
**NAS ASAS DA IDENTIFICAÇÃO: USO DE MORFOMETRIA DA ASA EM
ESPÉCIES DE *Melipona***

Carlos de Melo e Silva-Neto, Anna Clara Chaves Ribeiro, Marco Antonio Pires Ferreira do Prado, Bruno Bastos Gonçalves, Flaviana Gomes Lima, Jaqueline Pinheiro da Silva e Abadia dos Reis Nascimento

RESUMO

O gênero *Melipona* apresenta maior riqueza de espécies de abelhas no Brasil, sendo que este grupo necessita de revisões taxonômicas. Devido às dificuldades na identificação precisa dos grupos de abelhas, vem sendo buscado metodologias para facilitar e aperfeiçoar a identificação das espécies. O objetivo deste trabalho é utilizar a morfometria das asas para realizar separação entre as espécies do gênero *Melipona*. Foram utilizadas cinco espécies do gênero, *Melipona* quadrifasciata; *M. rufiventris*; *M. mandacaia*; *M. marginata* e *M. fasciculata*, e utilizado a morfometria das vênulas das asas. Nove vên-

las foram medidas de cada indivíduo coletado, sendo seis das asas anteriores e três das asas posteriores. A morfometria das asas das diferentes espécies de *Melipona*, através da mensuração das vênulas, analisadas conjuntamente formam grupos por espécies. Para *Melipona* quadrifasciata, que apresenta quatro populações diferentes, os indivíduos das populações ficaram agrupados dentro da mesma espécie, não apresentando diferenças ao nível populacional. Sendo assim conclui-se que a morfometria de asas de abelhas é eficiente para diferenciar entre espécies do gênero *Melipona*.

Introdução

As abelhas de ferrão atrofiado, também conhecidas com abelhas sem ferrão, são conhecidas pela capacidade de determinadas espécies para produzir mel e ação como

polinizador (Santos, 2010; Damasia-Gomes *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2015). Dentre as abelhas sem ferrão, o gênero *Melipona* apresenta maior riqueza de espécies no Brasil (Silva e Paz, 2012; Silva *et al.*, 2014).

As *Melipona* apresentam distribuição neotropical, sendo encontradas do México à Argentina, e atualmente sendo definidas 74 espécies diferentes, com possibilidade de novas dez espécies, sendo que no Brasil ocorrem pelo menos

40 espécies (Michener, 2007; Camargo e Vit, 2013; Pedro, 2014). Silveira *et al.* (2002) destaca que a definição de espécies neste grupo foi conservadora, uma vez que é possível verificar várias unidades naturais que podem ser

PALAVRAS CHAVE / Alas / Gênero / Identificação / *Melipona* / Taxonomia / Vênulas /

Recebido: 30/10/2015. Modificado: 20/07/2016. Aceito: 21/07/2016.

Carlos de Melo e Silva-Neto. Tecnólogo em Agroecologia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás (IFG). Endereço: Quartel do XX, Praça Brasil, Ramos Caiado, S/N, Centro. CEP: 76600-000. Goiás, GO, Brasil. e-mail: carloskoa@gmail.com
Anna Clara Chaves Ribeiro. Graduanda em Ecologia e

Análise Ambiental, Universidade Federal de Goiás (UFG), Brasil.
Marco Antonio Pires Ferreira do Prado. Graduação em Ciências Biológicas, UFG, Brasil. Mestrando em Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brasil.
Bruno Bastos Gonçalves. Graduação em Ciências Bio-

lógicas e Mestrado em Ecologia e Evolução UFG, Brasil. Doutor em Biologia de Organismos Aquáticos, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Brasil.
Flaviana Gomes Lima. Graduanda em Ecologia e Análise Ambiental, UFG, Brasil.
Jaqueline Pinheiro da Silva. Graduação em Engenharia

Florestal, UFG, Brasil. Mestranda em Ciências Florestal, UNESP, Brasil.
Abadia dos Reis Nascimento. Doutora em Agronomia, UFG, Brasil. Professora, UFG, Brasil.

ON THE WINGS OF IDENTIFICATION: USE OF WINGS MORPHOMETRY IN *Melipona* SPECIES

Carlos de Melo e Silva-Neto, Anna Clara Chaves Ribeiro, Marco Antonio Pires Ferreira do Prado, Bruno Bastos Gonçalves, Flaviana Gomes Lima, Jaqueline Pinheiro da Silva and Abadia dos Reis Nascimento

SUMMARY

The *Melipona* genus has the highest bee species richness of in Brazil, and the group needs taxonomic revision. Due to the difficulties in identifying bee groups, methods to facilitate and improve the identification of species are sought. This work aims to utilize the wing morphometry to differentiate between *Melipona* species. Five species of the genus were studied: *Melipona* quadrifasciata; *M. rufiventris*; *M. mandacaia*; *M. marginata* and *M. fasciculata*, and the morphometry of wing venules was used. Nine venules were measured in each collected indi-

vidual, six of forewings and three hindwings. The morphometry of wings of different species of *Melipona*, leads to groups of species upon measuring the venules and analyzing them together. For *Melipona* quadrifasciata, which features four different populations, individuals of these populations were grouped within the same species, with no significant differences at the population level. Thus, it is concluded that the morphology of bee wings is efficient to distinguish between species of the genus *Melipona*.

EN LAS ALAS DE LA IDENTIFICACIÓN: EL USO DE LA MORFOMETRÍA DE LAS ALAS EN ESPECIES DE *Melipona*

Carlos de Melo e Silva-Neto, Anna Clara Chaves Ribeiro, Marco Antonio Pires Ferreira do Prado, Bruno Bastos Gonçalves, Flaviana Gomes Lima, Jaqueline Pinheiro da Silva y Abadia dos Reis Nascimento

RESUMEN

El género *Melipona* tiene la mayor riqueza de especies de abejas en Brasil, y el grupo necesita revisiones taxonómicas. Debido a las dificultades para la identificación precisa de los grupos de abejas, se ha buscado métodos para facilitar y mejorar la identificación de las especies. El objetivo de este estudio es el uso de la morfología de las alas para distinguir entre las especies del género *Melipona*. Cinco especies del género fueron estudiadas: *Melipona* quadrifasciata; *M. rufiventris*; *M. mandacaia*; *M. marginata* y *M. fasciculata*, empleando la morfometría de vénulas de las alas. Nueve vénulas se midieron en

cada individuo recolectado, seis de las alas anteriores y tres de las alas posteriores. La morfometría de las alas de las diferentes especies de *Melipona*, obtenida mediante la medición de las vénulas y analizada en conjunto, permite formar grupos de especies. Para *Melipona* quadrifasciata, que cuenta con cuatro poblaciones diferentes, los individuos de las poblaciones se agruparon dentro de la misma especie, sin diferencias significativas en el nivel de la población. Se concluye que la morfología de las abejas alas es eficiente para distinguir entre especies del género *Melipona*.

consideradas como espécies. Também, o mesmo autor reforça a necessidade de revisão e melhorias taxonômicas para o gênero *Melipona*. Além disto, há grande desafio na formação e interesse de taxonomistas para os grupos de abelhas e outros insetos, tornando as espécies ainda mais distantes da correta identificação (Marques e Lamas, 2006).

Devido às dificuldades na identificação precisa dos grupos de abelhas, vem sendo buscado metodologias para facilitar e aperfeiçoar a identificação das espécies. Dentre as metodologias, inspirada no papel do taxonomista, a utilização de características morfológicas dos grupos são utilizadas em diversos aspectos como tamanho e formas de estruturas como patas, asas, antenas e abdômen (Marchi e Melo, 2006 e Melo, 2006). Uma das estru-

turas mais utilizadas em medições são as asas, uma vez que são facilmente mensuradas sem necessitar equipamentos específicos ou causar grande dano a abelha, além de serem estruturas morfológicas relevantes para insetos eussociais que voa, não apresentando variações consideráveis dentro da mesma espécie (Bueno, 2010).

A morfometria das asas de abelhas baseada na mensuração das diferentes venações é suficientemente precisa para discriminar abelhas ao nível de espécie, facilitando assim a definição destes grupos (Francoy *et al.*, 2009). A morfometria de asas de abelhas surgiu para distinguir sub-espécies de *Apis mellifera*, sendo que percebido a sua acurácia para determinar sub-espécies, passou a ser utilizada em espécies diferentes de definição taxonomia mais complexa (Tofilski, 2008). Em

outras aplicações, a morfometria das asas é utilizada para distinguir grupos de espécies a nível populacional, identificando com precisão abelhas de populações diferentes (Lima-Junior *et al.*, 2015). O objetivo deste trabalho é utilizar a morfometria das asas para realizar separação entre as espécies do gênero *Melipona*: *M. Quadrifasciata*, *M. Rufiventris*, *M. Mandacaia*, *M. marginata* e *M. fasciculata*.

Materiais e Métodos

Espécies e coletas

As espécies utilizadas são do gênero *Melipona*, sendo *M. quadrifasciata* (Lepeletier) (mandacaia); *M. rufiventris* Lepeletier, 1836 (urucu-amarela); *M. mandacaia* Smith, 1863 (mandacaia-da-bahia); *M. marginata* Lepeletier, 1836

(manduri) e *M. fasciculata* Smith, 1854 (tiúba). As espécies foram criadas em caixas racionais no meliponário da Universidade Federal de Goiás (16°35'33.66''S e 49°17'27.41''O, altitude 725msnm). As espécies de *Melipona* apresentam ampla distribuição no território brasileiro exceto para *M. fasciculata*, que apresenta distribuição restrita a região Norte do país (bioma Amazônia) e *M. mandacaia*, que apresenta distribuição restrita no Nordeste brasileiro (bioma Caatinga) (Batalha-Filho *et al.*, 2011).

Ao todo foram coletadas cerca de 20 abelhas por caixa racional, sendo uma caixa racional por espécie, exceto para *M. quadrifasciata*, que foram utilizadas quatro caixas racionais diferentes (n=80), para assim verificar a diferença entre populações diferentes. Dentre todas as espécies, foram uti-

lizados ~160 indivíduos que foram depositadas na coleção entomológica do laboratório de biologia reprodutiva de plantas, Universidade Federal de Goiás.

As coletas foram realizadas em março 2015, ao final da estação chuvosa na área. As abelhas foram coletadas com auxílio de sugador entomológico e mortas em câmara mortífera com acetato de etila (Potts *et al.*, 2005; Melo-Silva *et al.*, 2013).

Medições das asas

Em laboratório, as asas anteriores e posteriores do lado esquerdo e direito de cada indi-

víduo foram removidas com auxílio de tesoura entomológica de dissecação. Com o conjunto de asas por espécime foi feito lâmina permanente e tirado foto utilizando microscópio estereoscópico LEICA com câmera acoplada em aumento de 12x.

Utilizando o programa ImageJ (Abramoff *et al.*, 2004) foram medidas nove vênulas das asas de cada indivíduo coletado, sendo seis das asas anteriores (medidas de 1 a 8) e três das asas posteriores (medidas de 9 a 11; Figura 1). As asas foram medidas em dois diferentes momentos e realizada a média das duas medições para reduzir o erro na medi-

ção. A numeração original foi mantida baseado nas vênulas de *Eulaema nigrita* (Pinto *et al.*, 2015), sendo que para as espécies do gênero *Melipona*, duas destas vênulas são ausentes.

Análises estatísticas

Para verificar as relações entre as medidas dos diferentes segmentos e diferentes espécies de *Melipona* foi realizado análise dos componentes principais (matriz de covariância) com significância estatística de 95%. Também foi realizado análises de agrupamento de cluster utilizando distância euclidiana e *bootstrap* com 10000x para verificar a força da cada ligação entre os grupos (adaptado de Melo *et al.*, 2015).

Com o tamanho de todas as vênulas das espécies foi realizado média e comparação múltipla de Tukey com nível de significância estatística de 95% para evidenciar a diferença de tamanho das asas e consequentemente da abelha.

Resultados e Discussão

A morfometria das asas das diferentes espécies de *Melipona*, através da mensuração das vênulas, analisadas conjuntamente formam grupos por espécies (Figura 2). Para *Meli-*

pona quadrifasciata, que apresenta quatro populações diferentes, os indivíduos das populações ficaram agrupados dentro da mesma espécie, não apresentando diferenças ao nível populacional.

Dentre as nove vênulas mensuradas, a comparação da primeira e segunda vênula entre as espécies já é o suficiente para diferenciar os grupos, uma vez que primeira e segunda vênula apresentam 90,93% da variância entre indivíduo e espécie (Figura 2). Acima de quatro vênulas, as variáveis já não apresentam significância estatística (ao nível de significância de 95%).

A morfometria das asas evidencia proximidades morfológicas dentre as espécies de *Melipona*, mesmo em espécies de tamanhos diferentes. A *M. mandacaia* (3mm) e a *M. rufiventris* (Figura 3, 9mm; Melo *et al.*, 2003), apresentam tamanhos diferentes, sendo a *M. rufiventris* uma espécie maior que a *M. mandacaia*. Além disto, a *M. mandacaia* é uma espécie de origem do bioma Caatinga, já *M. rufiventris* apresenta ampla ocorrência no Brasil.

Entre as espécies de *Melipona*, *M. quadrifasciata* e *M. mandacaia* são comumente confundidas entre meliponicul-

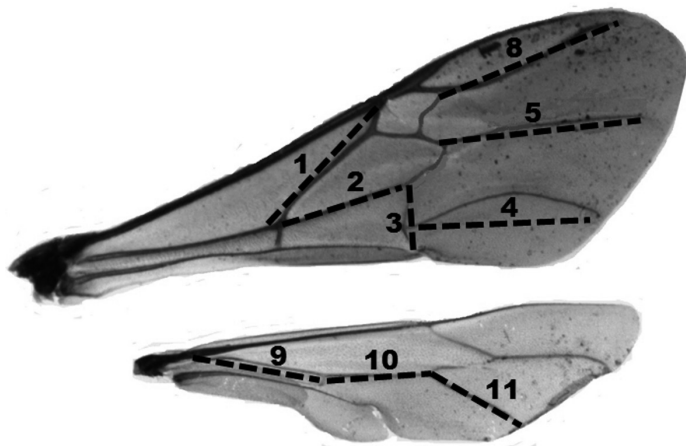


Figura 1. Modelo dos segmentos das asas de *Melipona quadrifasciata* mensurados.

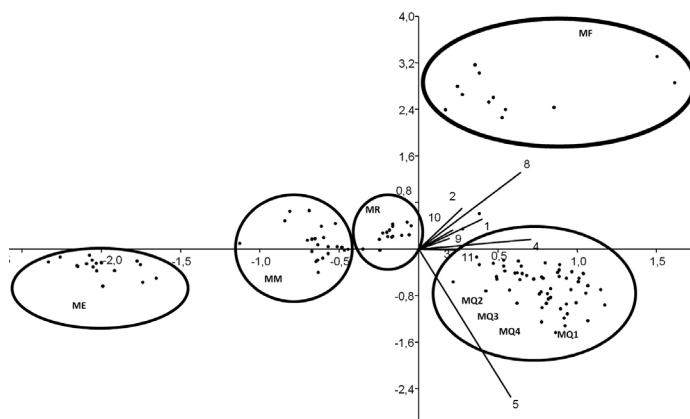


Figura 2. Análise dos componentes principais do tamanho das vênulas das diferentes espécies do gênero *Melipona* (ME: *Melipona marginata*, MM: *M. mandacaia*, MR: *M. rufiventris*, MQ1-MQ4: populações diferentes de *M. quadrifasciata*, MF: *M. fasciculata*). Vênula 1: autovalor= 0,601; variância= 76,99%. Vênula 2: autovalor= 0,108; variância= 13,94%. Vênula 3: autovalor= 0,028; variância= 3,60%. Vênula 4: autorvalor= 0,016; variância= 2,10%. Vênula 5: autovalor= 0,008; variância= 1,03%.

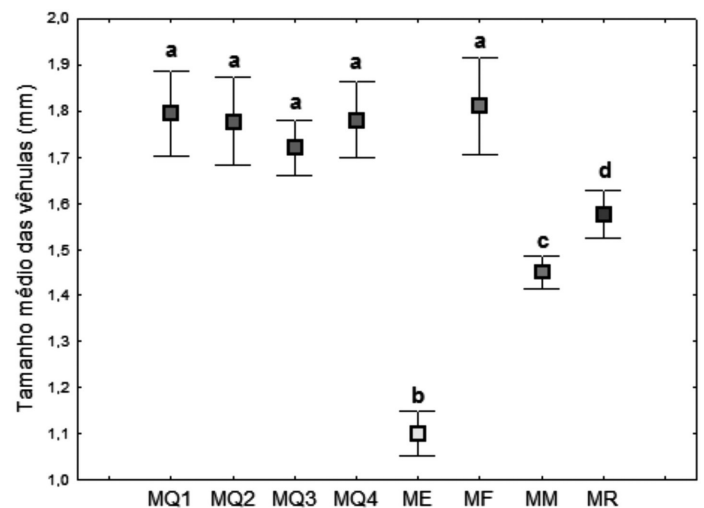


Figura 3. Tamanho médio das vênulas das espécies de *Meliponas* (ME: *Melipona marginata*, MM: *M. mandacaia*, MR: *M. rufiventris*, MQ1-MQ4: populações diferentes de *M. quadrifasciata*, MF: *M. fasciculata*). Letras diferentes indicam significância estatística diferente. Tamanho médio evidenciado com média e desvio padrão.

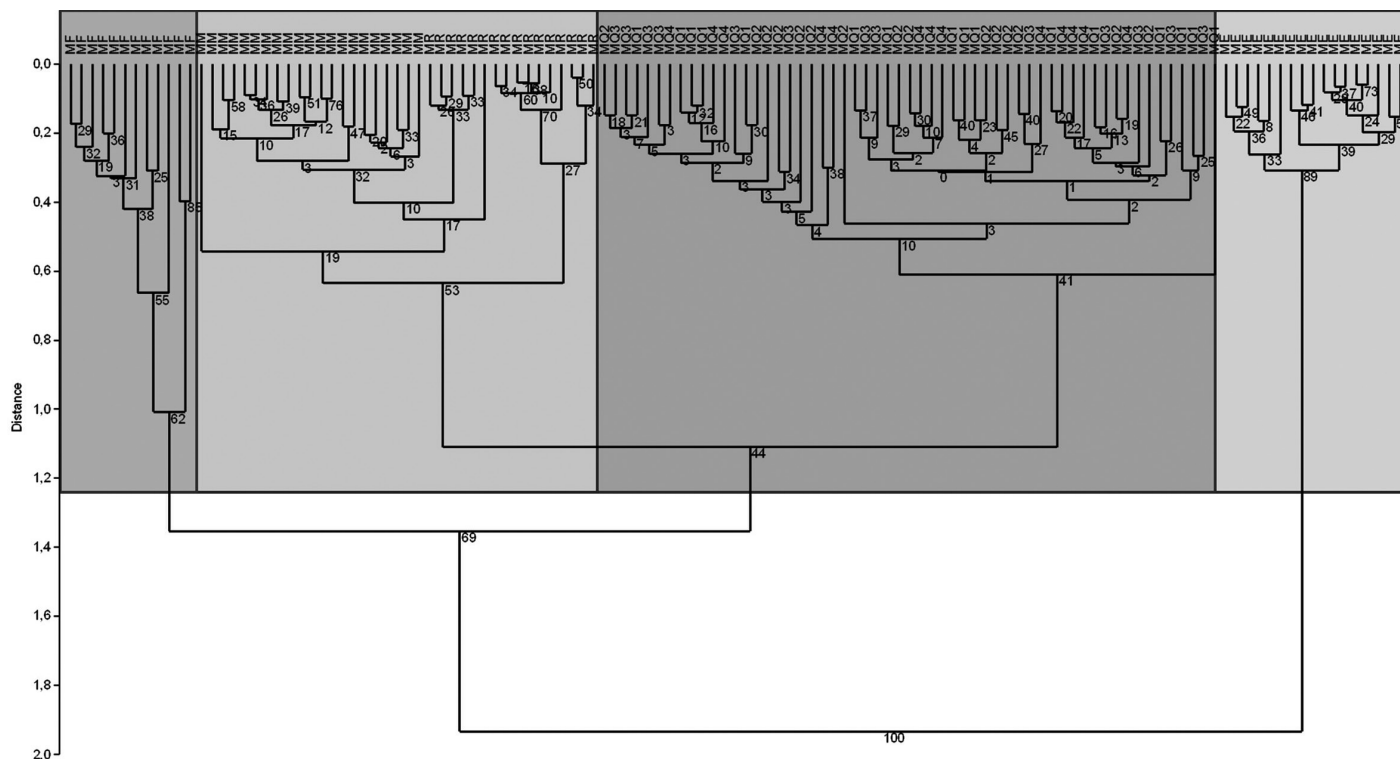


Figura 4. Análise de agrupamento utilizando distância euclidiana com *bootstrap* de 10000× (coeficiente cofenético: 0,90).

torez, porém utilizando a morfometria da asa, formaram grupos bem distintos.

Já no agrupamento das espécies, utilizando distância euclidiana, os principais grupos formados foram para *M. emarginata* (valor do nó= 89) e *M. fasciculata* (valor do nó= 62) (Figura 4). Já para os outros grupos foi formado um grupo maior, sem força entre as ligações, porém a *M. quadrifasciata* (todas as quatro populações) formaram um grupo e *M. mandacaia* e *M. rufiventris* outro grupo, assim como o evidenciado na análise dos componentes principais.

Segundo Bonfim *et al.* (2014), utilizando marcadores moleculares de DNA, a *M. mandacaia* e *M. quadrifasciata* fazem parte do sub-gênero *Melipona* (*sensu stricto*); assim pela proximidade com o grupo, é provável que *M. rufiventris* também seja do mesmo grupo. Já *M. fasciculata* é do sub-gênero *Melikerria*.

Lima-Junior *et al.* (2015) conseguiram evidenciar para *M. scutellaris*, a diversidade morfológica existente tanto

entre as colônias dentro da mesma localidade quanto entre colônias de localidades diferentes, possibilitando diferenciar abelhas originárias de um fragmento de Mata Atlântica e de um fragmento de mata semidecidual. Para determinados grupos de *Melipona*, como *M. quadrifasciata*, há sub-espécies, o que torna mais específica a identificação correta.

Tavares *et al.* (2013) destaca a dificuldade de identificar a sub-espécie dependendo somente de uma característica morfológica, como no caso a coloração das listas no metassoma da abelha. Neste caso, os mesmos autores, utilizaram marcadores moleculares para realizar uma identificação precisa dos grupos. Já Ferreira *et al.* (2011), utilizando morfometria de asas de *Centris aenea* Lepeletier (Apidae), não encontra diferenças entre distintas populações da abelhas em diferentes culturas da acerola (*Malpighia emarginata*).

A correta identificação das espécies e sub-espécies de determinadas espécies de *Melipona* é de suma importância para os

meliponicultures, uma vez que há grande variação na produtividade de mel e crescimento da própria colônia entre as espécies. Além disto, espécies diferentes apresentam condições e adaptações para condições climáticas diferentes (Silva *et al.*, 2014; Damasia-Gomes *et al.*, 2015).

O uso de morfometria das asas de *Melipona* vem como uma ferramenta mais para auxiliar a taxonomia das espécies, além de poder ser utilizada juntamente com outras características morfológicas para definição da filogenia do grupo, aliado com outras características como marcadores moleculares, comportamento e ecologia das espécies. A morfometria possibilita a utilização de poucas medidas da asa, para uma definição precisa da espécie, facilitando a determinação e conhecimento de abelhas coletadas, assim podendo ser utilizada na conservação das espécies.

É relevante para este trabalho que outras espécies do gênero *Melipona* sejam adicionadas ao agrupamento, para

verificar o padrão para todo o gênero. Além disto, a técnica permite verificar diferença entre populações diferentes, podendo assim relacionar a população a condições ambientais como degradação do habitat, fragmentação, efeitos de agrotóxicos e outros.

Conclusão

A morfometria das vênulas das asas de abelhas é eficiente para diferenciar entre espécies do gênero *Melipona*.

REFERÊNCIAS

- Abramoff MD, Magalhaes PJ, Ram SJ (2004) Image processing with ImageJ. *Biophotonics Int.* 11: 36-42.
- Batalha-Filho H, Waldschmidt AM, Alves RMO (2011) Distribuição potencial da abelha sem ferrão endêmica da caatinga, (Hymenoptera, Apidae) *Melipona mandacaia*. *Magis.* 3: 129-133.
- Bonfim IGA, Freitas BM, Venturieri GC, Melo-Jorge DM, Lobo MDP, Torres DC, Grangeiro TB (2014) Contribuição à filogenia de abelhas *Melipona* com uso de sequências parciais da região ITS1 do

- nrDNA. *Rev. Acad. Ciênc. Agr. Ambient.* 12: 249-259.
- Bueno JF (2010) *Sistema Automatizado de Classificação de Abelhas Baseado em Reconhecimento de Padrões*. Tese. Universidade de São Paulo. Brasil. 183 pp.
- Camargo JMF, Vit P (2013) Historical biogeography of the meliponini (Hymenoptera, Apidae, Apinae) of the Neotropical Region. Em Vit P, Pedro SR, Roubik D Pot-Honey: A Legacy of Stingless Bees. Springer. Nova York, EEUU. 654 pp.
- Camargo JMF, Pedro SRM (2013) Meliponini Lepeletier, 1836. Em Moure JS, Urban D, Melo GAR (Orgs.) *Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region*. Online version. www.moure.cria.org.br/catalogue. (Cons. 15/10/2015).
- Damasia-Gomes L, Faleiro KM, Santos SO, Guimaraes LE, Silva-Neto CM (2015) Physical-chemical characteristics of honey on Brazil. *Enciclop. Biosf.* 11(2): 670-682.
- Ferreira VS, Aguiar CML, Costa MA, Silva JG (2011). Morphometric analysis of populations of *Centris aenea* lepeletier (hymenoptera: apidae) from Northeastern Brazil. *Neotrop. Entomol.* 40: 97-102.
- Francoy TM, Imperatriz-Fonseca VL (2010) A morfometria geométrica de asas e a identificação automática de espécies de abelhas. *Oecol. Austr.* 14: 317-321.
- Francoy TM, Silva RAO, Nunes-Silva P, Menezes C, Imperatriz-Fonseca VL (2009) Gender identification of five genera of stingless bees (Apidae, Meliponini) based on wing morphology. *Genet. Molec. Res.* 8: 207-214.
- Francoy TM, Grassi ML, Imperatriz-Fonseca VL, May-Itzá, WJ, Quezada-Euán JJG (2011) Geometric morphometrics of the wing as a tool for assigning genetic lineages and geographic origin to *Melipona beecheii* (Hymenoptera: Meliponini). *Apidologie* 42: 499-507.
- Lima Junior CA, Carvalho CAL, Nunes LA, Francoy TM (2012) Population divergence of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Meliponina) in two restricted areas in Bahia, Brazil. *Sociobiology* 59: 107-121.
- Lima-Junior CA, Carvalho CAL, Nunes LA, Santos WDS (2015) Variação morfométrica entre populações disjuntas de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). *Inter-ciencia* 40: 324-329.
- Marques AC, Lamas CJE (2006) Taxonomia zoológica no Brasil: estado da arte, expectativas e sugestões de ações futuras. *Pap. Avulsos Zool.* 46(13): 139-174.
- Marchi P, Melo GA (2006) Revisão taxonômica das espécies brasileiras de abelhas do gênero *Lestrimelitta* Friese (Hymenoptera, Apidae, Meliponina). *Rev. Bras. Entomol.* 50: 6-30.
- Melo-Silva C, Gomes FL, Gonçalves BB, Bergamini L, Bergamini B, Elias MAS, Franceschinelli EV (2013) Native bees pollinate tomato flowers and increase fruit production. *J. Pollinat. Ecol.* 11: 41-45.
- Melo APC, Fernandes PM, Venturoli F, Silva-Neto CM, Rubio-Neto A (2015) Morphoagronomic characterization of tomato plants and fruit: A multivariate approach. *Adv. Agric.* 1-6.
- Michener CD (2007) *The Bees of the World*. 2a ed. Johns Hopkins University. Baltimore, MD, EEUU. 992 pp.
- Pedro SR (2014) The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology* 61: 348-354.
- Pinto NS, Silva DP, Guinato J, De Marco P (2015) The size but not the symmetry of the wings of *Eulaema nigrita* Lepeletier (Apidae: Euglossini) is affected by human-disturbed landscapes in the Brazilian Cerrado Savanna. *Neotrop. Entomol.* 44: 439-447.
- Potts SG, Kevan PG, Boone JW (2005) Conservation in Pollination: collecting, surveying and monitoring. Em Dafni A, Kevan P, Husband C (Eds.) *Practical Pollination Biology*. Enviroquest. Cambridge, Canadá. pp. 401-434.
- Ribeiro ACC, Silva-Neto CM, Gonçalves BB, Mesquita-Neto JN, Melo APC, Buzin EJWK (2015) Economic value of bee pollination in crop production in the State of Goiás. *Enciclop. Biosf.* 11(22): 3592-3603.
- Santos AB (2010) Abelhas nativas: polinizadores em declínio. *Nat. online*, 8: 103-106.
- Silva e Paz (2012) Silva WP, Paz JRL (2012) Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. *Nat. online*. 10(03), 146-152.
- Silva GR, Mello-Pereira F, Almeida-Souza B, Rego-Lopes MT, Campelo JEG, Diniz FM (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. *Arq. Inst. Biol.* 81: 299-308.
- Silveira FA, Melo GA, Almeida EA (2002) *Abelhas Brasileiras. Sistemática e Identificação*. Araucária, Belo Horizonte, Brasil. 254 pp.
- Tavares MG, Pietrani NT, Durvale MDC, Resende HC, Campos LADO (2013) Genetic divergence between *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, apidae) populations. *Gen. Molec. Biol.* 36: 111-117.
- Tofilski A (2008) Using geometric morphometrics and standard morphology to discriminate three honeybee subspecies. *Apidologie* 39: 558-563.