentam o que é necessário para exercer a função de conservação. Comparando o mapa presente na figura 4 com o mapa presente no estudo de Sano et al. (2008) é possível notar que a região com maior concentração de pontos amarelos corresponde à áreas de pastagem cultivada. Na região nordeste, três pontos estão localizados em regiões que não são suficientemente conhecidas, talvez devido ao relevo acidentado da região dificultando a classificação da área.

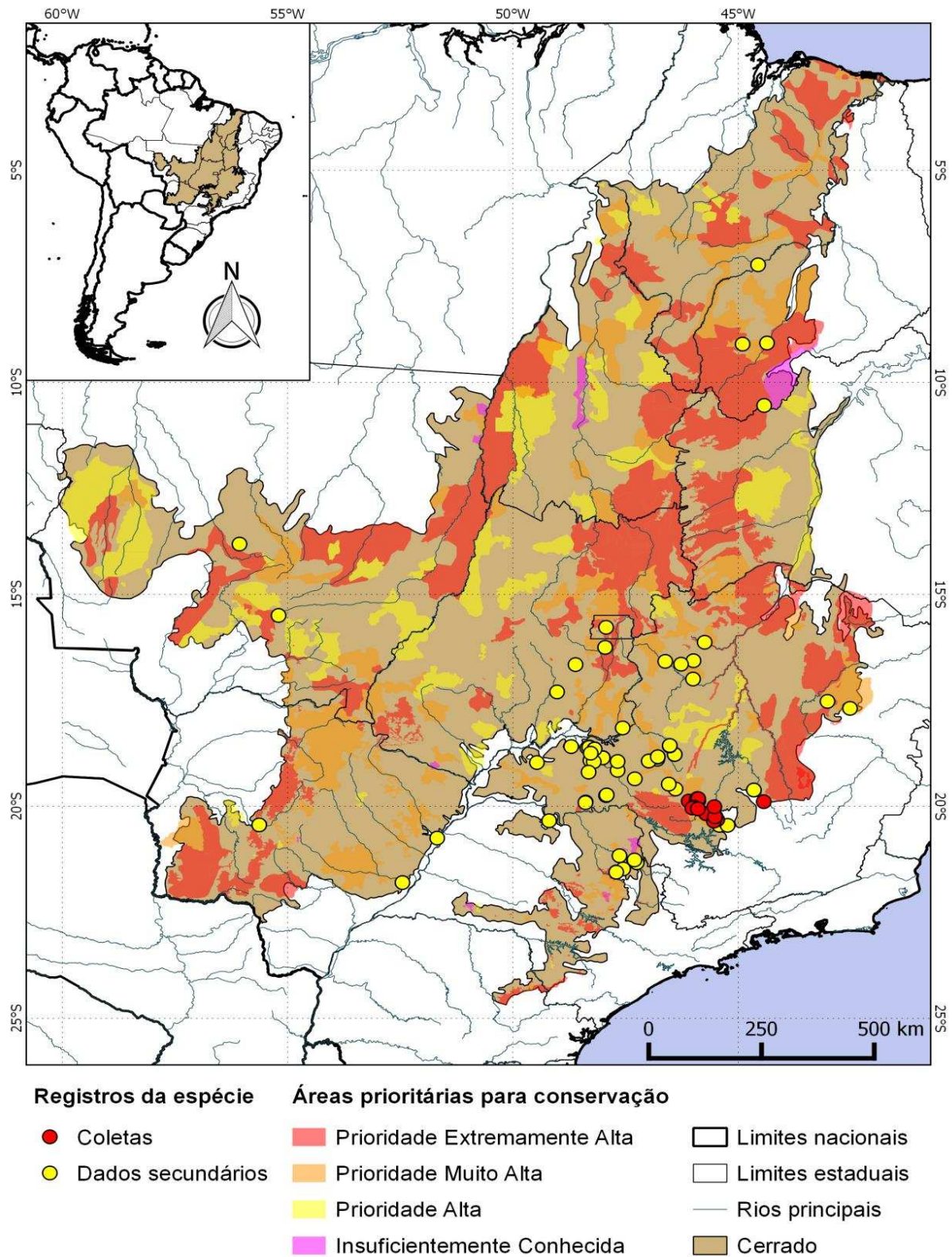


Figura 4. Mapa indicando as Áreas Prioritárias para a Conservação no Bioma Cerrado. Os pontos amostrais indicam os locais de ocorrência natural e de manejo de colônias de *Melipona rufiventris*. Pontos em vermelho indicam locais de coleta deste trabalho e em amarelo os dados obtidos em coleções e outras fontes de referência (Tabela 1 do anexo).

#### **4.6. Distribuição geográfica em relação às áreas prioritárias para a conservação de invertebrados em Minas Gerais**

Os pontos compilados para esse estudo (pontos vermelhos) incidem sobre uma área de prioridade especial para conservação de invertebrados no estado de Minas Gerais e próximos a uma área de prioridade alta, coincidente com a área do Parque Nacional Serra da Canastra (Figura 5). A maioria dos pontos de ocorrência de *M. rufiventris* dentro dos limites do estado de Minas Gerais, está em áreas onde não tem estimativas de áreas prioritárias para conservação de Invertebrados. Isso pode ser justificado por ser essa área a mais antropizada do estado.

A região de concentração de pontos vermelhos é considerada como sendo de prioridade especial, pois nela estão localizadas cavernas (Província Cárstica Arcos/ Pains/ Doresópolis) e para a classificação das áreas prioritárias, as localidades que possuem cavernas recebem destaque por formarem um ecossistema altamente ameaçado. As pressões antrópicas existentes nessa área são mineração, desmatamento, queimadas e agropecuária. As recomendações para a conservação da área são baseadas em inventários, elaboração de plano de manejo e a criação de uma Unidade de Conservação (Drummond et al. 2005).

Segundo Drummond et al. (2005) a área que corresponde ao esforço amostral desse trabalho foi indicada como de prioridade especial por possuir uma espécie de besouro troglóbio, *Coarazuphium pains* (Coleoptera: Carabidae), de distribuição restrita à área e riqueza de espécies endêmicas, raras ou ameaçadas no Estado.

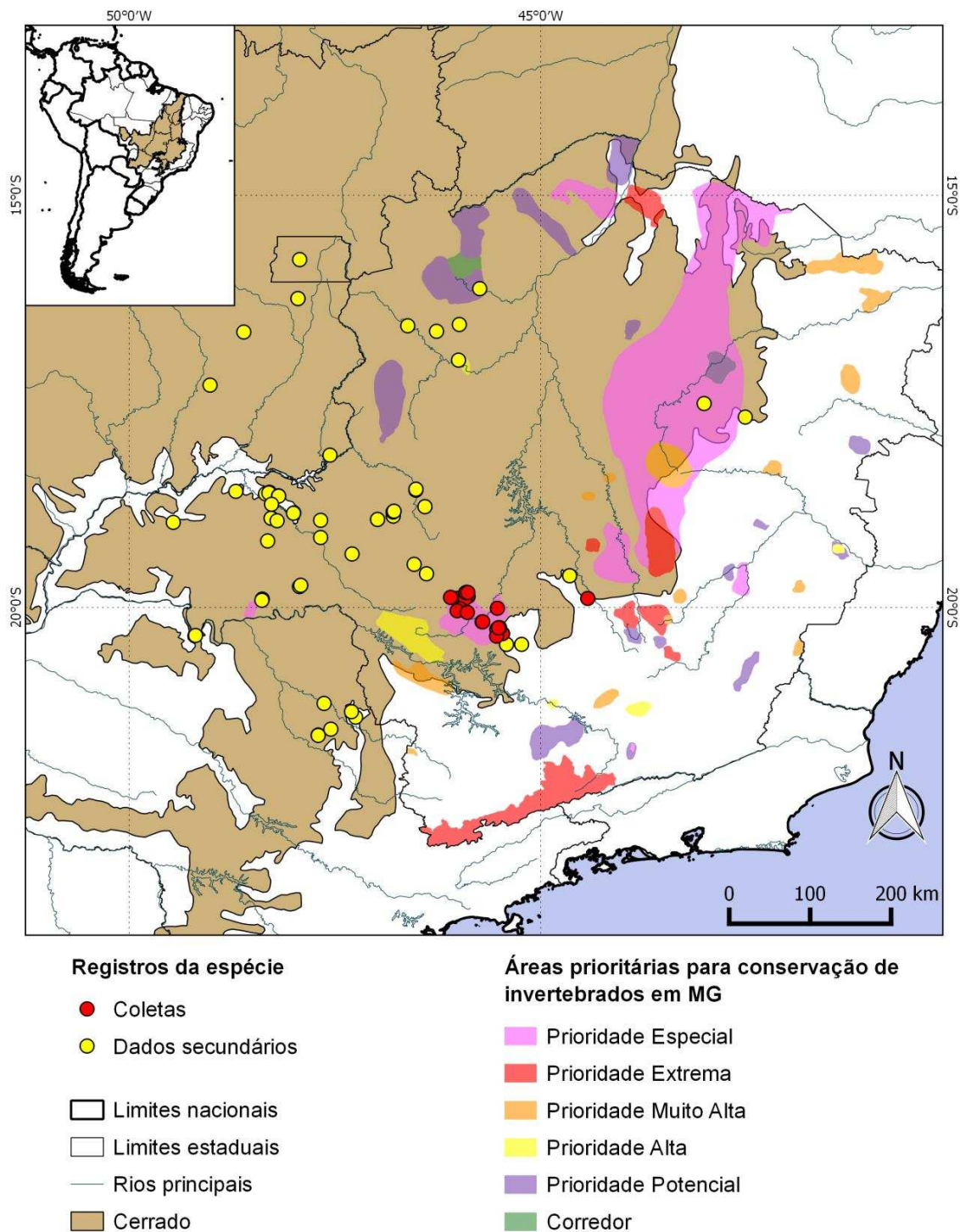


Figura 5. Mapa indicando as áreas prioritárias para a conservação da fauna de invertebrados no estado de Minas Gerais. Os pontos amostrais indicam os locais de ocorrência natural e de manejo de colônias de *Melipona rufiventris*. Pontos em vermelho indicam locais de coleta deste trabalho e em amarelo os dados obtidos em coleções e outras fontes de referência (Tabela 1 do anexo).

#### 4.7. Distribuição potencial de *M. rufiventris*

As figuras 6 e 7 mostram modelos de distribuição atual de *M. rufiventris*. A figura 6 representa o modelo binário que fornece a predição da distribuição geográfica da espécie, essa área predita é representada pela cor verde. Já a figura 7 mostra o modelo contínuo de distribuição de *M. rufiventris*, a cor verde representa a área em que potencialmente a espécie pode ocorrer em decorrência da adequação climática da região. Os diferentes tons de verde mostram a gradação das regiões mais adequadas ou menos adequadas para a ocorrência da espécie, quanto mais intenso o tom de verde, maior é a adequação climática do local.

O modelo foi testado quanto à sua acurácia e apresentou um ótimo desempenho. A área sob a curva ROC (AUC) indicou boa habilidade de discriminação do modelo, com média de 0,977, esse valor indica bom desempenho preditivo do modelo já que está muito próximo ao valor máximo da estatística que é 1,0. De acordo com Elith et al. (2006) bons modelos apresentam valores de AUC maiores que 0,75. A AUC é um indicador direto da capacidade discriminatória do modelo e representa a probabilidade de um ponto, seja de presença ou ausência, ter sido classificado de forma correta no modelo (Phillips et al. 2006). O uso da AUC é muito recomendado com a finalidade de medir a acurácia de distribuição de espécies (Manel et al. 2001; McPherson et al. 2004). A estatística TSS teve um alto valor médio, atingindo 0,843 confirmando a acurácia do modelo consenso. O limiar de corte para a obtenção do modelo binário de presença/ausência foi determinado pelo valor médio de TSS, que foi 328. Esse valor representa o limiar de adequabilidade distinguindo as áreas onde o modelo prevê a ocorrência ou ausência de *M. rufiventris*.

Após a confecção do modelo binário oito pontos não atingiram o limiar de TSS e foram previstos como ausência de *M. rufiventris*. São eles os pontos identificados na tabela 1 do anexo como ID 18, 23, 28, 38, 70, 71, 99, 101. Desses oito pontos, quatro são de indivíduos oriundos do estado do Piauí, três do estado de Mato Grosso do Sul e o último se encontra localizado no estado do Mato Grosso. Com a análise dos mapas dispostos nas figuras 6 e 7 fica evidente que estes pontos se encontram distante da grande maioria dos pontos amostrais e a omissão destes pontos no modelo preditivo é resultado da heterogeneidade das condições abióticas do Cerrado. Essa heterogeneidade, faz com que diferentes localidades, mesmo sendo pertencentes ao domínio do Cerrado, apresentem características muito diferentes entre si fazendo com o modelo não indique todo o bioma como sendo distribuição potencial da espécie. Devido ao alto valor das estatísticas conclui-se que nas localidades representadas por

esses pontos não há ocorrência natural de *M. rufiventris* já que não apresentam adequabilidade ambiental para tal feito. Como esses pontos foram obtidos à partir de revisão bibliográfica ou com auxílio de outros pesquisadores não é possível ter certeza que os espécimes são realmente pertencentes à *M. rufiventris* ou são populações da espécie porém mantidas por criadores.

Lobo e Tognelli (2011) chamam a atenção para o fato de que dados de coleções biológicas podem apresentar limitações devido à imprecisão da informação fornecida sobre os indivíduos ou na eleição das áreas de amostragem que, geralmente privilegia locais de fácil acesso e com baixo custo financeiro. Entretanto, o uso desse tipo de dado é justificado com a carência de levantamentos sistemáticos e da demanda crescente por estimativas de distribuições potenciais, principalmente devido às alterações climáticas (Giannini et al. 2012).

Os resultados apresentados nas figuras 6 e 7 demonstram uma distribuição geográfica de *M. rufiventris* que extrapolou os limites do bioma Cerrado em direção à Mata Atlântica, apesar de todos os registros obtidos estivessem dentro do Cerrado e embora a espécie seja reconhecida como pertencente ao mesmo (Melo, 2003; Camargo e Pedro, 2013). Essa análise chama atenção visto que mesmo sendo relativamente alto o número de pontos de ocorrência de *M. rufiventris* utilizados neste estudo, os mesmos não abrangeram toda sua área de ocorrência. Logo esse deslocamento pode ter relação com o fato de que para a confecção do modelo foram utilizadas camadas ambientais e de altitude, sem levar em consideração camadas bióticas, como o tipo de vegetação presente nos ambientes, logo, em qualquer área com clima e altitude semelhantes ao “padrão” conhecido para a espécie será considerada como área potencial de ocorrência de *M. rufiventris* no modelo.

O deslocamento da área potencial de ocorrência de *M. rufiventris* para o interior da Mata Atlântica pode também ser explicado considerando que mediante as mudanças climáticas globais ou pela influência histórica de biomas florestais em áreas de Cerrado, algumas localidades onde *M. rufiventris* ocorre no Cerrado tenham semelhança climática com algumas áreas de Mata Atlântica, logo o modelo projeta uma adequabilidade climática da espécie dentro de regiões do bioma florestal. Verificar uma possível aclimatação de *M. rufiventris* em áreas de Mata Atlântica pode ajudar a aumentar áreas potenciais para o manejo da espécie. De fato, esta parece ser a hipótese mais plausível já que há relatos de meliponicultores que conseguem manter colônias viáveis de *M. rufiventris* no Rio de Janeiro e na região de Mata de São Paulo.

Outro ponto chama atenção ao analisar a figura 7. Ao mesmo tempo que a espécie mostrou ter uma área ampla de ocorrência, também visto na figura 6, as áreas de maior adequação climática são as áreas mais impactadas pela agropecuária já não sendo provável o estabelecimento de populações nessa região. O primeiro requisito para eleger uma localidade como sendo propícia a receber populações de espécies ameaçadas é a qualidade do habitat (IUCN, 2014) logo, dentro da área potencial da espécie as que possuem maior probabilidade de estabelecimento de colônias não apresenta qualidade suficiente para tal feito.

Para uma efetiva conservação de *M. rufiventris* se faz necessária a formação de populações de conservação com o intuito de aumentar o número de indivíduos da espécie. Essas populações deverão ser reintroduzidas/translocadas para regiões com áreas remanescentes e para Unidades de Conservação existentes dentro nas áreas apontadas como sendo de maior adequação climática.

Analisando conjuntamente as figuras 3, 6 e 7 é possível eleger duas Unidades de Conservação do tipo proteção integral no estado de Minas Gerais que se localizam em áreas adequadas climaticamente para a espécie, são elas: Parque Nacional da Serra da Canastra e Parque Nacional Grande Sertão Veredas.



Figura 6. Modelo binário de distribuição de *Melipona rufiventris*, baseado nos dados de presença da espécie. Os pontos amostrais indicam os locais de ocorrência natural e de manejo de colônias de *Melipona rufiventris*. Pontos em vermelho indicam locais de coleta deste trabalho e em amarelo os dados obtidos em coleções e outras fontes de referência (Tabela 1 do anexo).

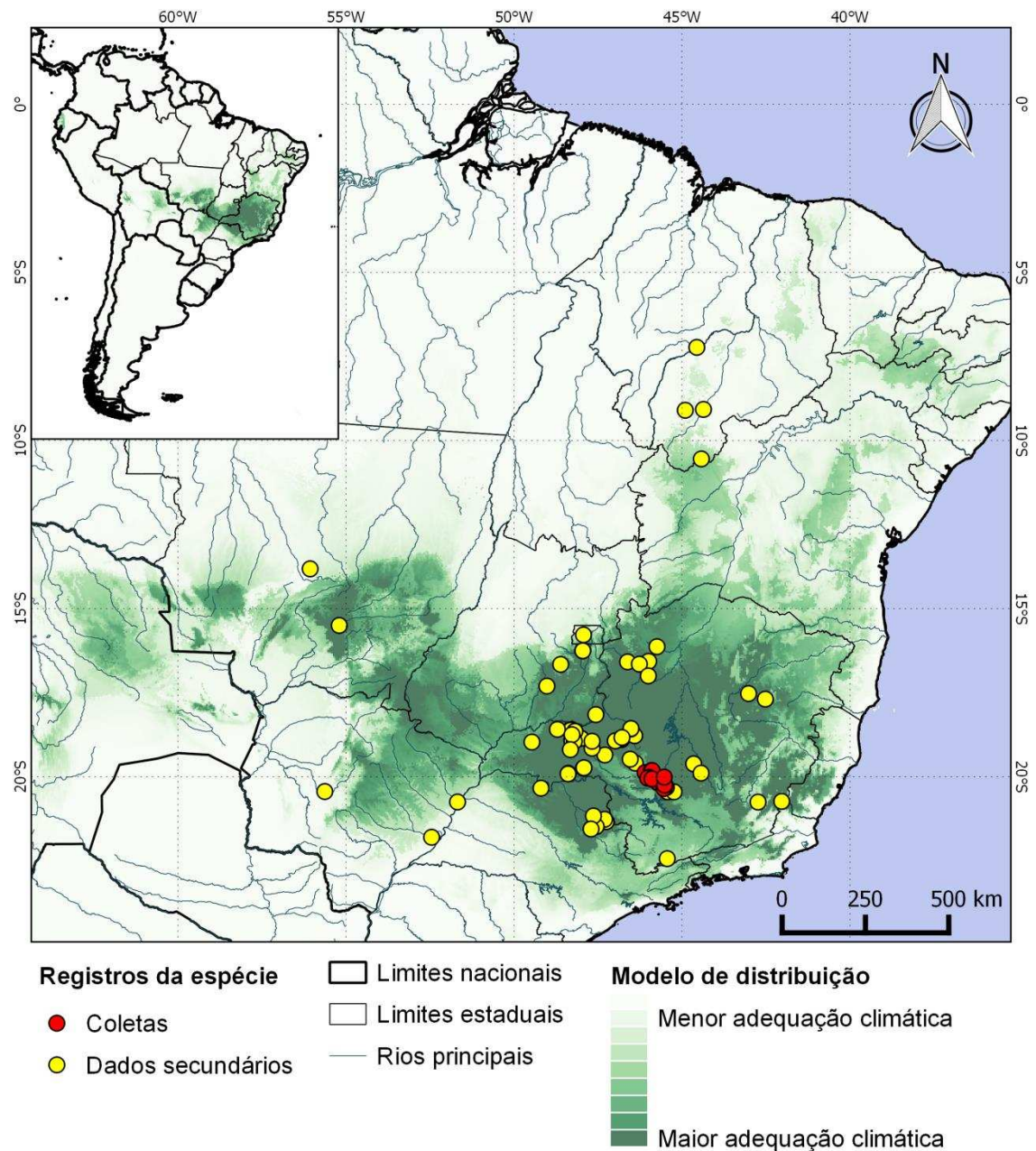


Figura 7. Mapa indicando o modelo de distribuição de *Melipona rufiventris* baseado na maior adequação climática. Os pontos amostrais indicam os locais de ocorrência natural e de manejo de colônias de *Melipona rufiventris*. Pontos em vermelho indicam locais de coleta deste trabalho e em amarelo os dados obtidos em coleções e outras fontes de referência (Tabela 1 do anexo).

## 5. CONCLUSÕES

Apesar de *M. rufiventris* ter ampla distribuição no território nacional, grande parte dessa extensão se encontra alterada devido à modificação do uso do solo, expondo a espécie ao risco de extinção.

De acordo com os valores de AUC e TSS, os modelos de distribuição potencial gerados apresentaram bom desempenho, com alto poder preditivo e alta acurácia, com resultados bem distantes dos previstos de maneira aleatória. Os mapas apresentados mostram uma adequação climática de parte da Mata Atlântica que é comprovada levando-se em consideração que meliponicultores conseguem manter colônias viáveis em regiões de Mata.

São poucas Unidades de Conservação do tipo Proteção Integral registradas na área de ocorrência de *M. rufiventris*. Apenas dois Parques Nacionais estão na área sugerida pelo modelo como sendo potencial para a ocorrência da espécie são eles o Parque Nacional da Serra da Canastra e o Parque Nacional Grande Sertão Veredas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aizen, M.A.; Garibaldi, L.A.; Cunningham, A.S.; Klein, A.M. (2009) How much does agriculture depend on pollinators? Lesson from long-term trends in crop production. *Annals of Botany*, 103: 1579-1588.
- Allouche, O.; Tsoar, A.; Kadmon, R. (2006) Assessing the accuracy of species distribution models: Prevalence, Kappa and the True Skill Statistic (TSS). *Journal of Applied Ecology*, 43: 1223-1232.
- Araujo, M.B.; New, M. (2007) Ensemble forecasting of species distributions. *Trends in Ecology e Evolution*, 22: 42–47.
- Araújo, M.B.; Williams, P.H. (2000) Selecting áreas for species persistence using occurrence data. *Biological Conservation*, 96(3): 331-345.
- Baker, L.R. (2002) Guidelines for nonhuman primate re-introductions Newsletter, Re-Introduction Specialist Group of IUCN's Species Survival Commission 21.
- Batalha-Filho, H.; Waldschmidt, A.M.; Alves, R.M.O. (2011) Distribuição potencial de abelhas sem ferrão endêmica da caatinga, *Melipona mandacaia* (Hymenoptera, Apidae). *Cruz das Almas, Magistra*, 23(3): 129-133.
- Busby, J.R. (1991) BIOCLIM – A bioclimatic analysis and prediction system. In: Margules, C.R. and Austin, M.P. (eds.) *Nature Conservation: Cost Effective Biological Surveys and Data Analysis*. CSIRO, Melbourne, p 64-68.
- Camargo, J.M.F.; Pedro, S.E.M. (2013) Meliponini Lepeletier, 1836. In: 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>. Acessado em: 02/03/2016.
- Campos, L.A.O. (1998) *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836. In: Machado, A.B.M.; Fonseca, G.A.B.; Machado, R.B.; Aguiar, L.M.S.; Lins, L.V. (eds.) *Livro vermelho das espécies ameaçadas de extinção da fauna de Minas Gerais*. Belo Horizonte, Biodiversitas. p 560-561.
- Carvalho, G.A.; Kerr, W.E.; Nascimento, V.A. (1995) Sex determination in bees XXXIII. Decrease of XO heteroalleles in a finite population of *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini). *Journal of Genetics*, 18(1): 13-16.
- Chefaoui, R.M.; Lobo, J.M. (2008) Assessing the effects of pseudo-absences on predictive distribution model performance. *Ecological Modelling*, 210: 478–486.
- Collen, B.; Ram, M.; Zamin, T.; McRae, L. (2008) The tropical biodiversity data gap: Addressing disparity in global monitoring. *Tropical Conservation Science*, 1: 75-88.
- Costa, L.M.; Nacif, P.G.S.; Costa, O.V.; Olszewski, N. (2002) Manejo dos solos da região dos Cerrados. In: Araújo, Q.R. (Org.) *500 anos de uso do solo no Brasil*. Ilhéus, BA: Editus.
- Damasceno, A.G. (1998) Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) visitantes das inflorescências de sucupira-branca, *Pterodon emarginatus* Vogel (Leguminosae: Papilionoideae) e do Barú,

*Dipteyx alata* Vogel (Leguminosae: Papilionoideae) em áreas de Cerrado em Brasilândia de Minas-MG. Dissertação. Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG.

Diniz-Filho, J.A.F.; Bini, L.M.; Rangel, T.F.; Loyola, R.D.; Hof, C.; Nogués-Bravo, D.; Araújo, M.B. (2009) Partitioning and mapping uncertainties in ensembles of forecasts of species turnover under climate change. *Ecography*, 32: 897–906.

Drummond, G.M.; Martins, C.S.; Machado, A.B.M.; Sebaio, F.A.; Antonini, Y. (2005) Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para a sua conservação. 2ªed. Fundação Biodiversitas. 222p.

Elith, J.; Graham, C.H.; Anderson, R.P.; Dudík, M.; Ferrier, S.; Guisan, A.; Hijmans, R.J.; Huettmann, F. (2006) Novel methods improve prediction of species? Distributions from occurrence data. *Ecography*, 29(2): 129-151.

Engler, R.; Guisan, A.; Rechsteiner, L. (2004) Na improved approach for predicting the distribution of rara and endangered species from occurrence and pseudo-absence data. *Journal of Applied Ecology*, 41(2): 263-274.

Eva, H.D.; Belward, A.S.; De Miranda, E.E.; Di Bella, C.; Gond, V.; Huber, O.; Jones, S.; Sgrnzaroli, M.; Fritz, S.A. (2004) A land cover map of South America. *Global Change Biology*, 10: 731-744.

Fielding, A.H.; Bell, J.F. (1997) A review of methods for the assessment of prediction erros in conservation presence/absence models. *Environmental Conservation*, 24: 38-49.

Frankham, R.; Ballou, J.D.; Briscoe, D.A. (2008) Fundamentos da Genética da Conservação. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP. 280p.

Franklin, J. (2010) Mapping species distributions – Spatial inference and prediction. Cambridge University Press, Cambridge.

Gallai, N.; Salles, J.M.; Settele, J.; Vaissière, B.E. (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68: 810-821.

Garcia, F.N.; Ferreira, L.G.; Leite, J.F. (2011) Áreas protegidas no Bioma Cerrado: fragmentos vegetacionais sob forte pressão. Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. Curitiba, PR, Brasil. INPE. p 4086-4093.

Giannini, T.C.; Siqueira, M.F.; Acosta, A.L.; Barreto, F.C.C.; Saraiva, A.M.; Alves-dos-Santos, I. (2012) Desafios atuais da modelagem preditiva de distribuição de espécies. *Rodriguésia*, 63(3): 733-749.

Gibbs, H.K.; Johnston, M.; Jonathan, A.F.; Holloway, T.; Monfreda, C.; Ramankutty, N.; Zaks, D. (2008) Carbon payback times for crop-based biofuel expansion in the tropics: the effects of chaging yield and technology. *Environmental Research Letters*, 3: 1-10.

Giovanelli, J.G.R.; Siqueira, M.F.; Haddad, C.F.B.; Alexandrino, J. (2010) Modeling a spatially restricted distribution in the Neotropics: How the size of calibration area affects the performance of five presence-only methods. *Ecological Modelling*, 221: 215–224.

- Hirzel, A.H.; Hausser, J.; Chessel, D.; Perrin, N. (2002) Ecological-niche factor analysis: how to compute habitat suitability maps without absence data? *Ecology*, 83 (7): 2027-2036.
- IPEA (2011) Código Florestal: implicações do PL 1876/99 nas áreas de reserva legal. Brasília-DF: Instituto de Pesquisas Econômicas Aplicadas. 22p.
- IUCN (2014) Diretrizes para reintroduções e outras translocações para fins de conservação. Versão 1.0. Disponível em: <[www.iucnsscrg.org](http://www.iucnsscrg.org)>
- Kerr, W.E.; Carvalho, C.A.; Nascimento, V.A. (1996) Abelha uruçú: biologia, manejo e conservação. Paracatu: Acangú.
- Klink, C.A.; Machado, R.B. (2005) Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conservation Biology*, 19: 707-713.
- Lobo, J.M.; Tognelli, M.F. (2011) Exploring the effects of quantity and location of pseudo-absences and sampling biases on the performance of distribution models with limited point occurrence data. *Journal for Nature Conservation*, 19: 1-7.
- Manel, S.; Williams, H.C.; Ormerod, S.J. (2001) Evaluating presence-absence models in ecology: the need to account for prevalence. *Journal of Applied Ecology*, 38: 921-931.
- Margules, C.R.; Pressey, R.L.; Williams, P.H. (2002) Representing biodiversity: data and procedures for identifying priority areas for conservation. *Journal of Biosciences (Suppl. 2)*, 27: 209-326.
- McPherson, J.M.; Jetz, W.; Rogers, D.J. (2004) The effects of species range sizes on the accuracy of distribution models: ecological phenomenon or statistical artifact. *Journal of Applied Ecology*, 41: 811-823.
- Melo, G.A.R. (2003) Notas sobre meliponíneos neotropicais, com descrição de três novas espécies (Hymenoptera, Apidae). In: Melo, G.A.R. e Alves-dos-Santos, I. *Apoidea Neotropical: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure*. Editora UNESC, Criciúma.
- Michener, C.D. (2007) *The bees of the world*. 2<sup>a</sup> ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Silveira, F.A.; Melo, G.A.; Almeida, E.A. (2002) *Abelhas Brasileiras. Sistemática e Identificação*. Araucária, Belo Horizonte, Brasil. 254 p.
- Mittermeier, R.A.; Myers, N.; Gil, P.R.; Mittermeier, C.G. (2000) Hotspots earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. México, CERMEX.
- Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Fonseca, G.A.B.; Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- Nix, H.A. (1986) A biogeographic analysis of Australian elapid snakes. In: Longmore, R. (Ed) *Atlas of elapid snakes of Australia*. Australian Government Publishing Service, Canberra, p 4-15.

Obiols, C.L.Y. (2008) O Gênero *Melipona* Illiger, 1806 em Minas Gerais – Identificação, Distribuição e Estado Atual da Conservação. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 117p.

Oliveira, U.; Soares-Filho, B.S.; Paglia, A.P.; Brescovit, A.D.; Carvalho, C.J.B.; Silva, D.P.; Rezende, D.T.; Leite, F.S.F.; Batista, J.A.N.; Barbosa, J.P.P.P.; Stehmann, J.R.; Ascher, J.S.; Vasconcelos, M.F.; De Marco, P.; Löwenberg-Neto, P.; Ferro, V.G.; Santos, A.J. (2017) Biodiversity conservation gaps in the Brazilian protected areas. *Scientific Reports*, 7(9141):1-9.

Ollerton, J.; Winfree, R.; Tarrant, S. (2011) How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120: 321-326.

Pearson, R.G.; Raxworthy, C.J.; Nakamura, M.; Peterson, A.T. (2007) Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, 34: 102–117.

Phillips, S.J.; Anderson, R.P.; Schapire, R.E. (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190: 231-259.

Pompeu, M.S. (2003) Aspectos bionômicos de *Melipona rufiventris* (Hymenoptera: Meliponina) e sugestões para sua conservação. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

Primack, R.B.; Rodrigues, E. (2001) *Biologia da conservação*. São Paulo: Biota Neotropica, volume 1.

QGIS Development Team, 2016. QGIS Geographic Information System. Open source geospatial foundation Project. Disponível em: <http://www.qgis.org/>

R Core Team (2016) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rangel, T.F.; Loyola, R.D. (2012) Labeling Ecological Niche Models. *Natureza e Conservação*, 10: 119-126.

Resende, H.C. (2012) Filogeografia e conservação de *Melipona capixaba* Moure e Camargo, 1994 e *Melipona scutellaris* Latreille, 1811, e biogeografia do gênero *Melipona* Illiger, 1806 (Hymenoptera: Apidae). Tese. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 140p.

Ribeiro, J.F.; Walter, B.M.T. (2008) Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: Sano, S.M.; Almeida, S.P. (ed.) *Cerrado: ambiente e flora*. Brasília, Embrapa Cerrados. p 87-166.

Sano, E.E.; Rosa, R.; Brito, J.L.; Ferreira-Junior, L.G. (2007) Mapeamento de cobertura vegetal do bioma Cerrado: estratégias e resultados. Planaltina: Embrapa Cerrados (Boletim de Pesquisa). 33p.

Sano, E.E.; Rosa, R.; Brito, J.L.S.; Ferreira, L.G. (2008) Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(1): 153-156.

Santos, M.A.; Barbieri, A.F.; Machado, C.J.; Carvalho, J.A.M. (2014) Minas Gerais e o marco inicial da ocupação do Cerrado brasileiro: o papel do estado. *Revista do Desenvolvimento Regional*, Santa Cruz do Sul, 19(1): 261-275.

Silva, J.F.; Fariñas, M.R.; Felfili, J.M.; Klink, C.A. (2006) Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerradão region on Brazil. *Journal of Biogeography*, 33: 536-548.

Silveira, F.A.; Campos, M.J.O. (1995) A melissofauna de Corumbataí (SP) e Paraopeba (MG) e uma análise da biogeografia das abelhas do Cerrado brasileiro (Hymenoptera, Apoidea). *Revista Brasileira Entomologia*. 39(2): 371-401. In: Lopes, D.M. (2004) Diversidade e estrutura genética em populações de *Melipona rufiventris* e *Melipona mondury* (Hymenoptera: Apidae) por análise de microssatélite. Dissertação. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 64p.

Silveira, F.A.; Melo, G.A.R.; Campos, L.A.O.; Pedro, S.R.M. (2014) Invertebrados terrestres – *Melipona* (*Michmelia*) *rufiventris* Lepeletier, 1836 – Tujuba. Lista de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção - ICMBio. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/porta/funabrasileira/lista-de-especies/6006-especie-6006>> Acessado em: 16/02/2016

Silveira, F.A.; Melo, G.A.; Almeida, E.A. (2002) *Abelhas Brasileiras. Sistemática e Identificação*. Araucária, Belo Horizonte, Brasil. 254 p.

Siqueira, E.L.; Martines, R.B.; Nogueira-Ferreira, F.H. (2007). Stingless bees nests (Hymenoptera, Meliponina) in a region of Araguari river, Araguari-MG. *Bioscience Journal*, 23: 38-44.

Thuiller, W.; Georges, D.; Engler, R.; Breiner, F. (2016) biomod2: Ensemble platform for species distribution modeling. *R package version 3.3-7*. Disponível em: <http://cran.r-project.org/package=biomod2> Acesso: 01/05/2017.

Thuiller, W.; Lafourcade, B.; Engler, R.; Araújo, M.B. (2009) BIOMOD - a platform for ensemble forecasting of species distributions. *Ecography*, 32: 369–373.

Werneck, F.P. (2016) Biogeografia molecular e reconstruções espaço-temporais aplicadas ao estudo da diversificação da biota da diagonal de formações abertas e zonas de transição. In: Carvalho, C.J.B.; Almeida, E.A.B. (Orgs.) *Biogeografia da América do Sul: análise de tempo, espaço e forma*. 2ªed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

## 7. ANEXOS

Tabela 1: Informações sobre os pontos de ocorrência de *Melipona rufiventris*. Localidade, coordenadas (em graus decimais) e referências.

<b>ID</b>	<b>long</b>	<b>lat</b>	<b>Localidade</b>	<b>Referência</b>
1	-48,3443611	-18,6218	Araguari, MG	Coleção Entomológica UFV
2	-48,1861	-18,6472	Araguari, MG	Coleção Entomológica UFV
3	-48,2975556	-18,6033	Araguari, MG	Coleção Entomológica UFV
4	-48,0005	-18,8542	Araguari, MG	Coleção Entomológica UFV
5	-48,304111	-18,612	Araguari, MG	Coleção Entomológica UFV
6	-48,004556	-18,8582	Araguari, MG	Coleção Entomológica UFV
7	-45,533333	-20,2667	Arcos, MG	Coleção Entomológica UFV
8	-45,981667	-19,9558	Córrego Dantas, MG	Coleção Entomológica UFV
9	-45,416667	-20,45	Formiga, MG	Coleção Entomológica UFV
10	-46,783333	-18,8333	Guimarânia, MG	Coleção Entomológica UFV
11	-46,793	-18,8934	Guimarânia, MG	Coleção Entomológica UFV
12	-46,7939833	-18,8407	Guimarânia, MG	Coleção Entomológica UFV
13	-46,516667	-18,5667	Patos de Minas, MG	Coleção Entomológica UFV
14	-46,9833333	-18,9333	Patrocínio, MG	Coleção Entomológica UFV
15	-44,65	-19,6167	Pequi, MG	Coleção Entomológica UFV
16	-47,9166667	-19,7333	Uberaba, MG	Tavares et al. 2007
17	-48,277	-18,919	Uberlândia, MG	Dias (2008)
18	-44,583333	-8,95	Bom Jesus, PI	Coleção Entomológica USP
19	-52,25	-15,8833	Barra do Garça, MT	species link
20	-55,2	-15,5	Serra de São Vicente, MT	species link
21	-47,25	-21,3333	Cajuru, SP	species link
22	-47,3	-21,2667	Cajuru, SP	species link
23	-55,63	-20,44	Aquidauana, MS	species link
24	-48,383333	-19,9	Aquidauana, MS	species link
25	-47,7044	-21,55	Estação Ecológica de Jataí, Luís Antônio, SP	species link
26	-47,5508	-21,4792	São Simão, SP	species link
27	-45,99	-16,5675	Bonfinópolis de Minas, MG	species link
28	-56,066667	-13,8167	Nova Mutum, MT	species link
29	-47,9503	-16,2525	Luziania, GO	species link
30	-46,616667	-16,5833	Unaí, MG	species link
31	-49,195	-20,3417	icém, SP	species link
32	-49,465	-18,9689	Ituiutaba, MG	species link
34	-46,4075	-18,7786	Lagoa Formosa, MG	species link
35	-47,950278	-16,2525	Luziania, GO	species link
36	-49,01842	-17,3035	Piracanjuba, GO	species link
37	-47,633333	-21,1667	Ribeirão Preto, SP	species link
38	-44,9	-9,1	Bom Jesus, PI	Coleção Entomológica USP
39	-48,608056	-16,6589	Silvania, GO	species link
40	-48,705	-18,5922	Tupaciguara, MG	species link

41	-48,272222	-18,9186	Uberlandia, MG	species link
42	-43,0158333	-17,5269	Carbonita, MG	Coleção Entomológica UFV
43	-42,5158333	-17,6914	Capelinha, MG	Coleção Entomológica UFV
44	-48,1872	-18,6472	Araguari, MG	Pires (2010)
45	-47,9297	-15,7797	Brasília, DF	Pires (2010)
46	-46,7931	-18,8439	Guimarânia, MG	Lopes 2008
47	-47,9503	-16,2525	Luziania, GO	species link
48	-46,5181	-18,5789	Patos de Minas, MG	Pires (2010)
49	-47,9319	-19,7483	Uberaba, MG	Pires (2010)
50	-46,9833333	-18,9333	Patrocínio, MG	Tavares et al. 2007
51	-45,5333333	-20,2667	Arcos, MG	Tavares et al. 2007
52	-45,9044	-19,8236	Córrego Dantas, MG	Lopes 2008
53	-45,9	-19,8167	Córrego Dantas, MG	Tavares et al. 2007
54	-44,65	-19,6167	Pequi, MG	Tavares et al. 2007
55	-45,4166667	-20,45	Formiga, MG	Tavares et al. 2007
56	-46,2666667	-16,65	Dom Bosco, MG	Tavares et al. 2007
57	-46	-17	Brasilândia de Minas, MG	Tavares et al. 2007
58	-46,5166667	-18,5667	Patos de Minas,	Tavares et al. 2007
59	-46,7833333	-18,8333	Guimarânia, MG	Tavares et al. 2007
60	-47,9166667	-19,7333	Uberaba, MG	Coleção Entomológica UFV
61	-48,185	-18,65	Araguari, MG	Lopes 2008
62	-48,277	-18,919	Uberlandia, MG	Coleção Entomológica UFV
63	-45,2333333	-20,45	Formiga, MG	Tavares et al. 2007
64	-48,2038889	-18,9492	Fazenda Experimental do Gloria, UFU, MG	Tavares et al. 2007
65	-48,2715278	-18,7491	Araguari, MG	Siqueira et al. 2007
66	-46,3888889	-19,5933	Araxá, MG	Melo, 2003
67	-46,5388889	-19,4783	Ibiá, MG	Melo, 2003
68	-47,2927778	-19,3528	Perdizes, MG	Melo, 2003
69	-45,4366654	-22,4366	Santa Rita de Cássia, MG	Melo, 2003
70	-52,45	-21,8	Rio Guaraguatá, MS	Melo, 2003
71	-51,6783333	-20,7511	Três Lagoas, MS	Melo, 2003
72	-47,7044444	-21,555	luís antonio,SP	species link
73	-48,3183333	-19,1944	Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG	Coleção Entomológica UFMG
74	-47,6747222	-19,1525	Nova Ponte, MG	Coleção Entomológica UFMG
75	-47,6747222	-18,9439	Patrocínio, MG	Coleção Entomológica UFMG
76	-47,5616667	-18,1531	Davinópolis, Goiás, Brasil	Informação pessoal José Eustáquio Santos Jr.
77	-47,9463889	-18,1658	Catalão, GO	Resende, 2012
78	-45,4638333	-20,3194	Arcos, MG	Coletor Resende, H. C.
79	-45,7128333	-20,176	Iguatama, MG	Coletor Resende, H. C.
80	-45,7058611	-20,1756	Iguatama, MG	Coletor Resende, H. C.
81	-46,0201944	-19,891	Tapiraí, MG	Coletor Resende, H. C.
82	-46,0961389	-19,8794	Córrego Dantas, MG	Coletor Resende, H. C.
83	-46,0961389	-19,8794	Tapiraí, MG	Coletor Resende, H. C.

---

84	-45,8829444	-19,8676	Córrego Dantas, MG	Coletor Resende, H. C.
85	-45,9185278	-19,8894	Córrego Dantas, MG	Coletor Resende, H. C.
86	-45,5372222	-20,35	Arcos, MG	Coletor Resende, H. C.
87	-45,9126111	-19,8224	RE2	Coletor Resende, H. C.
88	-45,8865556	-19,8203	RE3	Coletor Resende, H. C.
89	-45,9791111	-20,0184	BambuÍ, MG	Coletor Resende, H. C.
90	-46,0161111	-20,0422	BambuÍ, MG	Coletor Resende, H. C.
91	-45,8925278	-20,062	BambuÍ, MG	Coletor Resende, H. C.
92	-45,5007583	-20,2462	Arcos, MG	Coletor Resende, H. C.
93	-44,43002	-19,8922	Florestal, Mg	Coletor Resende, H. C.
94	-45,5150833	-20,2472	Arcos, MG	Coletor Resende, H. C.
95	-45,5144722	-20,2495	Arcos, MG	Coletor Resende, H. C.
96	-45,5276667	-20,0111	Lagoa da Prata, MG	Coletor Resende, H. C.
97	-48,3883333	-19,9147	Uberlandia, MG	species link
98	-45,7422222	-16,1325	Bonfinópolis de Minas, MG	species link
99	-44,5561111	-7,22944	Bom Jesus, PI	coleção entomológica USP
100	-44,4211111	-10,5475	Mateiros, TO	coleção entomológica USP
101	-44,3586111	-9,07444	Bom Jesus, PI	coleção entomológica USP

---

## **CAPÍTULO 2 – Análises genéticas e moleculares aplicadas à conservação de *Melipona rufiventris* Lepeletier 1836 (Apidae: Meliponini).**

### **1. RESUMO**

*Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 é uma espécie abelha nativa sem ferrão, que se encontra na lista brasileira de espécies ameaçadas de extinção. Os principais impactos à espécie são a degradação de seu habitat e a coleta predatória de mel. A espécie faz parte do grupo *rufiventris*, que possui ampla distribuição no Brasil. As relações entre as espécies dentro do grupo não são muito claras, sendo que foi proposta uma nova espécie, com ocorrência no noroeste de Minas Gerais. Estabelecer relações filogenéticas e identificar genótipos prioritários para compor populações de conservação são passos importantes de um programa de conservação. Este trabalho estudou a relação filogenética entre espécies do grupo *rufiventris* utilizando o gene Citocromo C oxidase subunidade I (COI) e o Espaçador Intergênico Transcrito I (ITS1). Uma rede de haplótipos foi elaborada utilizando o gene COI. As análises demonstraram que as diferentes regiões do DNA analisadas geraram diferentes relações entre dois dos três clados formados. Devido às relações demonstradas foi possível concluir que a espécie não descrita do grupo *rufiventris* é muito próxima de *M. flavolineata*. Foram identificados oito haplótipos de interesse para a formação de uma população de conservação a ser reintroduzida ou manejada para áreas potenciais para sua manutenção.

## 2. INTRODUÇÃO

As abelhas da tribo Meliponini (Hymenoptera: Apidae), são conhecidas popularmente como abelhas sem ferrão, pois as fêmeas apresentam ferrão vestigial (Michener, 2000). Elas são consideradas um dos insetos mais importantes para a polinização seja de áreas naturais ou cultivadas (Slaa et al. 2006). Pertencente a essa tribo, o gênero *Melipona* está distribuído exclusivamente na região neotropical (Michener, 2000; Silveira et al. 2002, Camargo e Pedro, 2013). Esse gênero possui mais de sessenta espécies no Brasil (Camargo e Pedro, 2013), sendo que três delas encontram-se na lista de espécies ameaçadas de extinção publicada pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2014) *M. scutellaris* Latreille, *M. capixaba* Moure e Camargo e *M. rufiventris*.

A última espécie citada faz parte de um complexo de espécies denominado grupo *rufiventris* que possui ampla distribuição no Brasil e que conta atualmente com nove espécies: *M. rufiventris*, *M. brachychaeta*, *M. captiosa*, *M. cramptoni*, *M. dubia*, *M. flavolineata*, *M. fulva*, *M. mondury* e *M. paraensis* (Camargo e Pedro, 2013). Esse grupo era subdividido em subespécies (Moure e Kerr, 1950), mas, posteriormente foram elevadas ao nível de espécies (Silveira et al. 2002). As espécies desse grupo são muito semelhantes entre si chegando a ser difícil a sua identificação baseada apenas em caracteres morfológicos (Melo, 2003). Inicialmente no estado de Minas Gerais havia apenas uma espécie reconhecida do grupo *rufiventris*, *M. rufiventris*. Porém Melo (2003) reconheceu duas espécies no estado: *M. rufiventris* na cobertura vegetal típica de Cerrado e *M. mondury* Smith em áreas de Mata Atlântica.

Tavares et al. (2007) demonstraram, a partir de estudos moleculares, que espécimes de uruçú amarela proveniente dos municípios de Brasilândia de Minas, Dom Bosco e Urucuia (Dias, 2008), no noroeste de Minas Gerais, apresentavam um perfil eletroforético distinto de *M. rufiventris* encontradas no restante do estado. As amostras dessas localidades formaram um grupo separado de *M. mondury* e de *M. rufiventris* quando analisadas por aloenzimas, RAPD e microssatélites (Tavares et al. 2007) e se agruparam com amostras do Maranhão (Silva et al. 2007). Tavares et al. (2007) sugeriram que estes indivíduos possam ser representantes de uma terceira espécie de uruçú amarela presente em Minas Gerais ainda não descrita (*Melipona* sp).

Mesmo com ampla distribuição geográfica *M. rufiventris* figura na lista de espécies ameaçadas do estado mineiro há praticamente vinte anos (Machado et al. 1998). Segundo

Campos (1998) as principais razões para a inclusão da espécie na lista mineira de espécies ameaçadas foram à destruição e consequente fragmentação do seu habitat e a coleta predatória de mel.

Silveira e Campos (1995) relataram uma diminuição dos locais onde *M. rufiventris* é encontrada e ela não é vista em áreas impactadas. O Cerrado, habitat da espécie, está altamente fragmentado e sua cobertura vegetal foi drasticamente reduzida (Myers et al. 2000). Os pequenos fragmentos formados nas reservas podem não ser suficientes para a manutenção de populações de tamanho populacional efetivo (Campos, 1998). Populações pequenas e isoladas sofrem endogamia acelerada e perda da diversidade genética, implicando depressão endogâmica e menor habilidade para a adaptação às mudanças climáticas (Frankham et al. 2008).

A meliponicultura se mostra uma prática econômica aliada à manutenção de populações de abelhas com a finalidade de se evitar a extinção local (Cortopassi-Laurino et al. 2006). O conhecimento da genética de colônias mantidas em meliponários é fundamental para que se desenvolvam estratégias de conservação eficazes para as espécies nativas (Cortopassi-Laurino et al. 2006; Alves et al. 2011). Entretanto, são poucos os estudos sobre a genética de colmeias em meliponários (Carvalho-Zilse et al. 2009).

Estudos moleculares são de grande importância para a conservação de espécies ameaçadas de extinção. Por meio deles é possível delimitar unidades evolutivamente significativas, tomar decisões acerca de reintrodução/translocação de populações de conservação e resolução de incertezas taxonômicas (Frankham et al. 2008).

As incertezas taxonômicas são um entrave à conservação de muitas espécies uma vez que para conservar é necessário conhecer a espécie, suas relações com outros organismos, relacionados ou não (Frankham et al. 2008). Uma espécie de ampla distribuição pode ser na verdade um conjunto de espécies muito próximas que apresentam distribuições mais restritas. Isso pode impedir a detecção de espécies raras ou ameaçadas. Porém ao considerar ecótipos como sendo espécies diferentes os esforços são dedicados às espécies que não correm risco de ameaça.

Sabendo disso, este capítulo tem por objetivo (i) apresentar hipóteses filogenéticas para o grupo *rufiventris*, com a finalidade de resolução da incerteza taxonômica existente no grupo; e (ii) identificar genótipos prioritários para composição de populações de conservação.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Material biológico

Ao longo deste trabalho foram utilizados indivíduos do grupo *rufiventris* das seguintes espécies: *M. rufiventris*, *M. mondury*, *M. flavolineata*, *Melipona* sp. As amostras de *M. rufiventris* foram coletadas em diferentes localidades do Cerrado de Minas Gerais no entorno do Parque Nacional da Serra da Canastra (Tabela 1). A localização geográfica de cada colônia foi registrada com o auxílio de um GPS Garmim® GPSMAP76CSX. Os indivíduos das demais espécies foram obtidos em colaboração com outros pesquisadores, sendo que todos os espécimes estavam depositados Laboratório de Biologia Molecular de Insetos da Universidade Federal de Viçosa. Os espécimes foram identificados com o auxílio de uma chave dicotômica para as espécies de *Melipona* presentes no estado de Minas Gerais, disponível em Obiols (2008).

Tabela 1: Informações sobre o esforço amostral de *M. rufiventris*. Localidade, coordenadas (decimais), altitude e número de colônias.

Localidade	Latitude	Longitude	Altitude	Colônias
Arcos - MG	-20.3193611111	-45.4638333333	788m	18
Iguatama - MG	-20.1760277778	-45.7128333333	683m	2
Iguatama - MG	-20.1756111111	-45.7058611111	694m	9
Tapiraí - MG	-19.8909722222	-46.0201944444	680m	1
Tapiraí - MG	-19.8794166667	-46.0961388889	711m	2
Córrego Dantas - MG	-19.8794166667	-46.0961388889	699m	1
Córrego Dantas - MG	-19.8675833333	-45.8829444444	703m	2
Córrego Dantas - MG	-19.8894166667	-45.9185277778	686m	1
Arcos - MG	-20.3499722222	-45.5372222222	719m	4
Bambuí - MG	-20.0421944444	-46.0161111111	460m	4
Bambuí - MG	-20.062	-45.8925277778	711m	1
Arcos - MG	-20.2462274914	-45.5007582877	714m	9
Florestal - MG	-19.892162	-44.430020	753m	5
Arcos - MG	-20.2471666667	-45.5150833333	700m	1
Arcos - MG	-20.2495	-45.5144722222	706m	1
Lagoa da Prata - MG	-20.0110833333	-45.5276666667	669m	6

Todas as amostras foram devidamente identificadas e conservadas em álcool absoluto no Laboratório de Genética e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal de Viçosa-campus Florestal sob temperatura de -20°C.

### 3.2.Extração do DNA, amplificação dos fragmentos de interesse e sequenciamento

Para as análises moleculares, o tórax de uma operária por colônia foi congelado com nitrogênio líquido e macerado com ajuda de um pistilo estéril de polipropileno. O DNA total foi extraído utilizando o Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega), seguindo as instruções do fabricante para extração de material genético de tecido animal. As amostras foram quantificadas e tiveram sua qualidade verificada por eletroforese em gel de agarose 0,8% (p/v) e quando possível em espectrofotômetro tipo NanoDrop lite Thermoscientific. A solução contendo o material genético foi mantida sob refrigeração a -20°C.

Foram utilizados quatro pares de *primers* nas reações de amplificação via PCR. As sequências e referências bibliográficas de cada *primer* (Tabela 2), assim como as condições específicas de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), são apresentadas à seguir.

Tabela 2. Sequências dos *primers* e informações de PCR dos fragmentos de DNA utilizados neste trabalho. Tm: temperatura de anelamento do *primer*.

Sequência	Primer	Sequência	Tm	Referência
COI	M.scu 586F	5'-TCTTTACCTGTATTAGCAGGAG-3'	57°C	Não publicado*
	M.scu 1324R	5'-GATAATCTGAGTATCGTCGTGG-3'		
COI	HCOdeg	5'-TAAACTTCWGGATGWCCAAAAAATCA-3'	52°C	Resende, 2012**
	LCOdeg	5'-TATCWACHAATCATAAAAAATMTTGG-3'		
ITS	ITS II F	5'-ACGATTGCGCGATATGGCTG-3'	61°C	Não publicado*
	ITS II R	5'-TCCGTTGGGAAATCGAACCG-3'		
ITS	CAS18SF1	5'-TACACACCGCCCGTCGCTACTA-3'	61°C	Ji, et al. 2003
	CAS5P8SB1D	5'-ATGTGCGTTCRAAATGTCGATGTTCA-3'		

\**primers* desenhados para esse trabalho

\*\*os *primers* LCO/HCOdeg foram sintetizados à partir das modificações dos *primers* universais LCO1490 e HCO2198 propostos por Folmer et al. (1994).

Para as reações de PCR foi utilizado o Kit Invitrogen Platinum<sup>®</sup> Taq DNA Polymerase. Todas as reações foram montadas com volume final de 25µl para cada amostra com os seguintes reagentes, suas respectivas concentrações e o volume utilizado em cada reação: 10X PCR Buffer (2,5µl); 10mM dNTP (0,8µl), 50mM MgCl<sub>2</sub> (1,0µl), *Primer* 10uM

(1,0µl para os *primers* nucleares e 2,0 µl para os *primers* mitocondriais), DNA 50ng/µl (1µl), Platinum Taq DNA polymerase (0,1µl) e H<sub>2</sub>O Milli-Q na quantidade suficiente para completar o volume final.

As reações de PCR iniciaram-se com um passo de desnaturação a 94°C por 1 minuto e 30 segundos, seguido de 35 ciclos de amplificação e um passo final de extensão a 72°C por 5 minutos. Cada ciclo compreende: um passo de desnaturação a 94°C por 45 segundos, anelamento por 50 segundos à temperatura específica dos *primers* (tabela 2) e alongamento das cadeias a 72°C por 1 minuto e 30 segundos.

Para verificar a qualidade e o tamanho dos fragmentos amplificados, os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a uma concentração de 1,2% (p/v), com tampão TBE 1X e corados com GelRed™ (10.000X) usando o marcador molecular 1Kb DNA Ladder (Invitrogen) como parâmetro para verificar o tamanho dos fragmentos amplificados via PCR.

Os produtos de PCR foram processados no Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular (LBEM) da Universidade Federal de Minas Gerais. A purificação dos produtos da PCR foi realizada de acordo com Chaves et al. (2008) usando PEG 8000 (polietilenoglicol a 20% e NaCl 2,5M), hidratando o material com água ultrapura em seguida.

Os *amplicons* purificados foram sequenciados utilizando o mix de reação de sequenciamento do BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies, EUA), com o BidDye 5X diluído. As reações de amplificação para o sequenciamento possuíam volume total de 10µl: 4µl eram do kit de sequenciamento, 3µl de água ultrapura, 2µl de produto de PCR purificado e 1µl de *primer* (concentração final de 0,5µM) que foram submetidas ao termociclador com 35 ciclos de desnaturação à 95°C durante 25 segundos, anelamento a 50°C durante 15 segundos e extensão 60°C durante 3 minutos. Os produtos amplificados foram precipitados utilizando acetato de amônio e etanol 70%, depois ressuspensos em tampão formamida-EDTA e executados no sequenciador ABI3130xl.

### **3.3. Análises moleculares**

As sequências consenso das fitas *forward* e *reverse* de cada amostra foram obtidas com auxílio do pacote computacional phredPhrap e Consed versão 29.0 (Ewing et al. 1998; Ewing e Green, 1998; Gordon et al. 1998) e do software CodonCode Aligner versão 6.0 (CodonCode Corporation MA, USA). Os cromatogramas resultantes das reações de

sequenciamento foram inspecionados visualmente e, quando identificado qualquer erro na chamada de bases, editadas manualmente. Os alinhamentos das sequências foram realizados com o auxílio do programa ClustalW (Higgins et al. 1994) implementado no software MEGA versão 7 (Kumar et al. 2016). Todos os alinhamentos foram inspecionados e corrigidos visualmente e as sequências com alinhamentos duvidosos foram excluídos da análise final.

A nomenclatura IUPAC foi utilizada sempre que detectadas ambiguidades nas sequências amplificadas a partir dos *primers* nucleares, utilizando-se posteriormente o algoritmo Bayesiano descrito em 2003 por Stephens e Donnelly disponível no software DnaSP v5.1 (Librado e Rosas, 2009), com os parâmetros: 500 repetições em *burn-in*, 500 repetições livres e intervalo de *trinning*=1 para analisar as heterozigosidades.

### **3.4. Inferências filogenéticas e rede de haplótipos**

#### **3.4.1. Inferências filogenéticas**

Árvores filogenéticas foram reconstruídas por inferência Bayesiana (IB) por meio de MrBayes 3.0b4 (Huelsenbeck e Ronquist, 2001), com 5 milhões de gerações por Cadeia de Monte Carlo Markov (MCMC). A convergência das cadeias de Markov foi verificada no programa Tracer v. 1.5 (Rambaut e Drummond, 2009). Cada análise foi rodada, de forma independente, quatro vezes, sendo excluídas 25% das gerações iniciais, por meio do “*burn in*” e os 75% restante foi utilizado no cálculo da árvore consenso. Os modelos de substituição a foram estimados pelo MrModeltest (Nylander et al. 2004) com o critério de informação Akaike (AIC) (Akaike, 1985). Utilizou-se como grupo externo uma sequência de *M. capixaba* Moure e Camargo, obtida como parte do trabalho realizado por Raad (2017).

As visualizações das árvores, assim como as edições, ocorreram no programa FigTree v1.4.3 (Rambaut, 2009). Foram construídas três árvores enraizadas: (1) com gene mitocondrial COI; (2) com o ITS1; (3) utilizando tanto sequências mitocondriais quanto nucleares, concatenadas. Devido ao fato de que os modelos fornecidos pelo Akaike Model eram diferentes entre as sequências, a filogenia concatenada foi particionada.

#### **3.4.2. Rede de haplótipos**

A rede foi reconstruída para *M. rufiventris* utilizando-se vinte sequências referentes à região de COI. Os haplótipos existentes foram identificados com auxílio do software DnaSP v.5.1 (Librado e Rosas, 2009). As redes de haplótipos foram reconstruídas por análise de

*median-joining* (Baldelt et al. 1999) utilizando o software NETWORK 4.5 e editada manualmente para melhor visualização.

#### **4. RESULTADOS**

##### **4.1. Inferências filogenéticas**

Foram utilizadas trinta e seis amostras, incluindo o grupo externo, para a reconstrução filogenética usando as sequencias obtidas a partir de ampliações com os *primers* de mtDNA. O alinhamento final utilizado totalizou 1061pb e o modelo de reconstrução filogenética utilizado foi GTR+I. A árvore filogenética enraizada (Figura 1) obtida mostra que as abelhas do grupo *rufiventris* analisadas foram separadas em três clados monofiléticos: o clado 1 (C1) é formado por seis indivíduos de *M. mondury*; o clado 2 (C2) formado por vinte e um indivíduos de *M. rufiventris*; e clado 3 (C3) possui, de acordo com a atual classificação, duas espécies diferentes: *M. flavolineata* e *Melipona* sp, representadas por quatro indivíduos cada. O baixo valor de probabilidade posterior não permite certeza sobre a relação entre os grupos C1, C2 e C3.

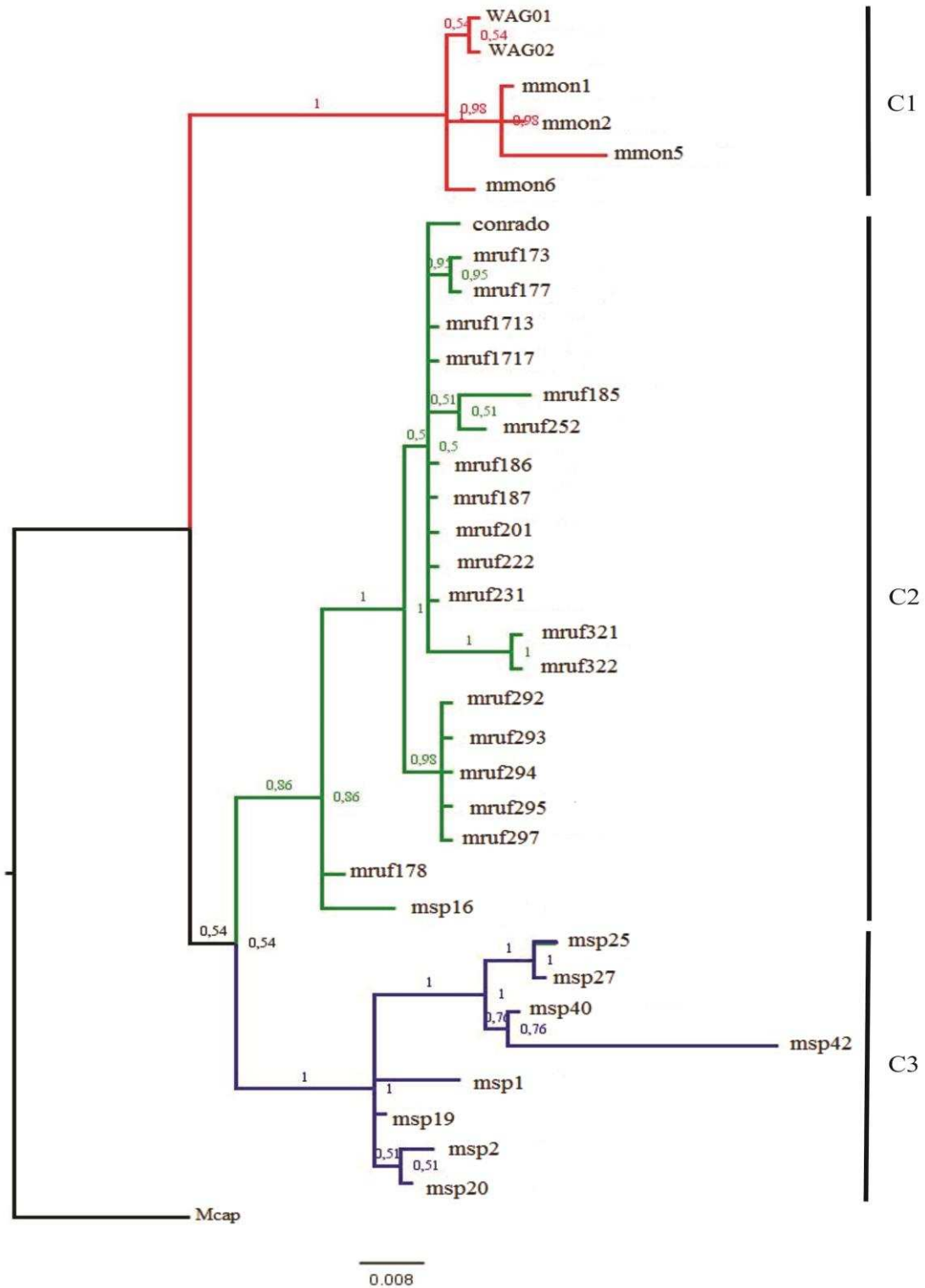


Figura 1. Árvore consenso obtida por inferência filogenética Bayesiana utilizando sequências de COI. Grupo externo (*Melipona capixaba*) em preto; Grupo 1 (C1) em vermelho; Grupo 2 (C2) em verde; Grupo 3 (C3) em azul. Probabilidade posterior indicada em cada bifurcação. As amostra utilizadas nesta inferência se encontram descritas na tabela 3.

Tabela 3. Dados sobre as amostras utilizadas na árvore filogenética referente às sequências de COI (Figura 1). A cor da primeira coluna é referente à cor do clado representado na árvore.

Grupo	Código	Espécie	Localidade
C1	WAG01; WAG02	<i>M. mondury</i>	Lagoa da Prata, MG
	mmon1	<i>M. mondury</i>	Domingos Martins, ES
	mmon2	<i>M. mondury</i>	Teresópolis, RJ
	mmon5	<i>M. mondury</i>	Itabuna, BA
	mmon6	<i>M. mondury</i>	Camamu, BA
	Conrado	<i>M. rufiventris</i>	Tapiraí, MG
C2	mruf173; mruf177; mruf1717; mruf1713; mruf1718	<i>M. rufiventris</i>	Águas do Paraíso, Arcos, MG
	mruf186; mruf185; mruf187	<i>M. rufiventris</i>	Iguatama, MG, Brasil
	mruf201	<i>M. rufiventris</i>	Iguatama, MG, Brasil
	mruf252	<i>M. rufiventris</i>	Córrego Dantas, MG, Brasil
	mruf222	<i>M. rufiventris</i>	Tapiraí, MG, Brasil
	mruf231	<i>M. rufiventris</i>	Tapiraí, MG, Brasil
	mruf321; mruf322	<i>M. rufiventris</i>	Arcos, MG
	mruf292; mruf293; mruf294; mruf295; mruf297	<i>M. rufiventris</i>	Arcos, MG
	msp16	<i>M. rufiventris</i>	Catalão, GO
	msp25; msp27	<i>Melipona</i> sp	Januária, MG
	msp40	<i>Melipona</i> sp	Dom Bosco, MG
C3	msp42	<i>Melipona</i> sp	Brasilândia de Minas, MG
	msp1; msp2; msp19; msp20	<i>M. flavolineata</i>	Maranhão

O alinhamento final para a sequência ITS1 totalizou 2008pb referentes a ITS interno total, região 18S parcial e 5,8S parcial. Para a referida região foram utilizadas nas análises trinta e cinco amostras, incluindo o grupo externo, com modelo de reconstrução filogenética K80+I. Na árvore filogenética enraizada referente à região de ITS1 (Figura 2), de forma semelhante ao obtido com COI, foram formados três grupos monofiléticos. Os valores das probabilidades posteriores permitem inferir sobre as relações entre os táxons, mostrando que C3 (*Melipona* sp + *M. flavolineata*) é grupo irmão de C1 (*M. mondury*). A análise indica a separação da amostra de *M. rufiventris* oriunda de Goiás (msp16) das demais amostras da espécie que foram coletadas em Minas Gerais.

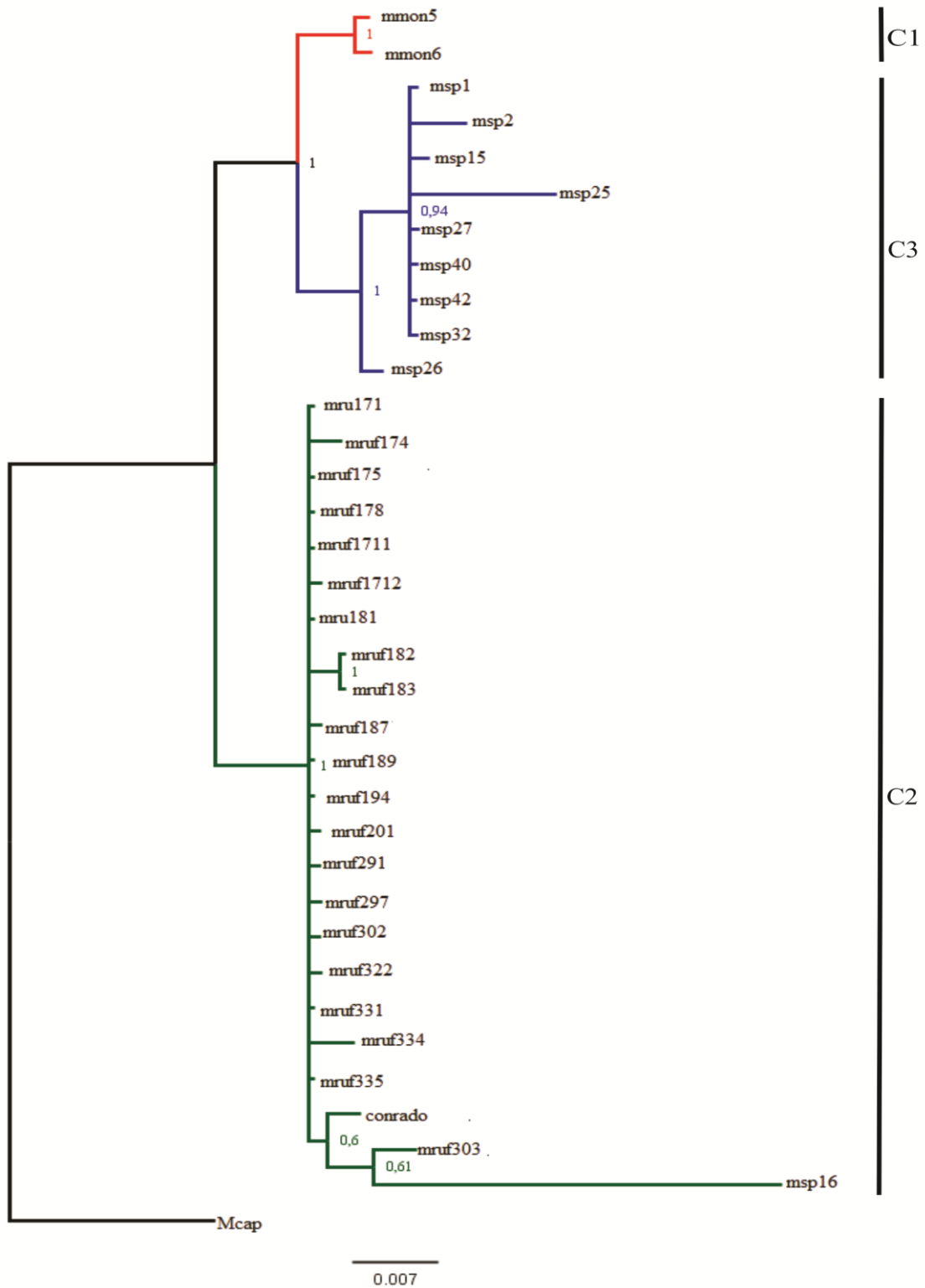


Figura 2. Árvore consenso obtida por inferência filogenética Bayesiana utilizando seqüências de ITS1. Grupo externo (*Melipona capixaba*) em preto; Grupo 1 (C1) em vermelho; Grupo 2 (C2) em verde; Grupo 3 (C3) em azul. Probabilidade posterior indicada em cada bifurcação. As amostras utilizadas nesta inferência se encontram descritas na tabela 4.

Tabela 4. Dados sobre as amostras utilizadas na árvore filogenética referente às sequências de ITS (Figura 2). A cor da primeira coluna é referente à cor do clado representado na árvore.

Grupo	Código	Espécie	Localidade
C1	mmon5	<i>M. mondury</i>	Itabuna, BA
	mmon6	<i>M. mondury</i>	Camamu, BA
C2	Conrado	<i>M. rufiventris</i>	Tapiraí, MG
	mruf171; mruf174; mruf175; mruf178; mruf1711; mruf1712	<i>M. rufiventris</i>	Águas do Paraíso, Arcos, MG
	mruf181; mruf182; mruf183; mruf187; mruf189	<i>M. rufiventris</i>	Iguatama, MG
	mruf194	<i>M. rufiventris</i>	Arcos, MG
	mruf201	<i>M. rufiventris</i>	Iguatama, MG
	mruf331; mruf334; mruf335	<i>M. rufiventris</i>	Lagoa da Prata, MG
	mruf322	<i>M. rufiventris</i>	Arcos, MG
	mruf303; mruf302	<i>M. rufiventris</i>	Florestal, MG
	mruf291	<i>M. rufiventris</i>	Arcos, MG
	msp16	<i>M. rufiventris</i>	Catalão, GO
	C3	msp25; msp27; msp26	<i>Melipona</i> sp
msp40		<i>Melipona</i> sp	Dom Bosco, MG
msp42		<i>Melipona</i> sp	Brasilândia de Minas, MG
msp32		<i>M. aff. flavolineata</i>	Novo Acordo, TO
msp1; msp2; msp15		<i>M. flavolineata</i>	Maranhão

A árvore enraizada obtida com as duas regiões concatenadas (Figura 3) reflete a topologia encontrada na árvore produzida com a região ITS1, em relação aos três grupos, mas com relação no interior de C3 semelhante ao observado na análise com COI. A mesma utilizou amostras que se encontravam tanto na árvore referente às sequências de COI quanto na árvore de ITS.

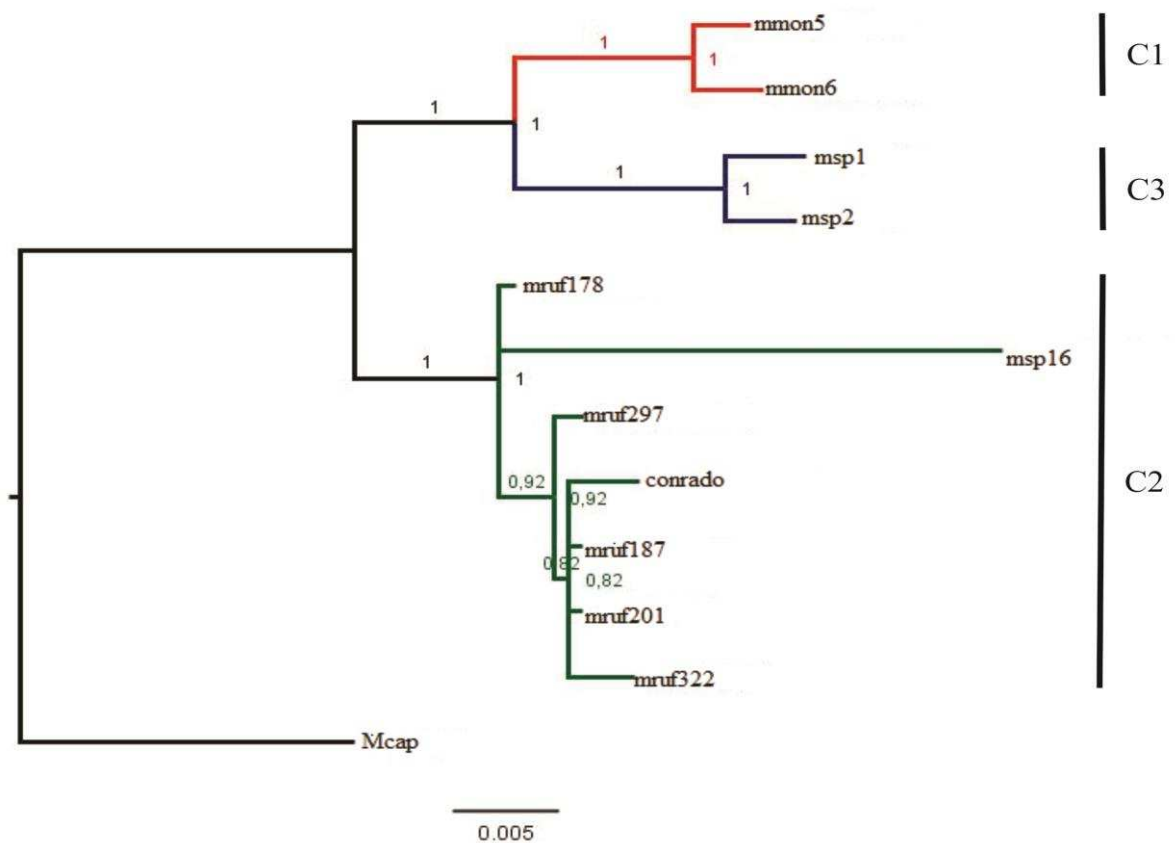


Figura 3: Árvore consenso obtida por inferência filogenética Bayesiana utilizando seqüências de ITS1 e COI de forma concatenada. Grupo externo (*Melipona capixaba*) em preto; Grupo 1 (C1) em vermelho; Grupo 2 (C2) em verde; Grupo 3 (C3) em azul. Probabilidade posterior indicada em cada bifurcação. As amostras utilizadas nesta inferência estão descritas na tabela 5.

Tabela 5. Dados sobre as amostras utilizadas na árvore filogenética referente às seqüências de COI e ITS (Figura 3). A cor da primeira coluna é referente à cor do clado representado na árvore.

Grupo	Código	Espécie	Localidade
C1	Mmon5	<i>M. mondury</i>	Itabuna, BA
	Mmon6	<i>M. mondury</i>	Camamu, BA
C2	Conrado	<i>M. rufiventris</i>	Tapiraí, MG
	mruf178	<i>M. rufiventris</i>	Águas do Paraíso, Arcos, MG
	mruf201	<i>M. rufiventris</i>	Iguatama, MG
	mruf322	<i>M. rufiventris</i>	Arcos, MG
	mruf297	<i>M. rufiventris</i>	Arcos, MG
	msp16	<i>M. rufiventris</i>	Catalão, GO
C3	msp25; msp27	<i>Melipona</i> sp	Januária, MG
	msp40	<i>Melipona</i> sp	Dom Bosco, MG
	msp42	<i>Melipona</i> sp	Brasilândia de Minas, MG
	msp1; msp2	<i>M. flavolineata</i>	Maranhão

## 4.2. Rede de haplótipos

As amostras de *M. rufiventris* coletadas no entorno do Parque Nacional da Serra da Canastra tiveram sua composição haplotípica analisadas visando determinar genótipos de interesse para a formação de uma população para conservação local. A figura 4 demonstra a rede de haplótipos reconstruída considerando as sequências de COI. A tabela 2 refere-se à localidade de cada haplótipo.

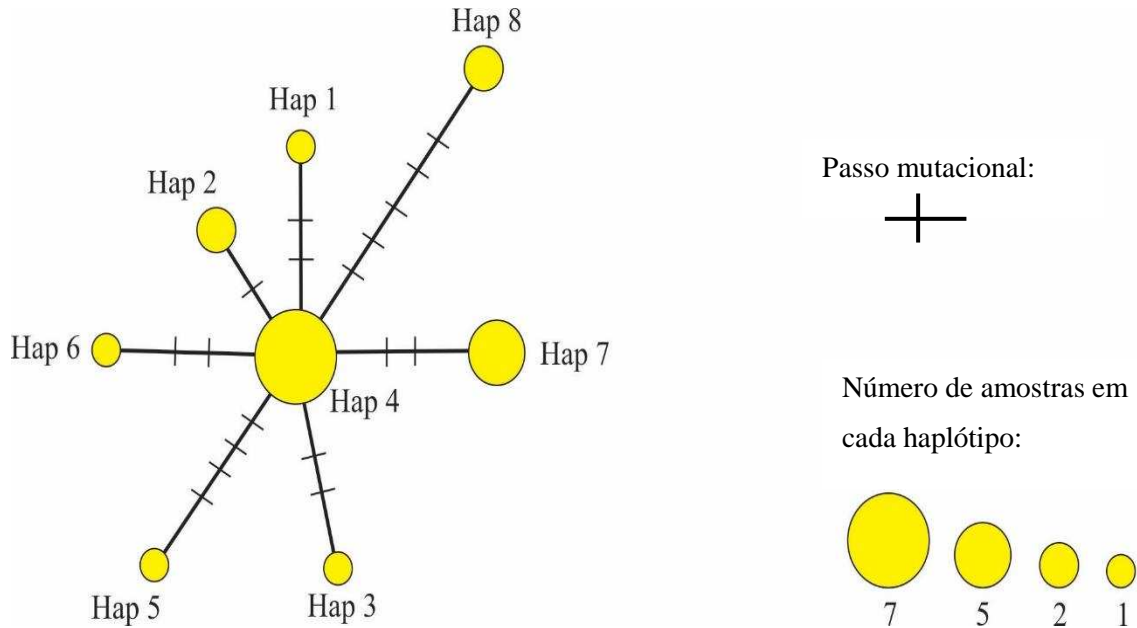


Figura 4. Rede de haplótipos *median-joining* baseada em sequências COI de *Melipona rufiventris*.

Tabela 6. Localização geográfica dos haplótipos mitocondriais de *Melipona rufiventris*. Coordenadas em graus decimais.

Coordenadas				
Haplótipo	Amostra	Latitude	Longitude	Localidade
1	conrado	-19.8794166667	-46.0961388889	Tapiraí, MG, Brasil
2	17.3	-20.3193611111	-45.4638333333	Arcos, MG, Brasil
	17.7	-20.3193611111	-45.4638333333	Arcos, MG, Brasil
3	17.8	-20.3193611111	-45.4638333333	Arcos, MG, Brasil
	17.13	-20.3193611111	-45.4638333333	Arcos, MG, Brasil
	17.17	-20.3193611111	-45.4638333333	Arcos, MG, Brasil
	18.6	-20.1756111111	-45.7058611111	Iguatama, MG, Brasil
	18.7	-20.1756111111	-45.7058611111	Iguatama, MG, Brasil
	20.1	-20.1760277778	-45.7128333333	Iguatama, MG, Brasil
	22.2	-19.8794166667	-46.0961388889	Tapiraí, MG, Brasil
4	23.1	-19.8909722222	-46.0201944444	Tapiraí, MG, Brasil
5	18.5	-20.1756111111	-45.7058611111	Iguatama, MG, Brasil

6	25.2	-19.8675833333	-45.8829444444	Córrego Dantas, MG, Brasil
	29.2	-20.2462274914	-45.5007582877	Arcos, MG, Brasil
	29.3	-20.2462274914	-45.5007582877	Arcos, MG, Brasil
	29.4	-20.2462274914	-45.5007582877	Arcos, MG, Brasil
	29.5	-20.2462274914	-45.5007582877	Arcos, MG, Brasil
7	29.7	-20.2462274914	-45.5007582877	Arcos, MG, Brasil
	32.1	-20.2471666667	-45.5150833333	Arcos, MG, Brasil
8	32.2	-20.2471666667	-45.5150833333	Arcos, MG, Brasil

O alinhamento final das vinte sequências de COI utilizadas para a construção da rede de haplótipos totalizou 1032 sítios com exclusão de *gaps* e *missing data*. Do total de sítios, 17 se mostraram variáveis, sendo 9 parsimoniosamente informativos e 8 *singletons*. Foram identificados 8 haplótipos diferentes, sendo o Haplótipo 4 o mais comum, com 7 amostras. A diversidade haplotípica (Hd) encontrada foi 0,8263 e diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) de 0,00295.

O haplótipo 4 é mais distribuído ao longo da área de amostragem. Cada um dos haplótipos 1, 3, 5 e 6 são representados por uma colônia. Haplótipos 2 e 8 possuem duas amostras cada, sendo que Haplótipo 8 exclusivo de um meliponário.

O haplótipo 7 possui 5 indivíduos e se diferencia do haplótipo mais comum por dois passos mutacionais. As amostras que possuem esse genótipo são todas do mesmo meliponário, o que demonstra baixa diversidade o que possivelmente é resultado de multiplicação artificial a partir de uma única colônia matriz.

## 5. DISCUSSÕES

### 5.1. Inferências filogenéticas acerca do grupo *rufiventris*

A análise do gene COI e de sequências do ITS1 das espécies demonstraram filogenias diferentes (Figuras 1 e 2). A separação de *M. rufiventris* e *M. mondury* em clados distintos era esperada e corresponde a trabalhos realizados anteriormente (Silva et al. 2007; Lopes, 2008; Pires, 2010). Em ambas as análises, *Melipona* sp se agrupou com *M. flavolineata* oriundas do Maranhão, com variação deste grupo em relação aos demais quando analisados o gene mitocondrial e a sequência nuclear. Borges (comunicação pessoal) utilizando marcadores RAPD demonstrou que indivíduos de Brasilândia de Minas/Dom Bosco e as colônias do estado do Maranhão formaram um grupo separado de *M. mondury* e *M. rufiventris* quando todas as amostras eram submetidas à análise de agrupamento. Silva et al. (2007), utilizando marcadores microssatélites, observaram que as amostras oriundas de Brasilândia de Minas-MG, Dom Bosco-MG e do Maranhão formavam um subgrupo dentro de *M. rufiventris*.

Quando observado em relação a COI, *Melipona* sp se separa de *M. flavolineata* dentro de um clado monofilético, corroborando inicialmente a hipótese de uma nova espécie proposta por Melo (2003) e Tavares et al. (2007). Nesta árvore, o clado 3 (*M. flavolineta* + *Melipona* sp) se apresenta como grupo irmão do clado 2 (*M. rufiventris*), com baixo valor de probabilidade posterior (0,54). Esta relação é diferente da observada por Pires (2010) e idêntica à observada por Lopes (2008), mas o baixo valor de probabilidade posterior não dá suporte a esta relação entre os grupos C1, C2 e C3.

As sequências do ITS1 (Figura 2) tiveram maior resolução interespecífica, onde o grupo C3 (*Melipona* sp + *M. flavolineata*) é grupo irmão de C1 (*M. mondury*) e juntos (C3+C1) são grupo irmão de C2 (*M. rufiventris*), sendo esta relação é corroborada pela análise concatenada das duas sequências (Figura 3). Neste caso, as amostras de *Melipona* sp e *M. flavolineata* se comportam como uma única espécie em relação à sequência nuclear.

Esta relação pode ser resultado de três eventos distintos entre as duas espécies: amostras de *Melipona* sp podem corresponder, de fato, à colônias de *M. flavolineata* no extremo da sua distribuição e suas diferenças morfológicas são resultado de especialização local; *Melipona* sp e *M. flavolineata* podem não possuir isolamento reprodutivo e há hibridização entre as espécies, mantendo fluxo gênico via machos; ou *Melipona* sp encontra-se em processo de especiação simpátrica recente, sem amplas evidências nucleares que a diferenciem de *M. flavolineata*.

Já a análise de COI sugere uma quarta possível relação: *Melipona* sp pode ser resultado de hibridização entre *M. flavolineata* com *M. rufiventris*, seguido de introgressão com *M. flavolineata*, que resultaria na topologia apresentada por ITS1 neste trabalho. Há a possibilidade de introgressão com *M. rufiventris* ou *Melipona* sp corresponder à zona de hibridização entre as duas espécies, sendo que estes casos podem não ter sido identificadas com as sequências de ITS1.

Dentro do clado de *M. rufiventris*, a amostra pertencente a Goiás (msp16) se distingue das demais, coletadas em Minas Gerais. Esta observação era esperada devido ao fato de que as populações de *M. rufiventris* estão distribuídas em um cenário de vegetação heterogênea o que as expõe a diferentes condições ambientais, implicando em ecótipos adaptados aos seus locais de ocorrência. Com base em diferenças morfológicas Melo (2003) observou que indivíduos de Goiás apresentavam características tanto de *M. rufiventris* quanto da espécie congêneras *M. mondury*.

Os resultados apresentados neste trabalho, respaldados pelos dados encontrados nos trabalhos de Silva et al. (2007) permitem considerar que *Melipona* sp do norte de Minas Gerais está mais relacionada filogeneticamente com *M. flavolineata* do que com *M. rufiventris* ou *M. rufiventris*. Para completa elucidação da relação entre as espécies, é necessário que se realizem coletas nas áreas limítrofes da distribuição estimada de *M. flavolineata* e *Melipona* sp, com o intuito de se observar se existe algum isolamento entre as espécies, se estas ocorrem em simpatria ou se existe alguma zona de hibridização entre suas áreas de distribuição ou até mesmo se são de fato espécies diferentes ou se trata de uma mesma espécie.

## **5.2. Diversidade e conservação local de *M. rufiventris***

A conservação de *M. rufiventris* possui diversas dificuldades inerentes à sua biologia e aos riscos aos quais a espécie está exposta. Colônias em ambiente natural são de difícil localização e estão dispersas em uma região altamente antropizada. Das 67 colônias localizadas no entorno do Parque Nacional Serra da Canastra, apenas uma se encontrava em condição natural, com as restantes manejadas por meliponicultores.

O efeito do manejo nas colônias pode levar à perda de diversidade genética devido à diminuição do tamanho efetivo da população, ao efeito fundador e possível isolamento das populações (Carvalho-Zilse et al. 2009; Alves et al. 2011). Com um perfil de distribuição tão concentrado em meliponários nesta região, a população de *M. rufiventris* pode ser alvo de erosão genética crescente nos próximos anos, levando à extinção local da espécie.

Com o intuito de diminuir este risco, uma das formas de se manter a diversidade genética e criar uma população a partir da qual se possam realizar multiplicações e posteriores reintroduções/translocações de colônias, a criação de uma população de conservação é necessária (Frankham et al. 2008). Esta população deve conter a maior variabilidade genética possível, com representantes de todos os haplótipos disponíveis, e ser mantida em ambiente natural conservado e protegido para que tenha maior sucesso (Frankham et al. 2008).

Um dos possíveis fragmentos de Cerrado preservado com capacidade para comportar uma população para conservação de *M. rufiventris* é o Parque Nacional Serra da Canastra, com 200 mil hectares. Embora *M. rufiventris* não tenha sido descrita como de ocorrência dentro dos limites do parque, é encontrada em seu entorno e a região do parque está dentro da área de ocorrência estimada para a espécie (Capítulo 1).

Foram encontrados oito haplótipos distintos para COI de *M. rufiventris* na região, todos com disponibilidade para compor uma população para conservação. Contudo, é

importante salientar que estes haplótipos podem não corresponder aos encontrados naturalmente na região.

Como a amostragem de colônias em condições naturais é baixa, os haplótipos presentes em meliponários podem ser resultado do transporte artificial de colônias de outras regiões de ocorrência de *M. rufiventris*. Estudos anteriores já indicaram a presença de estruturação dentro da espécie (Lopes, 2004) e, como não é possível afirmar a procedência das colônias dos meliponicultores, seu uso para compor populações de conservação deve ser condicional a colônias sabidamente obtidas na própria região. As colônias selecionadas para este estudo se enquadram neste critério, minimizando o risco de introdução de colônias com haplótipos não adaptados localmente.

## 6. CONCLUSÕES

A análise genética das espécies do grupo *rufiventris* demonstraram que as populações oriundas do noroeste de Minas Gerais estão filogeneticamente relacionadas com *M. flavolineata*. De fato, as populações de urucu amarela existentes no Cerrado se separam das populações de Mata Atlântica quando analisadas por regiões COI e ITS1, porém as mesmas são muito próximas.

As populações de *M. rufiventris* no entorno do Parque Nacional da Serra da Canastra, amostrada neste trabalho, tem como principal característica a alta concentração de colônias em condição de manutenção artificial, com apenas uma das 67 colônias amostradas foi encontrada em condições naturais. Dos oito haplótipos mitocondriais encontrados, todos estão disponíveis para a formação de uma população para conservação dentro dos limites do Parque Nacional, considerando que o mesmo é uma região potencial para a conservação da espécie.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akaike, H. (1985) Prediction and entropy. p.1-24. In: Atkinson AC, Fienberg, SE (eds) A celebration of statistics. Springer, New York.
- Alves, D.A.; Imperatriz-Fonseca, V.L.; Francoy, T.M.; Santos-Filho, P.S.; Billen, J.; Wenseeles, T. (2011) Successful maintenance of a stingless bee population despite a severe genetic bottleneck. *Conservation genetics*, 12(3): 647-658.
- Bandelt, H.J.; Forster, P.; Röhl, A. (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology Evolution*, 16: 37-48.
- Brasil, Ministério do Meio Ambiente – MMA e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – IBAMA (2014). Instrução Normativa nº 444, de 17 de dezembro, 2014. Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção.
- Camargo, J.M.F.; Pedro, S.R.M. (2013) *Meliponini* Lepeletier, 1836. In: 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: 13/08/2017.
- Campos, L.A.O. (1998) *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836. In: Livro vermelho das espécies ameaçadas de extinção da fauna de Minas Gerais. Machado, A.B.M.; Fonseca, G.A.B.; Machado, R.B.; Aguiar, L.M.S.; Lins, L.V. (ed.). Belo Horizonte, Biodiversitas. p 560-561.
- Carvalho-Zilse, G.A.; Costa-Pinto, M.F.F.; Nunes-Silva, C.G.; Kerr, W.E. (2009) Does beekeeping reduce genetic variability in *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini)? *Genetics and Molecular Research*, 8(2): 758-765.
- Chaves, A.V.; Clozato, C.L.; Lacerda, D.R.; Sari, E.H.R.; Santos, F.R. (2008) Molecular taxonomy of Brazilian tyrant-flycatchers (Passeriformes: Tyrannidae). *Molecular Ecology Resources*, 8: 1169-1177.
- Cortopassi-Laurino, M.; Imperatriz-Fonseca, V.L.; Roubik, D.W.; Dollin, A.; Heard, T.; Aguilar, I.; Venturieri, G.C.; Eardley, C.; Nogueira-Neto, P. (2006) Global meliponiculture: challenges and opportunities. *Apidologie*, 37: 275-292.
- Dias, F.G. (2008) Diferenciação genética entre *Melipona mondury* Smith, 1963, *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1936 e *Melipona* sp (Hymenoptera, Apidae), no estado de Minas Gerais, Brasil, utilizando marcadores ISSR. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Ewing, B.; Green, P. (1998) Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Research*, 8: 186–194.
- Ewing, B.; Hillier, L.; Wend, M.C.; Green, P. (1998) Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Research*, 8: 175–185.

- Folmer, O.; Black, M.; Hoeh, W.; Lutz, R.; Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294-299.
- Frankham, R.; Ballou, J.D.; Briscoe, D.A. (2008) *Fundamentos de Genética da Conservação*. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP. 280p.
- Gordon, D.; Abajian, C.; Green, P. (1998) Consed: A Graphical Tool for Sequence Finishing. *Genome Research*, 8: 195-202.
- Higgins, D.; Thompson, J.; Gibson, T.; Thompson, J.D.; Higgins, D.G.; Gibson, T.J. (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680.
- Huelsenbeck, J.P.; Ronquist, F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17: 754-755.
- Ji, Y.; Zhang, D.; He, L. (2003) Evolutionary conservation and versatility of a new set of primers for amplifying the ribosomal internal transcribed spacer regions in insects and others invertebrates. *Molecular Ecology Notes*, 3: 581-585.
- Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33: 1870-1874.
- Librado, P.; Rosas, J. (2009) DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451-1452.
- Lopes, D.M. (2008) *Análises moleculares em Melipona rufiventris e Melipona mondury* (Hymenoptera: Apidae). 2008. Tese. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Lopes, D.M. (2004) *Diversidade e estrutura genética em populações de Melipona rufiventris e Melipona mondury* (Hymenoptera: Apidae) por análise de microssatélite. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 64p.
- Machado, A.B.M.; Fonseca, G.A.B.; Machado, R.B.; Aguiar, L.M.S.; Lins, L.V. (1998) *Livro vermelho das espécies ameaçadas de extinção da fauna de Minas Gerais*. Belo Horizonte, Biodiversitas.
- Melo, G.A.R. (2003) *Notas sobre meliponíneos neotropicais, com descrição de três novas espécies* (Hymenoptera, Apidae). In: Melo, G.A.R. e Alves-dos-Santos, I. *Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure*. Editora UNESC, Santa Catarina, Brasil. p 85-92.
- Michener, C.D. (2000) *The bees of the world*. London: The Johns Hopkins University Press, 913p.
- Moure, J.S.; Kerr, W.E. (1950) Sugestões para a modificação da sistemática do gênero *Melipona* (Hymen. – Apoidea). *Dusenya*, 1(2): 105-129.

- Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Fonseca, G.A.B.; Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- Nylander, J.A.A. (2004) mrModelTest v2. Program distributed by the autor. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Obiols, C.L.Y. (2008) O Gênero *Melipona* Illiger, 1806 em Minas Gerais – Identificação, Distribuição e Estado Atual da Conservação. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Pires, C.V. (2010) Filogenia de espécies *Melipona* do grupo *rufiventris*, com base em sequências de DNA mitocondrial. 2010. 52f. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Raad, L.P. (2017) Importância genética de populações manejadas para a conservação de *Melipona capixaba* Moure e Camargo 1994 e as consequências da hibridização com *Melipona scutellaris* Latreille 1811 (Hymenoptera: Apidae). Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Rambaut, A. (2009) FigTree, version 1.3.1. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rambaut, A.; Drummond, A. (2009) Tracer, Version 1.5. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>
- Resende, H.C. (2012) Filogeografia e conservação de *Melipona capixaba* Moure e Camargo, 1994 e *Melipona scutellaris* Latreille, 1811, e biogeografia do gênero *Melipona* Illiger, 1806 (Hymenoptera: Apidae). Tese. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Silva, F.O.; Tavares, M.G.; Batalha-Filho, H.; Waldschmidt, A.M.; Fernandes-Salomão, T.M.; Campos, L.A.O. (2007) Variabilidade genética em populações de abelhas do complexo *rufiventris* (Hymenoptera: Apidae, Meliponina) no Brasil. 53º Congresso Brasileiro de Genética. Águas de Lindóia, SP, Brasil.
- Silveira, F.A.; Campos, M.J.O. (1995) A melissofauna de Corumbataí (SP) e Paraopeba (MG) e uma análise da biogeografia das abelhas do Cerrado brasileiro (Hymenoptera, Apoidea). *Revista Brasileira de Entomologia*, 39(2): 371-401.
- Silveira, F.A.; Melo, G.A.R.; Almeida, E.A.B. (2002) Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Fundação Araucária: Belo Horizonte, 253p.
- Slaa, E.J.; Chaves, L.A.S.; Malagodi-Braga, K.S.; Hofstede, F.E. (2006) Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, 37: 293-315.
- Stephens, M.; Donnelly, P. (2003) A Comparison of Bayesian Methods for Haplotype Reconstruction from Population Genotype Data. *American Journal of Human Genetics*, 73(5): 1162–1169.
- Tavares, M.G.; Fernandes-Salomão, T.M.; Campos, L.A.O. (2007) Genetic divergence between populations of the stingless bee urucu amarela (*Melipona rufiventris* group, Hymenoptera, Meliponini): is there a new *Melipona* species in the Brazilian state of Minas Gerais? *Genetics and Molecular Biology*, 30(3): 667-675.

## CONCLUSÕES GERAIS

- ✓ A área de ocorrência de *M. rufiventris*, apesar de ampla, se encontra reduzida a alguns remanescentes de vegetação original rodeados por áreas com modificação no uso do solo pela agropecuária.
- ✓ O Cerrado possui muitas áreas prioritárias para conservação, mas o número de unidades de conservação do tipo proteção integral é muito pequeno e estão distribuídas de uma maneira que não contempla todos os tipos vegetacionais do bioma.
- ✓ Os modelos preditivos de distribuição apresentaram bom desempenho e alto poder preditivo. Mostrando adequação climática de parte da Mata Atlântica, o que não implica na ocorrência natural de *M. rufiventris* neste bioma e sim que é possível, como de fato ocorre que manejos para essa área sejam bem sucedidos.
- ✓ As populações de urucu amarela da Mata Atlântica são pertencentes à espécie diferente das populações encontradas no Cerrado, mas ambas são proximamente relacionadas.
- ✓ As análises genéticas demonstraram que as populações oriundas do noroeste de Minas correspondem estão filogeneticamente mais relacionadas com *M. flavolineata* de ocorrência no Tocantins e Maranhão, e menos relacionadas filogeneticamente com *M. rufiventris* e *M. mondury*, denotando um interessante caso filogenético a ser estudado.
- ✓ Todos os oito haplótipos encontrados são interessantes para a formação de populações de conservação a serem manejadas, com a finalidade de aumentar a abundância da espécie. Porém as áreas prioritárias para acolher tais populações seriam as atuais Unidades de Conservação e apenas duas do tipo proteção integral estão localizadas na área potencial de ocorrência de *M. rufiventris*: Parque Nacional da Serra da Canastra e o Parque Nacional Grande Sertão Veredas.