

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO

***Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE):
DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL, VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA E
DIVERSIDADE GENÉTICA**

CRISTOVAM ALVES DE LIMA JUNIOR

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

OUTUBRO - 2015

***Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE):
DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL, VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA E
DIVERSIDADE GENÉTICA**

CRISTOVAM ALVES DE LIMA JUNIOR

Engenheiro Agrônomo

Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia, 2006.

Tese submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof^o Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

Coorientadora: Prof^a Dr^a. Ana Maria Waldschmidt

Coorientador: Prof^o Dr. Eddy José Francisco de Oliveira

Coorientadora: Prof^a Dr^a. Geni da Silva Sodré

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - 2015

FICHA CATALOGRÁFICA

L732m	<p>Lima Junior, Cristovam Alves de. <i>Melipona asilvai</i> Moure, 1971 (Hymenoptera: Apidae): distribuição potencial, variação morfométrica e diversidade genética / Cristovam Alves de Lima Junior._ Cruz das Almas, BA, 2015. 72f.; il.</p> <p>Orientador: Carlos Alfredo Lopes de Carvalho.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Abelha sem ferrão – Criação. 2.Abelha sem ferrão – Ecologia – Comportamento. 3.Diversidade biológica – Conservação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 638.1</p>
-------	---



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE
CRISTOVAM ALVES DE LIMA JÚNIOR

Membro Presidente: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
Instituição: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Orientador

Membro Externo à Instituição: Prof. Dr. Bruno de Almeida Souza
Instituição: Embrapa Meio Norte

Membro Externo à Instituição: Prof. Dr. Edilson Divino Araújo
Instituição: Universidade Federal de Sergipe

Membro Externo à Instituição: Prof. Dr. Gilberto Marcos de Mendonça Santos
Instituição: Universidade Estadual de Feira de Santana

Membro Interno do Programa: Profa. Dra. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa
Instituição: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Homologada em / / .

Aos meus amados filho Kaique e esposa Marília

Aos meus pais Cristovam e Edna

A minha irmã Ravena

Por todo incentivo, companheirismo, respeito, paciência e amor dispensado,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, força e discernimento nos momentos difíceis.

Ao Professor Carlos Alfredo Lopes de Carvalho por toda dedicação, orientação, incentivo, ensinamentos e amizade.

A Professora Ana Maria Waldschmidt pela amizade, orientação, ensinamentos e atenção dedicada.

Ao Professor Eddy José Francisco de Oliveira, pela orientação, ensinamentos, disponibilidade e amizade.

A Professora Geni da Silva Sodré pela amizade, orienta o e incentivo.

Ao professor Rogério Marcos de Oliveira Alves pelos ensinamentos.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia pela oportunidade.

A Funda o de Amparo   Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) pelo financiamento da pesquisa (Termo de Outorga n  PET0046/2012).

Aos meus colegas de curso pelo convívio e amizade.

Aos professores do Programa de Pós-gradua o em Ciências Agrárias pelos ensinamentos.

Aos amigos do grupo Insecta, pelo convívio, respeito e todo auxílio no desenvolvimento do trabalho, em especial   Cerilene, Francielle, Flaviane, Jéssica, Larissa, Maiara e Polyana.

Aos colegas dos laboratórios de biologia molecular da UESB e UEFS, em especial Marcos Viana e Neto pela aten o, disponibilidade e auxílio nas análises.

Ao amigo Marcio Pires por toda a disponibilidade.

Aos amigos Carlos Antonio e Lenilson pelo incentivo e auxílio no trabalho

A Dra. Lorena Andrade Nunes pela disponibilidade e ensinamentos.

A minha sogra Marlene, meu sogro Paulo e cunhadas pelo valoroso acolhimento, respeito, compreensão e amizade.

Aos amigos da UFRB Karina, Lucas, Luan, Elielson, Luiz Edmundo, Erivaldo e Luiz pelo convívio, amizade e incentivo.

Ao Instituto Federal do Piauí na pessoa do professor Miguel Antonio Rodrigues pelo apoio e compreensão.

A Antonio Helder pela grande amizade, apoio e incentivo.

A todos os meus amigos pelo apoio, incentivo e confiança.

E a todos que contribuir am para a realiza o deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	09
Capítulo 1	
MODELAGEM DA DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE <i>Melipona asilvai</i> MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE).....	17
Capítulo 2	
VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA EM <i>Melipona asilvai</i> MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE)	31
Capítulo 3	
DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE <i>Melipona asilvai</i> MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE)	45
CONSIDERAÇÕES FINAIS	65
ANEXO	68

***Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE): DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL, VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA E DIVERSIDADE GENÉTICA**

Autor: Cristovam Alves de Lima Junior

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

RESUMO: O evidente declínio de espécies polinizadoras como as abelhas causado por mudanças climáticas, fragmentação de habitats e manejo inadequado, assim como, a escassez de informações sobre distribuição, dinâmica e diversidade populacional desses indivíduos, tornam necessários estudos para subsidiar programas de manejo e conservação dessas espécies. Dentre essas espécies, as abelhas sem ferrão (meliponíneos) desempenham papel fundamental na polinização de espécies nativas e cultivadas, além de serem criadas em diversas comunidades rurais para incremento de renda dos produtores pela comercialização de seus produtos como o mel. Apesar de tal importância, espécies como a *Melipona asilvai* Moure, 1971, ainda são criadas de modo extrativista o que tem resultado na redução de colônias e consequente perda de diversidade. Neste contexto, os objetivos deste trabalho foram identificar as áreas de ocorrência natural e potencial distribuição de *M. asilvai*, além de avaliar suas variações morfométricas e diversidade genética. A distribuição potencial da *M. asilvai* foi estimada a partir de registros de ocorrência natural desta espécie. As variações morfométricas e diversidade genética da espécie foram realizadas respectivamente com técnicas de morfometria geométrica e utilização de marcadores microssatélites em amostras de 32 localidades de ocorrência natural dessa abelha. *Melipona asilvai* possui distribuição restrita na região semiárida brasileira e apresenta variações morfométricas e diversidade genética ao longo da sua área de ocorrência natural, sendo as diferenças associadas a variações ambientais e distâncias geográficas entre as populações.

Palavras-chaves: Conservação; morfometria geométrica; genética populacional.

***Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE): POTENTIAL DISTRIBUTION, MORPHOMETRIC VARIATION AND GENETIC DIVERSITY**

Author: Cristovam Alves de Lima Junior

Adviser: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

ABSTRACT: The marked decline of pollinators, such as bees, caused by climate change, habitat fragmentation, and improper management, as well as the scarcity of information on their distribution, population dynamics, and species diversity, make it necessary to carry out studies to support programs targeted at their management and conservation. Stingless bees (meliponines) play a fundamental role in the pollination of native and cultivated plants. In addition, they are bred in several rural communities to improve their income through the trade of products, such as the honey. In spite of such an importance, species like *Melipona asilvai* Moure, 1971, are still bred in an extractivist way, which has resulted in the decrease of colonies and, consequently, diversity loss. In the present study we aimed at identifying the areas of natural occurrence, estimating the potential distribution of *M. asilvai*, and assessing its morphometric variations and genetic diversity. We estimated the potential distribution of *M. asilvai* based on records of natural occurrence. We assessed morphometric variation through geometric morphometry techniques and genetic diversity through microsatellite markers, using samples from 32 localities of natural occurrence. *Melipona asilvai* is restricted to the Brazilian semi-arid region, and this species shows morphometric and genetic variations over its geographic range. These variations are associated with environmental gradients and the geographic distance between populations.

Key- words: Conservation; geometric morphometrics; population genetics.

INTRODUÇÃO

No semiárido ocorre predominância do bioma Caatinga, que é o único ecossistema exclusivamente brasileiro composto por um mosaico de florestas secas e vegetação arbustiva com enclaves de florestas úmidas, montanhas e cerrados (TABARELLI; SILVA, 2003). Este ambiente é caracterizado pelo seu alto grau de endemismo florístico (PRADO, 2003), além de elevado endemismo de espécies da apifauna que possuem interações específicas com sua flora, sendo estas a polinização das espécies vegetais até a obtenção de recursos alimentares e recursos utilizados na construção de ninhos (ZANELLA; MARTINS, 2003). Apesar da sua importância, a Caatinga é o ecossistema brasileiro mais negligenciado quanto à conservação de sua biodiversidade (ZANELLA; MARTINS, 2003).

De forma mais específica, a conservação da Caatinga é importante para manutenção dos padrões regionais e globais do clima, da disponibilidade de água potável, de solos agricultáveis e de parte importante da biodiversidade do planeta. (TABARELLI; SILVA, 2003).

Considerando a conservação ambiental Imperatriz-Fonseca et al. (2012), destacam que os polinizadores estão diretamente associados às espécies das plantas locais de determinado bioma e a ação desses polinizadores é de suma importância para a produção agrícola e para a conservação do ambiente.

Dentre os polinizadores, as espécies de abelhas sem ferrão possuem destaque por serem responsáveis por 40 a 90% da polinização das árvores nativas (KERR et al., 1996). Além do fator ecológico, a criação dessas abelhas se constitui em uma atividade tradicional em quase todas as regiões do Brasil, merecendo destaque às espécies pertencentes ao gênero *Melipona*, criadas por pequenos e médios produtores (ALVES et al., 2007).

No bioma Caatinga, a abelha sem ferrão *Melipona asilvai* é criada por pequenos produtores de modo extrativista, sendo geralmente encontrada em cortiços ou caixas sem padrão, o que dificulta a exploração racional e resulta em perdas de colônias (SOUZA et al., 2008).

No Estado da Bahia, a *M. asilvai* possui registro de ocorrência em diferentes pontos, tais como: no município de Barra, nas dunas de Ibiraba (NEVES E VIANA 2002); município de Itatim (AGUIAR, 2003); município de Boninal na Chapada Diamantina (CASTRO, 2005); município de Jequié na região sudoeste da Bahia (BATALHA-FILHO et al., 2007); além dos municípios de Tucano na região nordeste e Itaberaba no Piemonte do Paraguaçu (SOUZA et al., 2008). Apesar destes registros Souza et al. (2009) relatam que as informações existentes sobre esta espécie em seu ambiente são fruto de observações da população local.

Programas de manejo e conservação de melíponas podem ser subsidiados com informações sobre a distribuição geográfica considerando seus limites e o panorama desta distribuição, que para estas espécies, são difíceis devido à insuficiência e baixa representatividade de amostragem, tendo como alternativa a modelagem da distribuição geográfica potencial com algoritmos que utilizam sistemas de informações geográficas (BATALHA-FILHO et al., 2011). Alguns algoritmos têm sido aplicados para criar modelos que representam condições ambientais requeridas pelas espécies e que podem ser projetados sobre um mapa que exhibe as áreas potenciais de ocorrência dessas espécies (GIANNINI et al., 2012).

Entre os algoritmos, o MaxEnt apresenta destaque, pois associa informação ambiental da área em estudo a dados de presença da espécie (PHILLIPS et al., 2006), que podem ser adquiridos *in loco*, através de levantamentos em áreas alvo, fornecendo dados inéditos à análise e/ou por meio de fontes de dados já publicados (GIANNINI et al., 2012).

Associados às informações sobre a distribuição das espécies, estudos populacionais poderão contribuir para o manejo e conservação dos meliponíneos. Neste contexto, trabalhos com técnicas de morfometria e biologia molecular são utilizadas para caracterização morfológica e de diversidade genética de populações de melíponas (MENDES et al., 2007; NUNES et al., 2008; BATALHA-

FILHO et al., 2010; FRANCOY et al., 2011; LIMA JUNIOR et al., 2012; NUNES et al., 2013).

Para análise de variações morfológicas, a morfometria geométrica apresenta importantes ferramentas que oferecem perspectivas promissoras para diversas problemáticas como o estudo de padrões de biodiversidade (ALIBERT et al., 2001). Nesta técnica, o primeiro passo é a definição de uma estrutura e os marcos anatômicos que sejam homólogos entre os organismos em estudo (MONTEIRO; REIS, 1999). Em abelhas as asas são comumente utilizadas nas análises morfométricas por serem estruturas bastante planas e pela facilidade de mensuração do tamanho e da forma (DINIZ-FILHO, BINI, 1994; NUNES et al., 2007).

Na morfometria geométrica, a partir dos marcos anatômicos são geradas coordenadas x e y, o tamanho do centroide e as deformações parciais e relativas que compõem a matriz de dados que são utilizadas nas várias análises multivariadas (ROHLF, 2008).

Outro método utilizado 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 os marcadores microssatélites são muito utilizados em estudos populacionais com melíponas (CARVALHO-ZILSE, KERR, 2006; FRANCINI et al., 2009; LOPES et al., 2010; TAVARES et al., 2013a; TAVARES et al., 2013b; VIANA et al., 2013).

Os marcadores microssatélite, ou repetições de sequências simples (SSR), são uma classe de DNA repetitivo composto de pequenas sequências de 1 a 4 nucleotídeos repetidos em tandem que se encontram dispersos no genoma (SCHLÖTTERER; PEMBERTON, 1998). A aplicação destes marcadores baseia-se na determinação de frequências alélicas em locos marcadores que permitem gerar uma grande quantidade de informações sobre a diversidade genética e relacionamentos filogenéticos no material genético utilizado (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Considerando a importância da *M. asilvai* e a necessidade de estudos relacionados a esta espécie de abelha, o presente trabalho objetivou a identificação das áreas de ocorrência natural e potencial distribuição da *M. asilvai*,

além de avaliar as variações morfométricas e a diversidade genética desta abelha na sua área de ocorrência.

O estudo foi dividido nos seguintes capítulos:

Capítulo 1: Modelagem da distribuição potencial de *Melipona asilvai* Moure, 1971 (Hymenoptera: Apidae);

Capítulo 2: Variação morfométrica em *Melipona asilvai* Moure, 1971 (Hymenoptera: Apidae); e

Capítulo 3: Diversidade e estrutura genética de *Melipona asilvai* Moure, 1971 (Hymenoptera: Apidae).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, C. M. L. Utilização de recursos florais por abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em uma área de Caatinga (Itatim, Bahia, Brasil). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.20, n.3, p.457-467, 2003.

ALIBERT, P.; MOUREAU, B.; DOMMERGUES, J. L.; DAVID, B. Differentiation at a microgeographical scale within two species of ground beetle, *Carabus auronitens* and *C. nemoralis* (Coleoptera: Carabidae): a geometrical morphometric approach. **Zoologica Scripta**, v.30, n.4, p.299-311, 2001.

ALVES, R. M. O.; SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L. Notas sobre a binomia de *Melipona mandacaia* (Apidae: Meliponina). **Magistra**, v.19, n.3, p.177-264, 2007.

BATALHA-FILHO, H.; NUNES, L. A.; PEREIRA, D. G.; WALDSCHMIDT, A. M. Inventário da fauna de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em uma área de caatinga da região de Jequié, BA. **Bioscience Journal (UFU)**, v.23, p.24-29, 2007.

BATALHA-FILHO, H.; WALDSCHMIDT, A. M.; ALVES, R. M. O. Distribuição Potencial de Abelha sem Ferrão Endêmica da Caatinga, *Melipona mandacaia* (Hymenoptera, Apidae). Cruz das Almas, **Magistra**, v.23, n.3, p.129-133, 2011.

BATALHA-FILHO, H.; WALDSCHMIDT, A. M.; CAMPOS, L. A. O.; TAVARES, M. G.; SALOMÃO, T. M. F. Phylogeography and historical demography of the neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae): incongruence between morphology and mitochondrial DNA. **Apidologie**, v.41, p. 534-547, 2010.

CARVALHO-ZILSE, G. A.; KERR, W. E. Utilização de marcadores microssatélites para estudos populacionais em *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini). **Magistra**, v.18, p.213-220, 2006.

CASTRO, M. S. A criação tradicional de abelhas sem ferrão em potes de barro em Boninal, Chapada Diamantina, Bahia. **Mensagem Doce**, v.80, p.38-43, 2005.

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

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília, Embrapa, 1998. 220p.

FRANCINI, I. B.; SFORÇA, D. A.; SOUSA, A. C. B.; CAMPOS, T.; CIDADE, F. W.; ZUCCHI, M. I.; SOUZA, A. P.; NUNES-SILVA, C. G.; CARVALHO-ZILSE, G. A. Microsatellite loci for an endemic stingless bee *Melipona seminigra merrillae* (Apidae, Meliponini) from Amazon. **Conservation Genetics Resources**, v.1, n. 1, p. 487-490, 2009.

FRANCOY, T. M.; GRASSI, M. L.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; MAY-ITZÁ, W. J.; QUEZADA-EUÁN, J. J. G. Geometric morphometrics of the wing as a tool for assigning genetic lineages and geographic origin to *Melipona beecheii* (Hymenoptera: Meliponini). **Apidologie**, v.42, p.499-507, 2011.

GIANNINI, T. C.; SIQUEIRA, M. F.; ACOSTA, A. L.; BARRETO, F. C. C.; SARAIVA, A. M.; ALVES-DOS-SANTOS, I. Desafios atuais da modelagem preditiva de distribuição de espécies. **Rodriguésia**, v.63, n.3, p.733-749, 2012.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; CANHOS, D. A. L.; ALVES, D. A. A.; SARAIVA, A. M. Polinizadores e Polinização. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; CANHOS, D. A. L.; ALVES, D. A.; SARAIVA, A. M. (Organizadores). **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo. EDUSP, 2012. 488p.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha Uruçu. Biologia, Manejo e Conservação**. Belo Horizonte- MG, Ancagaú, 1996, 143p.

LIMA JUNIOR, C. A.; CARVALHO, C. A. L.; NUNES, L. A.; FRANCOY, T. M. Population Divergence of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Meliponina) in Two Restricted Areas in Bahia, Brazil. **Sociobiology**, v.59, n.1, p.107-121, 2012.

LOPES, D. M.; DA SILVA, F. O.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M.; DE OLIVEIRA CAMPOS, L. A.; TAVARES, M. G. A scientific note on the characterization of microsatellite loci for *Melipona mondury* (Hymenoptera: Apidae). **Apidologie**, v.41, n.2, p.138-140, 2010.

MENDES, M. F. M.; FRANCOY, T. M.; NUNES-SILVA, P.; MENEZES, C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Intra-populational variability of *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier 1836 (Hymenoptera, Meliponini) using relative warp analysis. **Bioscience Journal**, v.23, p.147-152, 2007.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. **Princípios de morfometria geométrica**. Editora Holos, Ribeirão Preto, Brasil. 1999. 188p.

NEVES, E. L.; VIANA, B. F. As abelhas eussociais (Hymenoptera, Apidae) visitantes florais em um ecossistema de dunas continentais no médio Rio São Francisco, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.46, n.4, p.571-578, 2002.

NUNES, L. A.; ARAUJO, E. D.; CARVALHO, C. A. L.; WALDSCHMIDT, A. M. Population divergence of *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera:

Apidae) endemic to the semiarid region of State of Bahia, Brazil. **Sociobiology**, v.52, n.1, p.81-93, 2008.

NUNES, L. A.; PASSOS, G. B.; CARVALHO, C. A. L.; ARAÚJO, E. D. Size and shape in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera; Meliponini). **Brazilian Journal of Biology**, v.73, n.4, p.887-893, 2013.

NUNES, L. A.; PINTO, M. F. F.; CARNEIRO, P; PEREIRA, D. G.; WALDSCHMIDT, A. M. Divergência Genética em *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Meliponina) com base em Caracteres Morfológicos. **Bioscience Journal**, v.23, n.1, p.1-9, 2007.

PHILLIPS, S. J.; ANDERSON, R. P.; SCHAPIRE, R. E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. **Ecological Modelling**, v.190, n.3-4, p.231-259, 2006.

PRADO, D. E. As Caatingas da América do Sul. In: LEAL, I.R; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (eds.) **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife, Editora Universitária, UFPE, 2003. p.3-74.

ROHLF, F. J. Program tps Relw version 1.46. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>> Acessado em 21/10/2008.

SCHLÖTTERER, C ;PEMBERTON, J. The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations - a critical review. In: DeSalle, R; SCHIERWATER, B. (eds) **Molecular Approaches to Ecology and Evolution**. Birkhäuser Verlag Basel, 1998. p.71-86.

SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. O. Notas sobre a bionomia de *Melipona asilvai* (Apidae: Meliponini) como subsídio à sua criação racional. **Archivos de Zootecnia** (Universidad de Córdoba), v.57, p.53-62, 2008.

SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. O.; DIAS, C. S. CLARTON, N. **Munduri (*Melipona asilvai*): a abelha sestrosa**. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/SEAGRI, 2009. 46p. (Serie Meliponicultura 07).

TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. Áreas e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Caatinga. In: LEAL, I.R, M. TABARELLI, SILVA, J.M.C. (eds.) **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife, Editora Universitária, UFPE, 2003. p. 777-796.

TAVARES, M. G.; ALMEIDA, B. S.; PASSAMANI, P. Z.; PAIVA, S. R.; RESENDE, H. C.; CAMPOS, L. A. D. O.; ALVES, R. M. O.; WALDSCHMIDT, A. M. Genetic variability and population structure in *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Apidae) from Bahia, Brazil, based on molecular markers. **Apidologie**, v.44, n.6, p.720-728, 2013a.

TAVARES, M. G.; PIETRANI, N. T.; DURVALE, M. D. C.; RESENDE, H. C.; CAMPOS, L. A. O. Genetic divergence between *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae) populations. **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, n.1, p.111-117, 2013b.

VIANA, J. L.; FRANCISCO, A. K.; CARVALHO, C. A. L.; WALDSCHMIDT, A. M. Genetic variability in *Melipona scutellaris* from Recôncavo, Bahia, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.12, n.3, p.3444-3454, 2013.

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

ZAYED, A. Bee genetics and conservation. **Apidologie**, v.40, n.3, p.237-262, 2009.

CAPÍTULO 1

MODELAGEM DA DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE *Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE)¹

¹Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Anais da Academia Brasileira de Ciências.

MODELAGEM DA DISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE *Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE)

RESUMO: A identificação da distribuição geográfica de espécies de abelhas nativas como a *Melipona asilvai* é um fator importante para subsidiar programas de manejo e conservação da biodiversidade. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estimar a distribuição potencial de *M. asilvai*, por meio da modelagem de distribuição a partir da identificação das áreas de ocorrência natural de *M. asilvai* no Estado da Bahia, gerando subsídios para seu manejo e conservação. Os registros de ocorrência natural de *M. asilvai* na Bahia foram obtidos com informações de literatura, entrevistas com meliponicultores e verificações *in situ* para confirmação de identificação da espécie. Para a modelagem da distribuição geográfica potencial da espécie foram utilizados os dados de ocorrência natural, associados a 19 variáveis climáticas e dados altitudinais no algoritmo MaxEnt. Na Bahia, *M. asilvai* apresentou registro de ocorrência natural em 93 municípios, localizados em regiões de clima semiárido com tipos de vegetações com predominância de Caatinga, em faixas de temperatura de 19,5°C a 26,5°C e em altitudes abaixo de 965 metros. A modelagem gerada pelo algoritmo MaxEnt indicou a distribuição potencial de *M. asilvai* restrita a região semiárida brasileira. A identificação das áreas de ocorrência da *M. asilvai* fornece subsídios para a elaboração de planos de manejo e conservação desta espécie.

Palavras-chave: Abelha sem ferrão; Endemismo de espécies; conservação; biogeografia.

MODELING THE POTENTIAL DISTRIBUTION OF *Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE)

ABSTRACT: The identification of the geographic distribution of native bee species, such as *Melipona asilvai*, is important to support management and conservation programs. The objective of the present study was to estimate the potential distribution of *M. asilvai* through modeling based on the identification of areas of natural occurrence in the state of Bahia, in order to build the foundations for its management and conservation. The records of natural occurrence of *M. asilvai* in Bahia were obtained from the literature, interviews with beekeepers, and *in situ* confirmation. For the modeling of the potential distribution of this species, we used natural occurrence data associated with 19 climate variables and altitudinal data modeled with the algorithm MaxEnt. In Bahia, *M. asilvai* was recorded in 93 municipalities located in regions of semi-arid climate with predominance of Caatinga vegetation, the temperature range ranging from 19.5 ° C to 26.5 ° C and elevations below 965 meters. The model generated by the algorithm MaxEnt suggests that *M. asilvai* is restricted to the Brazilian semi-arid region. Our potential distribution model will help in the elaboration of management and conservation plans for this species.

Key-words: Stingless bees; species endemism; conservation; biogeography.

INTRODUÇÃO

O estudo dos padrões biogeográficos de espécies com distribuição restrita em determinadas áreas como a Caatinga, pode servir de orientação para definir prioridades em termos de áreas para preservação (Zanella e Martins, 2003).

As ações antrópicas que promovem alterações ambientais como mudanças climáticas e fragmentação de habitats causam consequências diretas sobre a distribuição das espécies, além do declínio de polinizadores como as abelhas nativas, sendo necessárias aplicações de novas tecnologias e ferramentas de análise para fornecer conhecimento como área de ocorrência e tipo de habitat, para subsidiar sua proteção e conservação (Giannini et al. 2012a).

Todavia, a determinação da distribuição geográfica real de espécies é extremamente difícil, considerando o número de amostragens existentes insuficientes e pouco representativas para a maioria das espécies, tendo com alternativas para redução deste problema a modelagem da distribuição geográfica potencial com base em Sistemas de Informação Geográfica - SIG (Batalha-Filho et al. 2011).

A modelagem consiste em combinar dados de ocorrência com variáveis ecológicas / ambientais (bióticos e abióticos) para criar um modelo de representação das condições demandadas pela espécie (Anderson et al. 2003).

Para a modelagem são utilizados programas computacionais que possibilitam a projeção dos modelos em mapas que apresentam as áreas potenciais de ocorrência das espécies (Giannini et al. 2012b), com o algoritmo Maxent - *Maximum Entropy* (Phillips et al. 2006) que comumente é empregado em trabalhos de distribuição geográfica de abelhas do gênero *Melipona* (Batalha-Filho et al. 2011; Serra et al. 2012; Giannini et al. 2012a).

Neste contexto, foi estimada a distribuição potencial de *M. asilvai*, por meio da modelagem de distribuição dessa abelha, o que pode fornecer subsídios para planos de manejo e conservação desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a modelagem da distribuição potencial de *M. asilvai* foram utilizados dados de ocorrência natural da espécie no Estado da Bahia, por meio de pesquisa em literatura, entrevistas com meliponicultures e registros do Banco de

Dados de Ocorrência de Meliponíneos do Grupo de Pesquisa Insecta da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia que foi constituído a partir de verificações *in situ* para identificação e confirmação de ocorrência de meliponíneos, de uma série temporal de 25 anos (1990 a 2015).

As coordenadas geográficas dos municípios com registro de ocorrência de *M. asilvai* foram obtidas com a ferramenta GeoLoc (<http://splink.cria.org.br/geoloc?criaLANG=pt>).

Os dados de clima (tipologia, umidade relativa e precipitação pluviométrica), vegetação e altitude foram obtidos no Sistema de Informações Municipais da Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia - SEI (http://sim.sei.ba.gov.br/sim/informacoes_municipais.wsp), por meio da compilação de dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE e do Projeto Radam Brasil.

O modelo de distribuição potencial de *M. asilvai* foi estimado utilizando o programa MaxEnt versão 3.3.3 (<http://www.cs.princeton.edu/~schapire/maxent/>) com 93 registros de ocorrência natural da espécie, dados altitudinais e 19 variáveis climáticas (Tabela I) da base WorldClim (<http://www.worldclim.org/current>), que compreendem o período de 1950 a 2000.

Tabela I. Variáveis bioclimáticas da base WorldClim (Hijmans et al. 2005).

Código	Variável bioclimática
BIO1	Temperatura média anual
BIO2	Amplitude da temperatura média diurna
BIO3	Isotermalidade
BIO4	Sazonalidade da temperatura
BIO5	Temperatura máxima no mês mais quente
BIO6	Temperatura mínima no mês mais frio
BIO7	Amplitude da temperatura média anual
BIO8	Temperatura média do trimestre mais úmido
BIO9	Temperatura média do trimestre mais seco
BIO10	Temperatura média do trimestre mais quente
BIO11	Temperatura média do trimestre mais frio
BIO12	Precipitação média anual
BIO13	Precipitação média do mês mais úmido
BIO14	Precipitação média do mês mais seco
BIO15	Sazonalidade da precipitação
BIO16	Precipitação média do trimestre mais úmido
BIO17	Precipitação média do trimestre mais seco
BIO18	Precipitação média do trimestre mais quente
BIO19	Precipitação média do trimestre mais frio

O MaxEnt apresenta diversas vantagens quando comparado aos outros métodos de modelagem, como a necessidade de dados apenas de presença da espécie, juntamente com informação ambiental da área em estudo, além da distribuição da probabilidade com uma definição matemática precisa com eficientes algoritmos determinísticos que garantem a convergência para uma probabilidade ótima de distribuição (Phillips et al. 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ocorrência de *M. asilvai* na Bahia foi registrada em 93 municípios do Estado (Tabela S1 - Anexo), sendo todos pertencentes à região semiárida baiana (Fig. 1). Estas localidades correspondem a 35,10% do total de 265 municípios do semiárido baiano. Estes resultados corroboram com Souza et al. (2009) que sugeriram a provável distribuição da espécie na região semiárida.

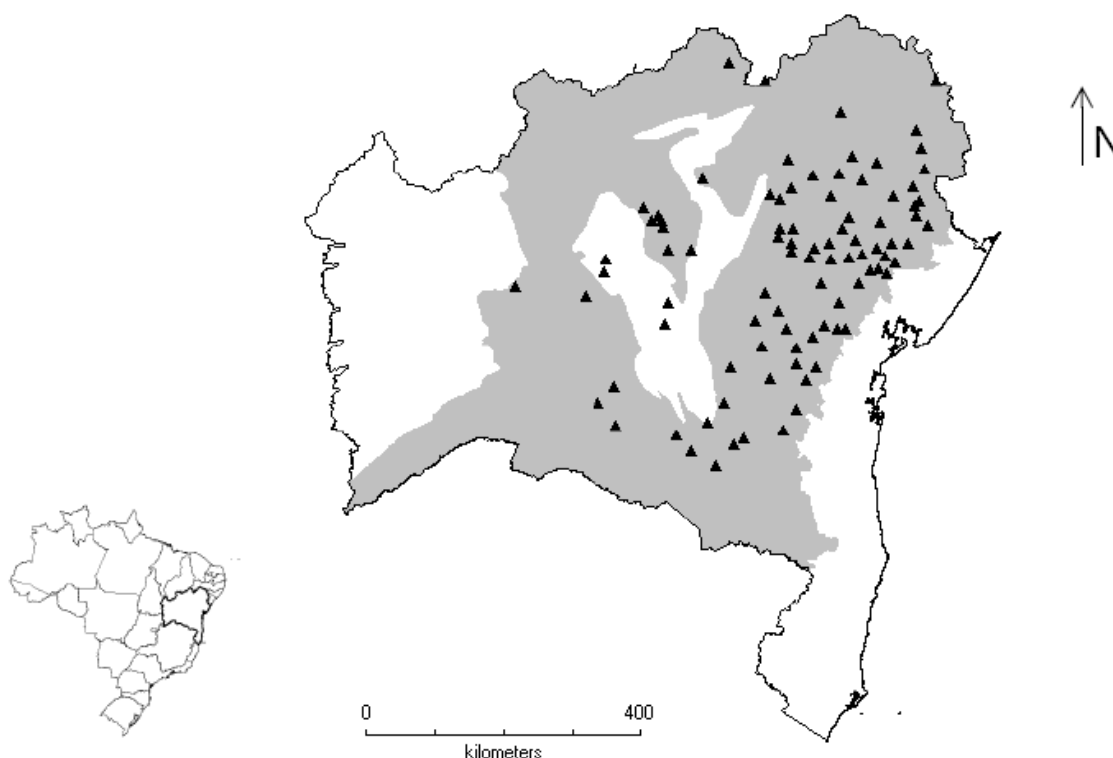


Fig. 1. Registro de ocorrência natural de *Melipona asilvai* no estado da Bahia. Área destacada representa a delimitação do semiárido e Planaltos e Serras da Diamantina (adaptado a partir de BRASIL, 2005).

Clima das áreas de ocorrência

O clima predominante das localidades de ocorrência de *M. asilvai* na Bahia é do tipo semiárido (89,25%), seguido de subúmido a seco (10,75%), com temperaturas médias variando entre 19,5°C a 26,5°C.

Considerando que a região semiárida baiana tem longa extensão, se iniciando na divisa com o Estado de Minas Gerais e segue até a divisa com os Estados de Sergipe, Alagoas, Pernambuco e Piauí, e que esta região é a provável área de ocorrência da espécie, deve-se destacar seus limites oeste e leste, que fazem contato com os biomas Cerrado e Mata Atlântica, respectivamente.

As localidades de ocorrência da *M. asilvai* que se aproximam do cerrado baiano (limite oeste), são os municípios de Barra (11°05'22"S e 43°08'30"W), Muquém do São Francisco (12°11'55"S e 43°49'58"W) e Xique-xique (10°49'18"S e 42°43'52"W), que apresentam clima semiárido e subúmido a seco com temperaturas médias de 25°C, além da precipitação média em torno de 700 mm anuais.

As áreas limites de ocorrência ao leste do Estado compreendem os municípios que fazem divisa com o Litoral Norte - Ribeira do Pombal (10°50'04"S e 38°32'09"W), Ribeira do Amparo (11°02'50"S e 38°26'00"W), Cipó (11°05'59"S e 38°30'49"W), Biritinga (11°37'00"S e 38°48'00"W), Nova Soure (11°14'00"S e 38°29'00"W) e Araci (11°20'00"S e 38°58'00"W) com temperaturas médias de 25°C e precipitação entre 665 a 1070mm; Recôncavo Baiano - Castro Alves (12°45'56"S e 39°25'42"W), Santa Terezinha (12°46'19"S e 39°31'24"W), Itatim (12°42'43"S e 39°41'53"W) e Milagres (12°52'12"S e 39°51'32"W) que apresentam pluviosidade entre 650 e 760mm e temperaturas médias entre 22,8°C e 24,2°C; Baixo Sul - Santa Inês (13°17'32"S e 39°49'08"W) e Itaquara (13°27'03"S e 39°56'28"W) com temperaturas entre 21°C e precipitação pluviométrica de 650mm; e região do Médio Sudoeste da Bahia - Manoel Vitorino (14°08'43"S e 40°14'33"W), Caetanos (14°20'15"S e 40°54'31"W) e Anagé (14°36'44"S e 41°08'08"W) com pluviosidade entre 590 a 700mm e temperaturas entre 22,7 a 23,5°C).

A região semiárida possui basicamente um período chuvoso e outro seco. No período chuvoso há elevada oferta de alimento determinada em grande parte pelo desenvolvimento e floração de espécies de plantas herbáceas anuais e

arbustivas, sendo conseqüentemente o período onde é observada uma maior abundância e diversidade de abelhas (Zanella e Martins, 2003).

De acordo com Zanella e Martins (2003), durante o período seco apenas as espécies sociais com colônias perenes e alguns grupos de abelhas solitárias de maior porte mantêm atividade de forrageio. Neste contexto, a *M. asilvai* apresenta uma importante adaptação aos períodos de menor disponibilidade de recursos florais, pois com a escassez de alimento, a colônia é reduzida, ocorrendo suspensão da postura pela rainha, mantendo-se apenas poucas operárias na colônia. A partir da entrada de recursos na colônia (alimento) nos períodos chuvosos, o processo de postura se reinicia e a colônia se expande em termos de população e posterior aumento de produção de mel, pólen e outros produtos.

Contudo, a adaptação e resistência que a *M. asilvai* apresenta às condições semiáridas não são verificadas em localidades com alta umidade como a região costeira, onde o desenvolvimento das colônias introduzidas e manejadas normalmente é prejudicado (Souza et al. 2009), tanto que, nesta região não são encontrados ninhos em condições naturais.

Vegetação das áreas de ocorrência natural

Nas áreas de ocorrência da *M. asilvai* na Bahia verificou-se a predominância dos tipos de vegetação associados à Caatinga (Tabela II), que apresentam florestas arbóreas ou arbustivas com árvores e arbustos baixos e algumas características xerofíticas (Prado, 2003). Contudo, também foi registrada a ocorrência desta abelha em áreas de ecótonos como Caatinga-Floresta Estacional, Cerrado-Caatinga e Cerrado-Floresta Estacional, além da ocorrência em regiões com Floresta Estacional Decidual ou Semidecidual.

Dentre as espécies vegetais destacam-se as fontes de nidificação da *M. asilvai* como a umburana (*Amburana cearensis*), umburana-de-cambão (*Commiphora leptophloeos*), a baraúna (*Schinopsis brasiliensis*), a caatinga-deporco (*Poincianella pyramidalis*) e o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) (Souza et al. 2008; Martins et al. 2004). A espécie vegetal *C. leptophloeos* também é substrato preferencial de nidificação para *M. quadrifasciata* (Batalha-Filho et al. 2011) e *M. mandacaia* (Alves et al. 2007), o que potencializa este vegetal como substrato de nidificação estratégico na conservação de várias espécies de *Melipona* no

semiárido. Além dessas espécies vegetais, no presente trabalho foi observada a nidificação de *M. asilvai* em faveleira (*Cnidocolus phyllacanthus*).

Tabela II. Tipos de vegetação das áreas de ocorrência de *Melipona asilvai* no Estado da Bahia.

Tipos de Vegetação	Frequência (%)
Caatinga Arbórea Aberta	1,00
Caatinga Arbórea Aberta, com palmeiras	21,78
Caatinga Arbórea Aberta, sem palmeiras	16,83
Caatinga Arbórea Densa, com palmeiras	10,89
Caatinga Arbórea Densa, sem palmeiras	1,98
Cerrado Arbóreo Aberto, sem Floresta-de-Galeria	4,95
Contato Caatinga-Floresta Estacional	25,74
Contato Cerrado-Caatinga	4,95
Contato Cerrado-Floresta Estacional	1,00
Floresta Estacional Decidual	2,97
Floresta Estacional Semidecidual	7,90
Total	100,00

Fonte: Sistema de Informações Municipais da Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia - SEI.

Altitude das áreas de ocorrência

Na Bahia, *M. asilvai* encontra-se distribuída entre altitudes de 130 a 964 metros (Tabela III). Estes resultados superam as estimativas de Souza et al. (2009), que sugeriram a provável distribuição da espécie nas áreas de caatinga baixa com altitudes de até 500 metros.

Tabela III. Altitude das áreas de ocorrência de *Melipona asilvai* no Estado da Bahia.

Altitude (m)	Frequência das localidades(%)
101- 200	4,30
201 - 300	27,96
301 - 400	18,28
401 - 500	20,43
501 - 600	7,53
601 - 700	6,45
701 - 800	8,60
801 - 900	4,30
901 - 964	2,15
Total	100,00

Fonte: Sistema de Informações Municipais da Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia (SEI).

Cerca de 84,95% das localidades de ocorrência da *M. asilvai* estão em uma faixa de até 700 metros de altitude (Tabela III). Esta característica do relevo apresenta influência direta nos meliponíneos, como evidenciada para *M. scutellaris* por Alves et al. (2012). Esses autores verificaram maior desenvolvimento das colônias em localidades de menor altitude, que apresentaram menor amplitude térmica diária, enquanto que colônias localizadas em maiores altitudes possuem menor população, além de frequente presença de invólucro no ninho.

Nas localidades de maior altitude foi observada a nidificação da *M. asilvai* mais próxima do solo, isto é, a colônia instalou-se e desenvolveu-se em árvores com cavidades mais próximas ao nível do solo, o que pode estar associado à manutenção de temperatura intracolônial, ficando o ninho mais protegido da maior amplitude térmica diária apresentada nas regiões de maior altitude.

Considerando esta característica de relevo deve-se ter critério no registro de ocorrência de espécies de melíponas por municípios, uma vez que em Morro-do-Chapéu (11°33'00"S e 41°09'22"W), município cuja sede possui registro de altitude de 1.100 m, colônias de *M. asilvai* foram encontradas apenas a 610m nesta localidade. Neste trabalho, a espécie foi coletada em até 815m de altitude, no município de Tanque Novo (13°32'47"S e 42°29'29"W), valor que se aproxima a elevação do município de Maracás (900m) onde foram coletados os espécimes utilizados para a descrição da espécie por Moure (1971).

Modelagem da distribuição potencial de *Melipona asilvai*

Com as coordenadas de ocorrência natural da *M. asilvai* no Estado da Bahia, associadas a 19 variáveis bioclimáticas e dados altitudinais foi gerada a modelagem da distribuição geográfica potencial desta espécie para o Brasil, pelo algoritmo MaxEnt (Fig. 2).

A modelagem de distribuição geográfica de *M. asilvai* indicou ocorrência potencial da espécie restrita à área de delimitação do semiárido brasileiro, abrangendo parte dos estados de Minas Gerais, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Piauí, Paraíba, Rio Grande do Norte e principalmente a Bahia, que apresentou a maior área de distribuição potencial da espécie.

No modelo de distribuição observa-se a baixa probabilidade de ocorrência da *M. asilvai* na região central do Estado da Bahia – Planaltos e Serras da Diamantina (Chapada Diamantina) - onde se verificam condições ambientais adversas para essa espécie, com presença de matas úmidas e temperaturas mais baixas associadas às maiores altitudes médias do Estado baiano (acima dos 700 metros), o que confirma a preferência da espécie por localidades com altitudes abaixo dos 700 metros e que apresentem características de região semiárida.

A baixa probabilidade de ocorrência também é verificada na zona costeira da região nordeste brasileira, onde há predominância do bioma Mata Atlântica, caracterizada por floresta umbrófilas úmidas (Alves et al. 2012). Já o limite oeste de ocorrência da *M. asilvai* estimado, foi delimitado pela zona de transição entre o bioma Cerrado e Caatinga, o que evidencia o endemismo desta espécie à região semiárida como sugerido por Souza et al. (2009).

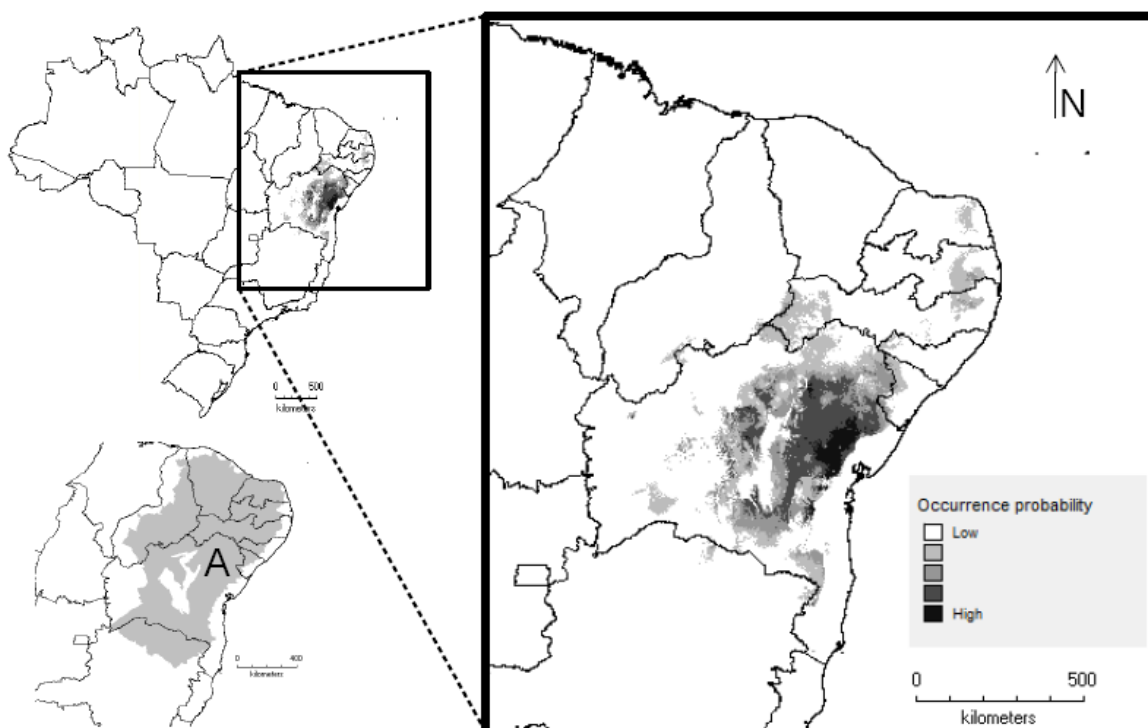


Fig. 2. Distribuição potencial de *Melipona asilvai*. A - Delimitação do semiárido brasileiro e Planaltos e Serras da Diamantina (adaptado a partir de BRASIL, 2005).

A modelagem apresenta valor de 0,987 de AUC (*Area under curve*) para a curva ROC (*Receiver operating characteristic*), o que expressa um bom desempenho do modelo, apesar da modelagem ser realizada apenas a partir de dados de ocorrência natural de *M. asilvai* no Estado da Bahia. Embora o modelo de distribuição potencial da *M. asilvai* apresente elevada eficiência, esforços amostrais são necessários para a identificação de novas áreas de ocorrência natural desta abelha, com o objetivo de subsidiar planos de manejo adequados à espécie.

CONCLUSÃO

Melipona asilvai apresenta área de ocorrência natural e distribuição potencial restrita à região semiárida brasileira, com vegetação com características de Caatinga, em faixas de temperatura de 19,5°C a 26,5°C e em altitudes abaixo de 965 metros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR CML. 2003. Utilização de recursos florais por abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em uma área de Caatinga (Itatim, Bahia, Brasil). Rev Bras Zool 20(3): 457-467.

ALVES RMO, CARVALHO CAL, SOUZA BA E SANTOS WS. 2012. Areas of natural occurrence of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) in the state of Bahia, Brazil. An Acad Bras Cien 84: 679-688.

ALVES RMO, SOUZA BA E CARVALHO CAL. 2007. Notas sobre a binomia de *Melipona mandacaia* (Apidae: Meliponina). Magistra 19(3): 177-264.

ANDERSON RP, LEW D E PETERSON, A.T. 2003. Evaluating predictive models of species' distributions: criteria for selecting optimal models. Ecol Model 162: 211-232.

BATALHA-FILHO H, NUNES LA, PEREIRA DG E WALDSCHMIDT AM. 2007. Inventário da fauna de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em uma área de caatinga da região de Jequié, BA. Biosci J 23: 24-29.

BATALHA-FILHO H, WALDSCHMIDT AM E ALVES RMO. 2011. Distribuição Pontencial de Abelha sem Ferrão Endêmica da Caatinga, *Melipona mandacaia* (Hymenoptera, Apidae). Magistra 23(3): 129-133.

BRASIL. 2005. Nova delimitação do Semiárido brasileiro. Ministério da Integração Nacional, 32 p.

CASTRO MS. 2005. A criação tradicional de abelhas sem ferrão em potes de barro em Boninal, Chapada Diamantina, Bahia. Mensagem Doce 80: 38-43.

GIANNINI TC, ACOSTA AL, GARÓFALO CA, SARAIVA AM, ALVES-DOS-SANTOS I E IMPERATRIZ-FONSECA VL. 2012a. Pollination services at risk: Bee habitats will decrease owing to climate change in Brazil. Ecol Model 244: 127-131.

GIANNINI TC, SIQUEIRA MF, ACOSTA AL, BARRETO FCC, SARAIVA AM E ALVES-DOS-SANTOS I. 2012b. Desafios atuais da modelagem preditiva de distribuição de espécies. Rodriguésia 63(3): 733-749.

HIJMANS RJ, CAMERON SE, PARRA JL, JONES PG E JARVIS A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. Int J Climatol 25 (15): 1965-1978.

MARTINS CF, CORTOPASSI-LAURINO M, KOEDAM D E IMPERATRIZ-FONSECA VL. 2004. Tree species used for nidification by stingless bees in the brazilian Caatinga (Serridó, PB; João Câmara, RN). Biota Neotropica 4: 1-8.

MOURE JS. 1971. Notas sobre algumas espécies duvidosas de *Melipona* (Hymenoptera - Apidae). Arq Mus Nac 54: 193-201.

NEVES EL E VIANA BF. 2002. As abelhas eussociais (Hymenoptera, Apidae) visitantes florais em um ecossistema de dunas continentais no médio Rio São Francisco, Bahia, Brasil. Rev Bras Entomol 46(4): 571-578.

PHILLIPS SJ, ANDERSON RP E SCHAPIRE RE. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. Ecol Model 190(3-4): 231-259.

PRADO DE. 2003. As Caatingas da América do Sul. In: LEAL IR ET AL. (Eds.), Ecologia e conservação da caatinga, Recife: Editora Universitária, UFPE, p. 3-74.

SERRA BDV, MARCO JUNIOR P, NOBREGA CC E CAMPOS LAO. 2012. Modeling Potential Geographical Distribution of the Wild Nests of *Melipona capixaba* Moure & Camargo, 1994 (Hymenoptera, Apidae): Conserving Isolated Populations in Mountain Habitats. Nat Conserv 10(2): 199-206.

SOUZA BA, CARVALHO CAL E ALVES RMO. 2008. Notas sobre a bionomia de *Melipona asilvai* (Apidae: Meliponini) como subsídio à sua criação racional. Arch Zootec 57: 53-62.

SOUZA BA, CARVALHO CAL, ALVES RMO, DIAS CS E CLARTON N. 2009. Munduri (*Melipona asilvai*): a abelha sestrosa, Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/SEAGRI, 46p.

ZANELLA FCV E MARTINS CF. 2003. Abelhas da caatinga: Biogeografia, ecologia e conservação. In: LEAL IR ET AL. (Eds.), Ecologia e conservação da caatinga, Recife: Editora Universitária, UFPE, p. 75-134.

CAPÍTULO 2

VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA EM *Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE)¹

¹Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Apidologie.

**VARIAÇÃO MORFOMÉTRICA EM *Melipona asilvai* MOURE, 1971
(HYMENOPTERA: APIDAE)**

RESUMO: A *Melipona asilvai* é uma abelha endêmica da região semiárida brasileira que possui importante papel na polinização de espécies nativas e elevado potencial para a meliponicultura, contudo, poucas são as informações sobre a sua diversidade. Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar as variações morfológicas de *M. asilvai* por morfometria geométrica, na área de ocorrência natural desta espécie. Foram amostradas 165 colônias de *M. asilvai* em 32 localidades nos estados da Bahia, Minas Gerais, Sergipe, Pernambuco e Piauí. Para a análise morfométrica foram utilizados 11 marcos anatômicos das asas anteriores direitas em 10 operárias por colônia. Constatou-se diversidade morfológica entre as populações amostradas, embora foi observada uma baixa estruturação populacional da espécie para a forma da asa. Por meio do parâmetro tamanho de asas foi possível identificar diferenças significativas entre as populações. Houve correlação entre a forma da asa e distância geográfica entre as populações. Verificou-se que existe diversidade morfológica, tanto em forma como em tamanho de asas de *M. asilvai* na sua área de distribuição natural, sendo estas variações associadas às distâncias geográficas entre as populações.

Palavras-chave: Morfometria geométrica; diversidade; Distância de Procrustes.

**MORPHOMETRIC VARIATION IN *Melipona asilvai* MOURE, 1971
(HYMENOPTERA: APIDAE)**

ABSTRACT: *Melipona asilvai* is a bee species endemic to the Brazilian semi-arid region, which plays an important role in the pollination of native plants and has high potential for meliponiculture. However, information on its diversity is poor. Hence, the objective of the present study was to assess morphological variations in *M. asilvai* through geometric morphometrics in the area of natural occurrence of this species. We sampled 165 colonies of *M. asilvai* in 32 localities in the states of Bahia, Minas Gerais, Sergipe, Pernambuco, and Piauí. For the morphometric analysis we used 11 anatomical markers on the right forewings in 10 worker bees per colony. Although we observed morphological differences between populations, there was low population structuring for wing shape. There were significant differences in wing size between populations. There was a correlation between wing shape and geographic distance between populations. We observed morphological diversity, both in terms of wing shape and size, in *M. asilvai* along its natural area of occurrence, and this diversity is associated with the geographic distance between populations.

Key-words: geometric morphometrics, diversity, Procrustes distance.

INTRODUÇÃO

A espécie *Melipona asilvai* (Hymenoptera: Apidae), endêmica da região semiárida do Brasil, possui importante papel na polinização de espécies vegetais da Caatinga, além de apresentar potencial para a meliponicultura (Souza et al. 2008). Entretanto, poucas são as informações relacionadas a essa espécie (Souza et al. 2009), principalmente sobre a sua diversidade, que é um fator importante para a sua conservação (Araújo et al. 2000; Lima Junior et al. 2012).

De acordo com Araújo et al. (2004), no processo para conservação da biodiversidade em fragmentos florestais, a extinção diferencial de espécies de meliponíneos pode conduzir a uma mudança em abundância e diversidade de plantas, pois os meliponíneos são um dos principais agentes polinizadores de espécies florestais tropicais.

Dentre as diversas técnicas aplicadas em estudos sobre os meliponíneos, a morfometria geométrica tem sido bastante empregada na avaliação de diversidade populacional (Carvalho et al. 2011, Francoy et al. 2011, Lima Junior et al. 2012, Nunes et al. 2013 e Lima et al. 2014), principalmente por ser uma alternativa rápida e eficaz (Francoy e Imperatriz-Fonseca, 2010).

Esta técnica se destaca por oferecer ferramentas gráficas e analíticas poderosas para a quantificação e visualização da variação morfológica dentro e entre amostras dos organismos analisados (Alibert et al. 2001). Em abelhas, os estudos com morfometria geométrica baseiam-se principalmente em características de asas de operárias, a partir da inserção de marcos anatômicos, que geram variáveis de tamanho e forma dessa estrutura que são utilizadas em análises multivariadas.

Neste contexto, foi avaliada a variação da forma e tamanho das asas de populações de *M. asilvai*, para identificar a diversidade e variações biogeográficas dessa espécie na sua região de ocorrência natural.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram amostradas 32 populações de *M. asilvai* obtidas em localidades de ocorrência natural da espécie nos estados da Bahia, Minas Gerais, Sergipe, Pernambuco e Piauí (Figura 1) conforme o seguinte: População MA01- Casa

Nova-Ba; MA02- Dom Inocência-PI; MA03- Petrolina-PE; MA04- Boa Vista do Tupim-BA; MA05- Cafarnaum-BA; MA06- Canarana-BA; MA07- Cansanção-BA; MA08- Central-BA; MA09- Conceição do Coité-BA; MA10- Contendas do Sincorá-BA; MA11- Igaporã-BA; MA12- Itaberaba-BA; MA13- Jeremoabo-BA; MA14- Juazeiro-BA; MA15- Manoel Vitorino-BA; MA16- Monte Santo-BA; MA17- Morro do Chapéu-BA; MA18- Muquem de São Francisco-BA; MA19- Nova Fátima-BA; MA20- Novo Triunfo-MA; MA21- Paulo Afonso-BA; MA22- Poço Redondo-SE; MA23- Ponto Novo-BA; MA 24- Quijingue-BA; MA25- Ruy Barbosa-BA; MA26- Santa Terezinha-BA; MA27- São Gabriel-BA; MA28- São João das Missões-MG; MA29- Seabra-BA; MA30- Tanque Novo-BA; MA31- Umburanas-BA; e MA32- Valente-BA.

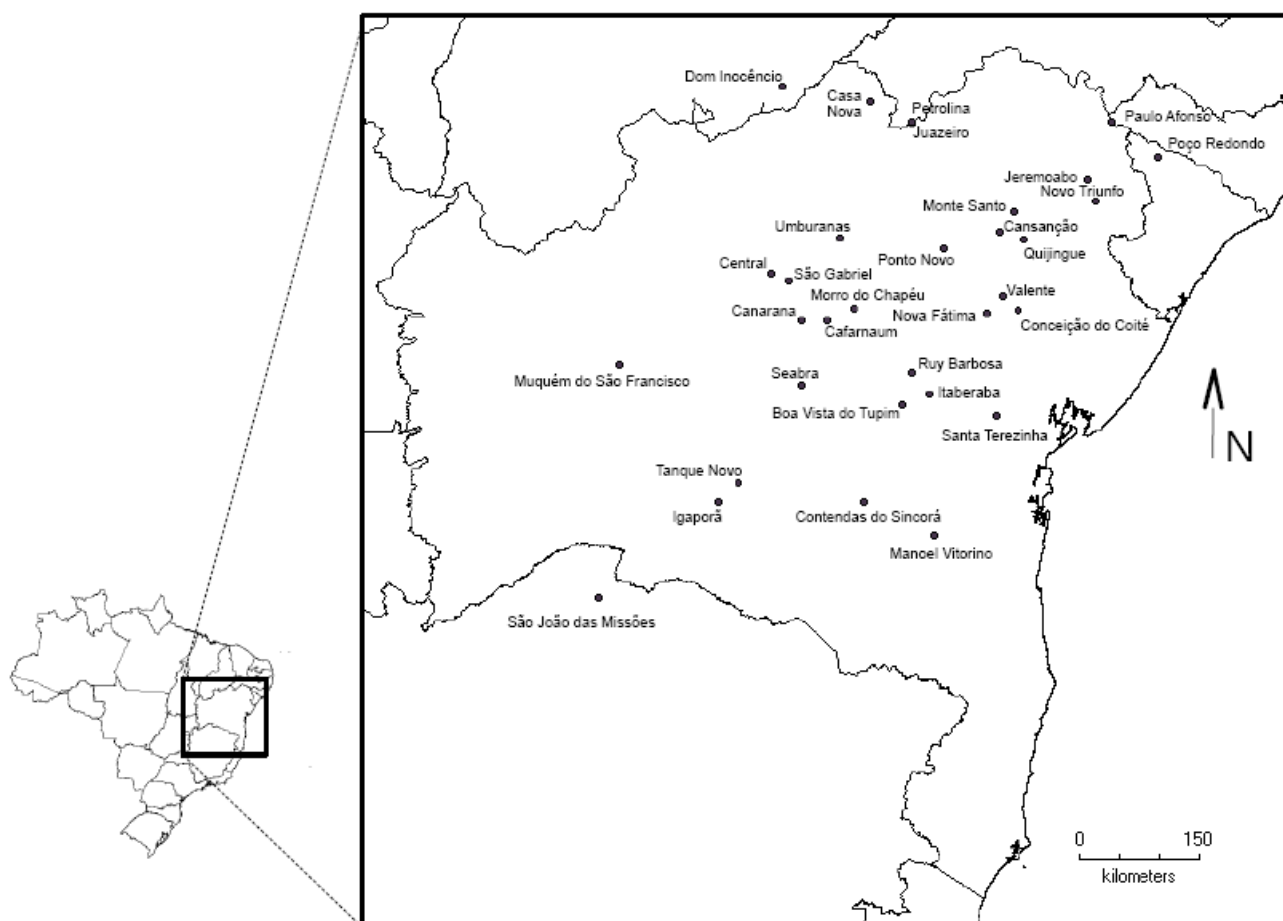


Figura 1. Localidades onde foram amostradas as colônias de *Melipona asilvai* em sua área de distribuição.

Para as análises morfométricas foram utilizadas as asas anteriores direitas de 10 operárias por colônia, de um total de 165 colônias amostradas. As asas foram extraídas e dispostas entre duas lâminas para a captura de imagens com câmera acoplada ao estereomicroscópio utilizando o software Leica Application suite versão 3.4.1.

Foram inseridos 11 marcos anatômicos (Figura 2) com o programa TpsDig versão 2.12 (Rohlf 2008) em cada asa para geração das variáveis utilizadas nas análises.

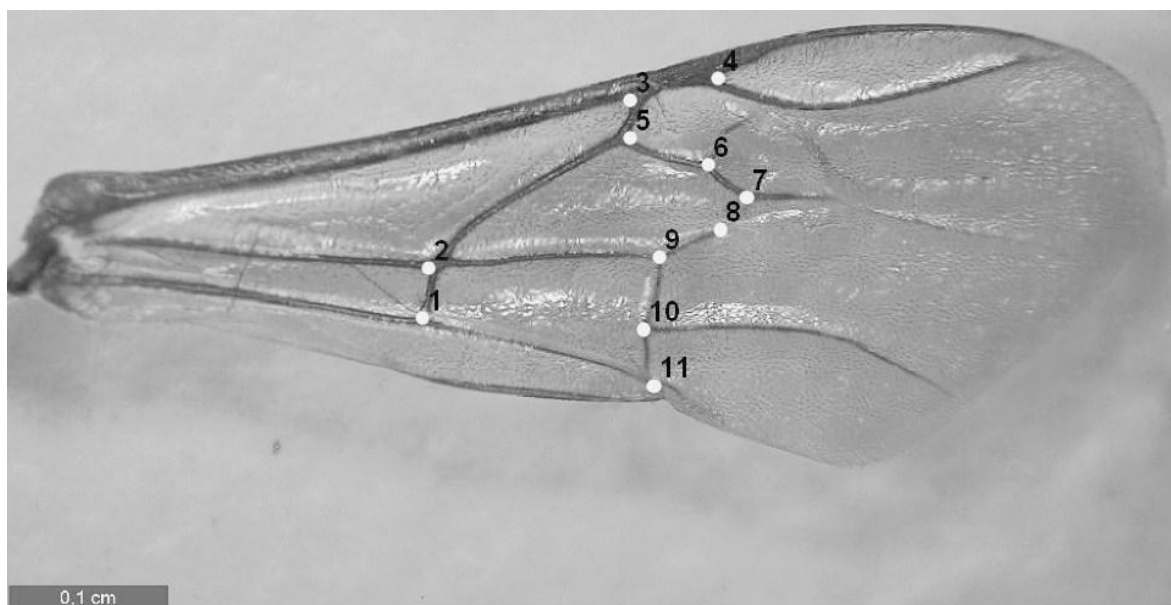


Figura 2. Marcos anatômicos utilizados na análise morfométrica da asa anterior de *Melipona asilvai*.

Os dados obtidos pelo TpsDig2, que são as coordenadas posicionais de cada ponto anatômico em um plano cartesiano, foram transferidos para o programa MorphoJ (Klingenberg 2011) para geração das matrizes de distância de Procrustes e Mahalanobis, tamanho dos centróides das asas e Análise de Componentes Principais (ACP).

Foi realizado o teste de Mantel para verificar a correlação entre a forma, distância geográfica entre os pontos de coleta, o tamanho da asa e altitude com o software NTSYS version 2.02.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a Análise de Componentes Principais (ACP) foram gerados 18 componentes (Tabela I), com 77,0% das variações entre as populações das diferentes localidades explicadas pelos quatro primeiros componentes principais, sendo que o primeiro explicou 40,30%, seguido pelo segundo, terceiro e quarto que explicaram 16,72%, 11,99% e 7,98% da variação dos dados, respectivamente.

Tabela I. Componentes principais, variação total e acumulada dos componentes principais obtidos das coordenadas cartesianas de 11 marcos anatômicos plotados em asas de *Melipona asilvai*.

Componente Principal	Variação Total (%)	Variação Acumulada (%)
1	40,304	40,304
2	16,723	57,027
3	11,994	69,022
4	7,980	77,002
5	6,127	83,129
6	4,934	88,063
7	3,177	91,239
8	2,047	93,286
9	1,728	95,014
10	1,459	96,473
11	1,085	97,558
12	0,746	98,304
13	0,673	98,977
14	0,446	99,423
15	0,217	99,640
16	0,191	99,831
17	0,113	99,944
18	0,056	100,000

A dispersão das populações de *M. asilvai* amostradas é visualizada graficamente pela figura bidimensional gerada a partir dos escores dos dois primeiros componentes principais (Figura 3).

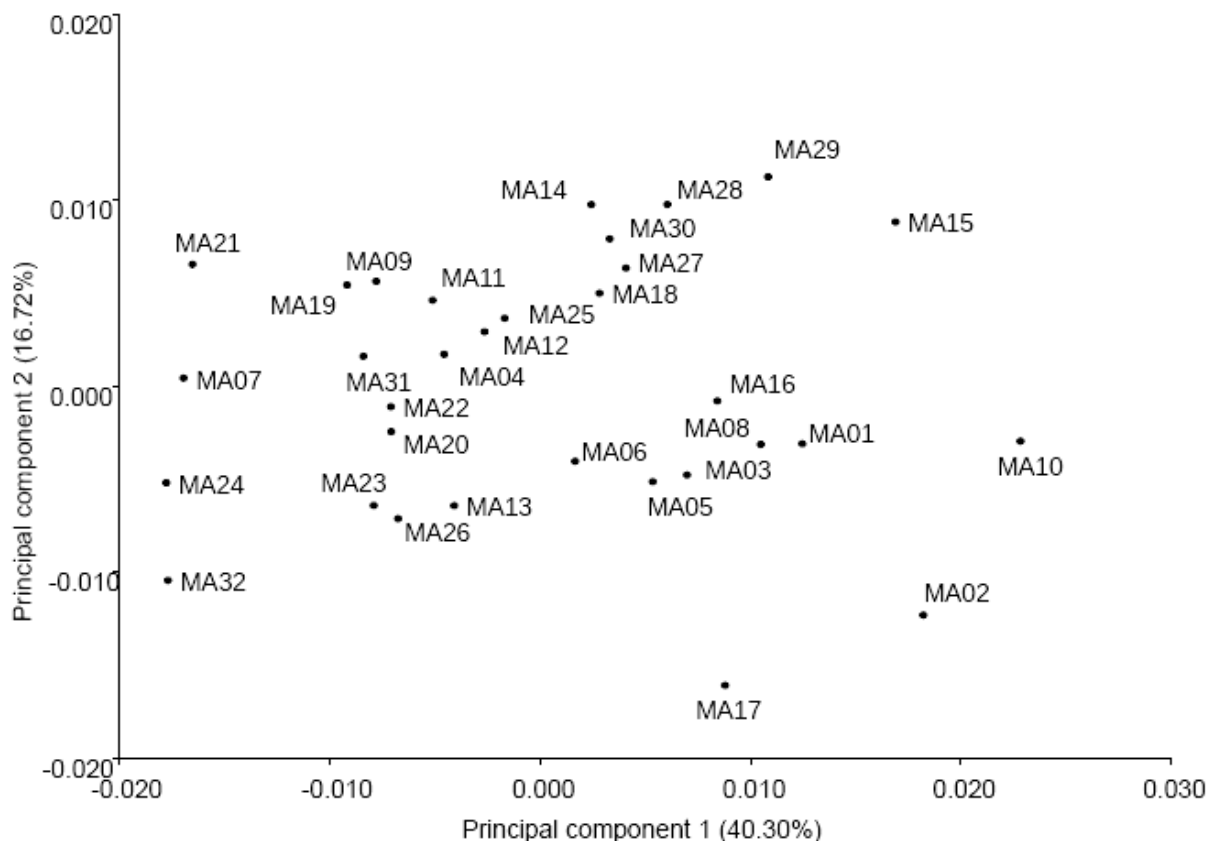


Figura 3. Dispersão das populações de *Melipona asilvai* com a análise de componentes principais de caracteres de forma das asas de operárias.

Observa-se que, a partir da dispersão das colônias na ACP, apesar da diversidade apresentada, não é verificada estruturação populacional quanto à forma das asas de *M. asilvai*, ou seja, para esta variável não há formação de grupos distintos.

Dentre as populações estudadas, a encontrada na localidade de Morro do Chapéu-BA (população MA17) apresenta-se mais divergente das demais. Este resultado corrobora com os encontrados por Nunes et al. (2007) em populações de *M. scutellaris* desta mesma localidade. Conforme estes autores, as colônias dessa região são mais divergentes devido à presença da cadeia de montanhas *Greenstone Belt de Mundo Novo* que promovem um isolamento geográfico destas colônias.

Com relação à característica de tamanho da asa, pode-se observar a variação significativa ($p < 0,01$) encontrada a partir do tamanho de centroide (Figura 4). As menores asas foram encontradas nas populações das localidades de Boa Vista do Tupim-BA (MA04), Paulo Afonso-BA (MA21), Petrolina-PE (MA03) e Ponto Novo-BA (MA23). Já as maiores asas foram encontradas nas populações das localidades de Juazeiro-ba (MA14), Morro do Chapéu-BA (MA17), São João das Missões-MG (MA28), Manoel Vitorino-BA (MA15) e Santa Terezinha-BA (MA26).

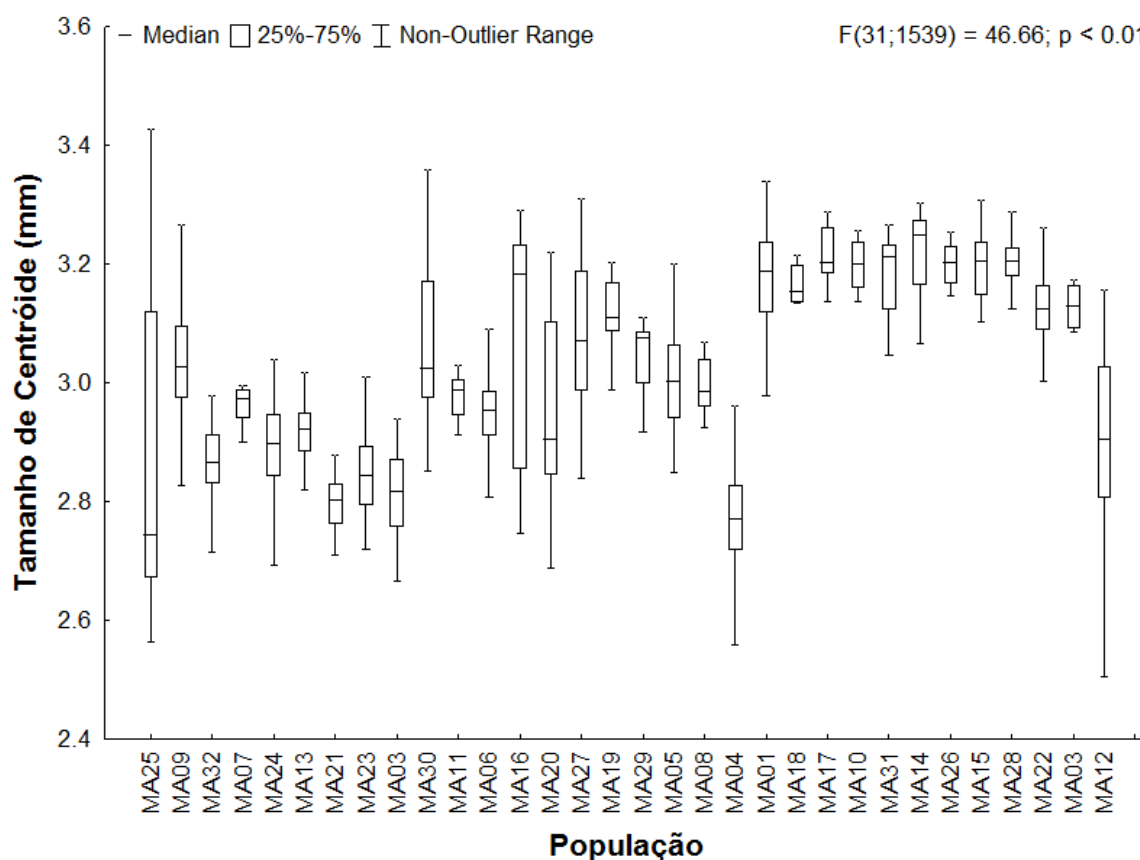


Figura 4. Variação de tamanho de centroide de asas de *Melipona asilvai*.

O tamanho de estruturas morfológicas em insetos é uma característica influenciada por condições ambientais (Francoy e Imperatriz-Fonseca 2010) e em abelhas, a variação de tamanho de asas é comumente associada a gradientes de altitude (Nunes et al. 2007, 2008; Lima Junior et al. 2015). Entretanto, neste estudo não foi identificada a correlação entre tamanho de asas e altitude das localidades, onde as populações foram amostradas (Tabela II).

Além do fator altitude, Araujo et al. (2004) destacam que nessas abelhas o tamanho generalizado das asas está fortemente correlacionado à distância de voo e conseqüentemente ao tamanho da área explorada pelas respectivas colônias. Desta forma, variáveis ambientais diversas podem influenciar no tamanho de asas como as fontes de alimentos das colônias adquiridas, a partir do raio de forrageamento das operárias, além da abundância e qualidade desse alimento, uma vez que dentro da mesma espécie o tamanho do indivíduo também é proporcional à quantidade e qualidade de alimento fornecido a ela enquanto larva.

Além do ambiente, o tamanho também pode estar associado ao material genético como pode se observar na correlação positiva entre tamanho e forma de asa ($r=0,1168$; $p<0,04$), considerando que as variáveis geradas para forma são mais associadas à genética do indivíduo, conforme Francoy e Imperatriz-Fonseca (2010).

Tabela II. Correlação entre as matrizes de distância de forma, distância geográfica, tamanho dos centroides e altitude com o Teste de Mantel (5.000 permutações).

Matrizes comparadas	r	P
Forma X Distância Geográfica	0,2298	<0,01**
Forma X Altitude	-0,0475	0,72 ^{ns}
Forma X Tamanho	0,1168	0,04*
Tamanho X Distância Geográfica	0,0153	0,37 ^{ns}
Tamanho X Altitude	-0,0136	0,55 ^{ns}

* e ** São significativos ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente. ^{ns} é não significativo a nível de 5% de probabilidade.

Na análise de correlação entre matrizes também não foi constatada correlação entre altitude e a forma da asa (distância de Procrustes).

A forma da asa apresentou correlação positiva com a distância geográfica, sugerindo que parte das diferenças de forma de asas encontradas pode estar associada com as distâncias geográficas entre as populações, o que reduz ou limita o fluxo gênico favorecendo a ação da deriva genética e conseqüente diferenciação genética entre determinadas populações.

Contudo, em *M. quadrifasciata anthidioides*, Nunes et al. (2013) não encontraram correlação entre forma e distancia entre as populações, sugerindo que a reduzida variação de forma de asa encontrada nessa espécie pode estar

associada às maiores restrições evolutivas para esta característica da asa, embora a fragmentação de *habitats* pode proporcionar variação interpopulacional devido a formação de pequenas populações.

Em estudos com *M. subnitida*, Bonatti et al. (2014) e Lima et al. (2014) também identificaram correlação positiva entre variáveis de forma e distância geográfica das populações, sendo atribuída a menor variação entre populações próximas o fato de haver troca de material genético via ação antrópica com transporte de colônias (Bonatti et al. 2014) e maior variação associada a maiores distâncias geográficas entre populações (Lima et al. 2014).

Nas populações de *M. asilvai* amostradas não foram constatadas trocas ou transporte de colônias conforme informações obtidas com os meliponicultores. Esta espécie de abelha ainda é criada de modo extrativista, corroborando com Souza et al. (2008), diferente de outras melíponas que já são manejadas a mais tempo por diversos meliponicultores como a *M. mandacaia* (Alves et al. 2007), *Melipona mondury* (Sousa et al. 2012), *M. quadrifasciata* (Nunes et al. 2013) e *M. scutellaris* (Alves et al. 2012). Neste contexto, as variações morfológicas encontradas na *M. asilvai* são inerentes à espécie, sendo a forma da asa um marcador morfológico que pode ser utilizado em estudos populacionais com essa abelha.

CONCLUSÃO

A diversidade e variações biogeográficas nas populações de *Melipona asilvai* estudadas tanto na forma como no tamanho de asas estão associadas ao isolamento por barreiras físicas e distâncias geográficas entre as populações que limitam o fluxo gênico, resultando na diferenciação genética entre as populações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alibert, P., Moureau, B., Dommergues, J.L., David, B. (2001) Differentiation at a microgeographical scale within two species of ground beetle, *Carabus auronitens* and *C. nemoralis* (Coleoptera: Carabidae): a geometrical morphometric approach. Zool. Scr. **30**, 299-311

- Alves, R.M.O., Carvalho, C.A.L., Souza, B.A., Santos, W.S. (2012) Areas of natural occurrence of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) in the state of Bahia, Brazil. An . Acad. Bras. Ciênc. **84**, 679–688
- Alves, R.M.O., Souza, B.A., Carvalho, C.A.L. (2007) Notas sobre a binomia de *Melipona mandacaia* (Apidae: Meliponina). Magistra **19** (3), 177-264
- Araújo, E.D. (2000) Extinção em populações do gênero *Melipona* (Hymenoptera: Meliponinae): efeito do tamanho populacional e da produção de machos por operárias. Naturalia **25**, 287-299
- Araújo, E.D., Costa, M., Chaud-Netto, J., Fowler, H.G. (2004) Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): Interference of flight range and possible ecological implications. Braz. J. Biol. **64**, 563-368
- Bonatti, V., Simões, Z.L.P., Franco, F.F., Francoy, T.M. (2014) Evidence of at least two evolutionary lineages in *Melipona subnitida* (Apidae, Meliponini) suggested by mtDNA variability and geometric morphometrics of forewings. Naturwissenschaften **101**, 17-24
- Carvalho, C.A.L., Santos, W.S., Nunes, L.A., Souza, B.A, Carvalho-Zilse G.A., Alves R.M.O. (2011) Offspring analysis in a polygyne colony of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Apidae) by means of morphometric analyses. Sociobiology **57**, 347-354.
- Francoy, T.M., Grassi, M.L., Imperatriz-Fonseca, V.L., May-Itzá, W.J. ,Quezada-Euán, J.J.G. (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
- Francoy ,T.M., Imperatriz-Fonseca, V.L. (2010) A morfometria geométrica de asas e a identificação automática de espécies de abelhas. Oecol. Aust. **14**, 317-321

- Klingenberg, C.P. (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol. Ecol. Resour.* **11**, 353–357.
- Lima, C.B., Nunes, L.A., Ribeiro, M.F., Carvalho, C.A.L. (2014) Population Structure of *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) at the Southern Limit of its Distribution Based on Geometric Morphometrics of Forewings. *Sociobiology* **61** (4), 478-482
- Lima Junior, C.A., Carvalho, C.A.L., Nunes, L.A., Franco, T.M. (2012) Population divergence of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Meliponina) in two restricted areas in Bahia, Brazil. *Sociobiology* **59**, 107-121
- Lima Junior, C.A., Carvalho, C.A.L., Nunes, L.A., Santos, W.S. (2015) Variação morfológica entre populações disjuntas de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). *Interciência* **40** (5), 324-329
- Nunes, L.A., Araújo, E.D., Carvalho, C.A.L., Waldschmidt, A.M. (2008) Population divergence of *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae) endemic to the semiarid region of State of Bahia, Brazil. *Sociobiology* **52** (1), 81-93
- Nunes, L.A., Passos, G.B., Carvalho, C.A.L., Araújo, E.D. (2013). Spatial variation of size and shape of the wing in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera; Meliponini) assessed by geometric morphometrics. *Braz. J. Biol.* **73**, 887-893
- Nunes, L.A., Pinto, M.F.F.C., Carneiro, P., Pereira, D.G., Waldschmidt, A.M. (2007) Divergência Genética em *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae) com base em Caracteres Morfológicos. *Biosci. J.* **23**, 1-9
- Rohlf, F.J. (2008) Program tpsDIG2 for Windows version 2.12. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. (<http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>, acessado em 21/outubro/2008).

Sousa, H.A.C., Viana, M.V.C., Alves, R.M.O., Pereira, D.G., Waldschmidt, A.M. (2012) Distribution of *Melipona mondury* Smith 1863 (Hymenoptera: Apidae, Meliponini) from state of Bahia. *Magistra* **24**, 99-104

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

Souza, B.A., Carvalho, C.A.L., Alves, R.M.O., Dias, C.S., Clarton, L. (2009) Munduri (*Melipona asilvai*): a abelha sestrosa. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/SEAGRI, Cruz das Almas.

CAPÍTULO 3

DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE *Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE)¹

¹Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Apidologie.

DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE *Melipona asilvai* MOURE, 1971 (HYMENOPTERA: APIDAE)

RESUMO: A fragmentação de habitats, mudanças climáticas e manejo inadequado de colônias de *Melipona asilvai*, podem contribuir para diminuição de suas populações e perda de diversidade, sendo necessários estudos sobre seu estado de conservação. Neste contexto, o objeto deste trabalho foi avaliar a diversidade genética de *Melipona asilvai* na área de ocorrência natural dessa espécie de abelha. Foram amostrados 116 colônias de *M. asilvai* em 32 localidades nos Estados da Bahia, Minas Gerais, Sergipe, Pernambuco e Piauí. Para as amplificações foram utilizados seis marcadores microssatélites heterólogos (Mbi232, Mbi233, Mbi254, Mquad7, Mru03 e Mru14), que apresentaram de quatro a onze alelos. A heterozigosidade observada (H_o) foi de 0,51, enquanto que a heterozigosidade esperada (H_e) foi de 0,56. Com a Análise de Variância Molecular foi possível identificar que 82,6% da variação genética se encontra dentro das populações, sendo os valores globais de F_{st} de 0,166 e D_{est} de 0,266. Na análise Bayesiana pode-se verificar a estruturação genética de algumas populações, sendo que esta diferenciação pode estar associada às barreiras geográficas como distâncias geográficas entre as populações e gradientes de altitude. A maior diversidade genética foi encontrada na área de maior probabilidade de ocorrência da espécie. Estes resultados podem contribuir para programas de manejo e conservação da *M. asilvai*.

Palavras-chave: Abelhas sem ferrão, conservação, genética populacional.

**DIVERSITY AND GENETIC STRUCTURE OF *Melipona asilvai* MOURE, 1971
(HYMENOPTERA: APIDAE)**

ABSTRACT: Habitat fragmentation, climate change, and improper management of colonies of *Melipona asilvai* can contribute to the decrease of its populations. Therefore, studies on its conservation status are needed. In this context, the objective of the present study was to assess the genetic diversity of *M. asilvai* in its natural area of occurrence. We sampled 116 colonies of *M. asilvai* in 32 localities in the states of Bahia, Minas Gerais, Sergipe, Pernambuco, and Piauí. For the amplifications, we used six heterologous microsatellite markers (Mbi232, Mbi233, Mbi254, Mquad7, Mru03, and Mru14), which produced from four to eleven alleles. Observed heterozygosity (H_o) was 0.51, whereas expected heterozygosity (H_e) was 0.56. With the Analysis of Molecular Variance it was possible to estimate that 82.6% of the genetic variation is observed within each population; the global value of F_{st} was 0.166 and the value of D_{est} was 0.266. Through a Bayesian analysis we observed genetic structuring in some populations, and the differences could be associated with geographic barriers, the geographic distance between populations, and altitude gradients. The highest genetic diversity was observed in the area of highest probability of occurrence of the species. These results can contribute to programs for the management and conservation of *M. asilvai*.

Key-words: Stingless bees, conservation, population genetics.

INTRODUÇÃO

As abelhas sem ferrão desempenham importante papel ecológico na polinização de espécies nativas nas regiões tropicais (Alves et al. 2011), além de possuírem elevado potencial para serem utilizadas na polinização de diversos cultivos (Slaa et al. 2006).

Apesar desta importância, Giannini et al. (2012) destacam o evidente declínio dessas abelhas nativas provavelmente associado à mudanças climáticas, introdução de espécies exóticas e fragmentação de habitats. Entretanto, o principal problema enfrentado para conservar a fauna de abelhas nativas é a escassez de informações sobre a riqueza, a diversidade, taxonomia, distribuição, dinâmica populacional e impacto das atividades antrópicas sobre estas espécies (Freitas et al. 2009).

Neste contexto, estudos que empregam marcadores moleculares e genética de populações contribuem com a biologia da conservação, pois fornecem parâmetros populacionais fundamentais que permitem estimar a diversidade genética e estruturação populacional, que são características relevantes para o estabelecimento de estratégias de manejo e conservação para estas espécies (Zayed 2009; Duarte et al. 2014).

Estudos populacionais em abelhas do gênero *Melipona* com marcadores moleculares, em especial com os microssatélites, são utilizados com frequência para avaliar desde o efeito da criação dessas abelhas em meliponários (Carvalho-Zilse et al. 2009; Alves et al. 2011; Koser et al. 2014), até a diversidade e a estruturação de populações nativas (Tavares et al. 2007; Tavares et al. 2013a; 2013b; Viana et al. 2013).

Dentre as espécies desse gênero, *M. asilvai* vem se destacando na região semiárida como abelha utilizada para a produção de mel (Souza et al. 2008), embora com poucas informações sobre a diversidade de suas populações.

Diante do exposto, neste trabalho foi avaliada a diversidade e estrutura genética de populacional de *M. asilvai* na sua área de ocorrência natural, gerando subsídios para planos de manejo e conservação da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 116 colônias foram amostradas de 32 populações de *M. asilvai* obtidas em localidades de ocorrência natural da espécie nos estados da Bahia, Minas Gerais, Sergipe, Pernambuco e Piauí (Tabela I).

Tabela I. Populações, localidade, coordenadas geográficas, altitude e número de colônias amostras de *Melipona asilvai* coletadas na área de ocorrência natural.

População	Localidade/Estado	Latitude	Longitude	Altitude (m)	N
MA01	Casa Nova-BA	-9,1619	-40,9708	581	5
MA02	Dom Inocêncio-PI	-9,0022	-41,9736	340	1
MA03	Petrolina-PE	-9,3986	-40,5008	401	4
MA04	Boa Vista do Tupim-BA	-12,6603	-40,6092	337	9
MA05	Cafarnaum-BA	-11,6936	-41,4683	770	3
MA06	Canarana-BA	-11,6847	-41,7689	690	4
MA07	Cansanção-BA	-10,6672	-39,4992	263	1
MA08	Central-BA	-11,1356	-42,1128	698	1
MA09	Conceição do Coité-BA	-11,5639	-39,2828	424	10
MA10	Contendas do Sincorá-BA	-13,7628	-41,0411	291	1
MA11	Igaporã-BA	-13,7733	-42,7142	717	1
MA12	Itaberaba-BA	-12,5275	-40,3069	276	10
MA13	Jeremoabo-BA	-10,0750	-38,4808	275	7
MA14	Juazeiro-BA	-9,4117	-40,4986	368	1
MA15	Manoel Vitorino-BA	-14,1453	-40,2425	292	3
MA16	Monte Santo-BA	-10,4378	-39,3328	490	3
MA17	Morro do Chapéu-BA	-11,5500	-41,1561	602	2
MA18	Muquém do São Francisco-BA	-12,1986	-43,8328	434	1
MA19	Nova Fátima-BA	-11,6072	-39,6319	300	2
MA20	Novo Triunfo-BA	-10,3222	-38,4083	460	3
MA21	Paulo Afonso-BA	-9,4061	-38,2147	243	2
MA22	Poço Redondo-SE	-9,8050	-37,6844	430	6
MA23	Ponto Novo-BA	-10,8628	-40,1336	188	6
MA24	Quijingue-BA	-10,7525	-39,2092	370	4
MA25	Ruy Barbosa-BA	-12,2839	-40,4939	410	9
MA26	Santa Terezinha-BA	-12,7719	-39,5233	700	1
MA27	São Gabriel-BA	-11,2292	-41,9119	505	5
MA28	São João das Missões-MG	-14,8836	-44,0906	810	2
MA29	Seabra-BA	-12,4186	-41,7703	690	1
MA30	Tanque Novo-BA	-13,5464	-42,4914	815	5
MA31	Umburanas-BA	-10,7328	-41,3264	770	1
MA32	Valente-BA	-11,4122	-39,4619	350	2

N = número de colônias amostradas.

Extração de DNA e amplificação de microssatélites

O DNA total de uma operária por colônia foi extraído com o Kit de extração de DNA “*Wizard Genomic DNA Purification kit*” (PROMEGA®) com o seguinte protocolo: Parte do tecido da cabeça da operária foi macerada em microtubo de 2,0 mL com auxílio de pistilo de vidro autoclavado imersa em tampão de extração contendo 60 µl EDTA, 250 µl *Nuclei Lyses Solution* (PROMEGA®) e 10 µl Proteinase K (20 mg/mL). As amostras foram levadas para o banho-maria por 3 horas a temperatura de 55°C. Após esse tempo, adicionou-se a solução de RNase, levando-se ao banho-maria por 30 minutos a 37°C, deixando em seguida esfriar em temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se *Protein Precipitation Solution* (PROMEGA®), invertendo-se cada amostra por 20 segundos, transferindo os microtubos para o freezer por 5 minutos e logo após retirando o sobrenadante, o qual contém o DNA. Ao sobrenadante foi adicionado isopropanol puro e gelado, centrifugando-se por 5 minutos a 13000 rpm a 4°C. Após a centrifugação descartou-se todo o isopropanol e adicionou-se etanol 70% gelado, centrifugando por 7 minutos a 13000 rpm a 4°C. Todo sobrenadante foi descartado e o tubo com o *pellet* foi colocado na estufa a 37°C por 15 minutos. Depois do *pellet* estar seco adicionou-se 25 µl da solução de reidratação de DNA. O DNA extraído foi quantificado e sua pureza foi analisada pela relação 260/280 nm em biofotometro Eppendorf D30.

Para a amplificação foram realizados testes de polimorfismo com 53 *primers* heterólogos e destes foram selecionados seis locos por serem polimórficos (Tabela II) - Mbi232, Mbi233 e Mbi254 (Peters et al. 1998); Mquad7 (Tavares et al. 2013a); Mru03 e Mru14 (Lopes et al. 2009). Os locos selecionados foram amplificados conforme metodologia descrita por Peters et al. (1998).

O volume da reação de amplificação foi de 10 µL composto com 0,4 µM de cada *primer*, 1,5 mM de MgCl₂, 0,1 mM de cada dNTP, 1X de tampão, 0,5 U de Taq DNA polimerase e 20 ng de DNA total. O programa de amplificação iniciou com uma etapa de desnaturação a 94°C por 3 minutos; seguida de 40 ciclos de 92°C por 30 segundos, temperatura padronizada para cada loco por 1 minuto, 72°C por 30 segundos; e uma extensão final a 72°C por 5 minutos.

Os fragmentos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante a 8%, corados com nitrato de prata a 0,2% e visualizados em transiluminador.

Tabela II. Locos microssatélites e sequência dos *primers* utilizados em *Melipona asilvai*.

Locus	Repetição	Sequencia (5' – 3')	Tamanho (pb)	T (°C)
Mbi232	(CTT)13	F: TTTTCTCTTAAATTTTCTTCT R: CTTACTCGACGACTTTATTT	128	50,0
Mbi233	(GAA)15	F: ACGAGCACGGGCCATAA R: GATCCATCGACCGCTTCTT	119	57,5
Mbi254	(AAG)11	F: CAATCGTTGGAAGGGAAC R: GGACCTATACCCAAGTCCAT	213	55,0
Mquad7	(AT)21	F: CGCACACGCTAACGGAACG R: CAGGACGAGGCGTAACCG	131-185	65,0
Mru03	(AG)6(CGTT)6	F: AGAGAGAGAGAGAGACGC R: GGTGAAAGGAGAACGAAC	120	63,0
Mru14	(TCG)8TT(GTC)4	F: GCTGTTCCCTGTTCGAG R: CCCCTATCTTTTATGCCG	136	62,5

T = temperatura de anelamento utilizada.

Análise estatística

A avaliação de presença de alelos nulos foi realizada com o programa Micro-Checker 2.2.3 (van Oosterhout et al. 2004). O número de alelos, heterozigosidades médias observada (H_o) e esperada (H_e), desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg e Estatística F foram estimados com o programa GenePop 4.3 (Rousset 2008). A análise de variância molecular (AMOVA) foi realizada com o programa Arlequin 3.5.2.1 (Excoffier e Lischer 2010). O índice de diferenciação genética D_{est} de Jost (2008) foi estimado com o programa SMOGD versão 1.2.5 (Crawford 2010). Foi realizado o teste de Mantel com 9.999 permutações entre distância geográficas e as matrizes par-a-par de F_{st} e D_{est} com o programa GeneAlex 6.5 (Peakall e Smouse, 2012). O agrupamento bayesiano foi estimado com o programa STRUCTURE 2.3.2 (Pritchard et al. 2000), com 100.000 interações de burn-in e 1.000.000 interações de MCMC (Markov Chain Monte

Carlo). O número K de populações estruturadas foi calculado com 10 repetições com K de 1 a 32 no software Structure Harvester (Earl e vonHoldt, 2012). Para as análises de agrupamento Bayesiano foram utilizadas todas as amostras e para as demais análises foram consideradas apenas amostragens com número de colônias amostras igual ou maior a três (17 populações).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os seis locos microssatélites utilizados apresentaram número de alelos que variaram entre 4 e 11, com uma média de 6,8/loco (Tabela III). Não foram detectados desvios no equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$).

Tabela III. Número de alelos por loco (A), heterozigosidade média observada (Ho) e esperada (He) e desvio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p < 0,05$).

Locos	A	Ho	He	HW
Mbi232	6	0,32	0,35	ns
Mbi233	11	0,67	0,69	ns
Mbi254	5	0,52	0,55	ns
Mquad7	4	0,54	0,58	ns
Mru03	9	0,53	0,64	ns
Mru14	6	0,51	0,53	ns

ns: Não significativo.

Nas populações não foram encontrados alelos nulos, mesmo sendo todos os marcadores heterólogos. Lopes et al. (2010) destacam que a utilização de marcadores heterólogos e seus resultados devem ser analisados com cautela devido a presença de alelos nulos, sendo preferível a utilização de marcadores específicos. Contudo, Viana et al. (2011) ressaltam que o número de espécies do gênero *Melipona* com marcadores específicos é reduzido, o que torna a utilização de marcadores heterólogos uma alternativa viável.

Os resultados encontrados corroboram com Viana et al. (2011), que demonstraram a possibilidade de utilização de *primers* desenvolvidos para espécie do gênero *Melipona* também serem utilizados para outras espécies desse

mesmo gênero. Conforme Carvalho-Zilse e Kerr (2006), o maior sucesso de transferência de marcadores ocorre entre espécies filogeneticamente mais próximas.

A percentagem média de polimorfismo (Tabela IV) foi de 96,08%, sendo 100,00% em 15 populações estudadas e apenas duas populações apresentaram valor de 66,67%. A percentagem de polimorfismo foi superior às encontradas por Koser et al. (2014), em populações de *M. mondury* (15,0%) e *M. quadrifasciata* (50%) que associaram estes resultados à presença de alelos nulos, não sendo detectado no presente estudo.

Tabela IV. Heterozigosidade observada (H_o), Heterozigosidade esperada (H_e) e Porcentagem de polimorfismo dos alelos (P%) de *Melipona asilvai*.

Populações	H_o	H_e	P(%)
MA01	0,43	0,48	100,00
MA03	0,33	0,31	66,67
MA04	0,67	0,69	100,00
MA05	0,33	0,44	100,00
MA06	0,54	0,51	100,00
MA09	0,63	0,59	100,00
MA12	0,53	0,53	100,00
MA13	0,33	0,47	100,00
MA15	0,61	0,68	100,00
MA16	0,72	0,64	100,00
MA20	0,50	0,42	66,67
MA22	0,36	0,57	100,00
MA23	0,56	0,67	100,00
MA24	0,67	0,64	100,00
MA25	0,57	0,60	100,00
MA27	0,47	0,54	100,00
MA30	0,47	0,64	100,00
Média	0,51	0,56	96,08

A heteroziguidade observada (H_o) variou de 0,33 a 0,72, com média de 0,51, enquanto que a heteroziguidade esperada (H_e) apresentou valores entre 0,31 e 0,69, com a média de 0,56. A média de H_e foi igual ao encontrado por Carvalho-Zilse et al. (2009) em *M. scutellaris* ($H_e=0,56$) e superior aos encontrados em outros trabalhos com espécies de meliponíneos como: 0,38 para *M. mondury* e 0,43 para *M. rufiventris* (Lopes et al. 2010); 0,35 para a *M. madacaia* (Miranda et al. 2012); 0,23 - 0,47 para *M. quadrifasciata* (Tavares et al. 2013a); 0,50 para *M. scutellaris* (Tavares et al. 2013b); e 0,105 para *M. mondury* e 0,189 para *M. quadrifasciata* (Koser et al. 2014).

A diversidade genética encontrada em *M. asilvai* ($H_e = 0,56$), apesar de ser superior a maioria dos trabalhos supracitados, é considerada baixa, e na Tribo Meliponini este valor reduzido é associado com aspectos genéticos, biológicos e ambientais (Tavares et al. 2013b). Interferências antrópicas também podem contribuir para redução da variabilidade genética como fragmentação de habitats e ações predatórias para coleta de mel, que reduzem o número de colônias em determinada localidade (Lopes et al. 2010).

Com a Análise Molecular de Variância (AMOVA) foi possível verificar que 82,64% da variação total está dentro das populações e 17,36% encontra-se entre as populações com valor de Φ_{st} de 0,17 ($p<0,01$) (Tabela V). Estes valores estão próximos aos encontrados por Viana et al. (2013) em populações de *M. scutellaris* que verificaram 89,32% e 10,68% da variação, intra e interpopulações respectivamente, o que indicou ausência de estruturação nas populações amostradas. Tavares et al. (2013b) encontraram valores na AMOVA semelhantes ao do presente trabalho (82,6% de variação dentro das populações e 17,4% entre populações), entretanto identificaram um elevado valor de Φ_{st} (0,528: $p<0,001$), indicando estruturação genética entre as populações estudadas a partir de gradientes de altitude.

A estruturação genética moderada também foi identificada por Miranda et al. (2012) em populações de *M. madacaia* (variação dentro localidades de 70,39% e 29,61% entre localidades com Φ_{st} de 0,296; $p<0,001$) e associada a fluxo gênico restrito.

Tabela V. Análise molecular de variância (AMOVA) para seis locos microssatélites em população de *Melipona asilvai*.

Fontes de Variação	GL	Soma dos Quadrados	Componente de variância	Varição (%)	Estatística F
Entre Populações	16	90,539	0,35532	17,36	Φ_{st} 0,17*
Dentro das populações	175	296,065	1,69180	82,64	
Total	191	386,604	2,04713		

*valor significativo ($p < 0,01$)

O valor de F_{is} foi de 0,087, o que indica um baixo nível de endogamia, enquanto que, o valor global de F_{st} foi de 0,166 e o D_{est} foi de 0,266, o que sugere diferenciação genética entre as populações analisadas. A diferenciação genética pode ser visualizada na matriz que compara as populações par-a-par com os índices F_{st} e D_{est} (Tabela VI).

Os dois índices demonstraram padrão semelhantes para diferenciação das populações, o que foi confirmado com o teste de Mantel com alta correlação positiva entre esses dois estimadores ($r=0,93$; $p > 0,01$). As populações MA01 (Casa Nova-BA) e MA03 (Petrolina-PE) não apresentaram diferença significativa entre si, contudo foram as mais divergentes, se destacando das demais com elevados valores para os índices par-a-par (F_{st} de 0,31 a 0,60; D_{est} de 0,21 a 0,78), o que influenciou diretamente nos estimadores globais F_{st} e D_{est} . As comparações entre as demais populações apresentaram valores máximos significativos para os índices de 0,32 para F_{st} e 0,28 para D_{est} .

A diferenciação genética verificada pode estar associada ao isolamento por distância, uma vez que no teste de Mantel (9.999 permutações) foram encontradas correlações positivas significativas entre as distâncias geográficas das populações e as matrizes par-a-par dos estimadores F_{st} ($r=0,34$; $p < 0,01$) e D_{est} ($r=0,28$; $p < 0,05$). O isolamento por distância também foi verificado em populações de *M. mandacaiá* por Miranda et al. (2012) e em populações de *M. scutellaris* por Tavares et al. (2013b), quando destacaram que quanto maior a distância entre as populações tende-se a ter maior diferenciação genética.

Tabela VI. Matriz par-a-par para os índices F_{st} (diagonal inferior) e médias harmônicas de D_{est} (diagonal superior) de 17 populações de *Melipona asilvai*.

População	MA04	MA05	MA06	MA01	MA09	MA12	MA13	MA15	MA16	MA20	MA03	MA22	MA23	MA24	MA25	MA27	MA30
MA04		0,12	0,04	0,53	0,08	0,04	0,22	0,00	0,16	0,13	0,59	0,10	0,09	0,02	0,00	0,09	0,01
MA05	0,11		0,00	0,42	0,05	0,08	0,12	0,18	0,23	0,28	0,40	0,05	0,15	0,19	0,08	-0,04	0,14
MA06	0,08	-0,08		0,46	0,07	0,03	0,14	0,02	0,15	0,15	0,45	0,08	0,12	0,14	0,03	0,00	0,11
MA01	0,32	0,42	0,42		0,46	0,43	0,69	0,36	0,34	0,43	0,00	0,33	0,38	0,51	0,42	0,43	0,21
MA09	0,08	0,11	0,14	0,37		0,07	0,01	0,05	0,02	0,04	0,57	0,00	0,00	0,01	0,02	0,02	0,14
MA12	0,06	0,09	0,08	0,42	0,07		0,13	0,00	0,13	0,15	0,50	0,10	0,08	0,14	0,06	0,06	0,15
MA13	0,17	0,20	0,21	0,46	0,03	0,14		0,13	0,03	0,02	0,78	0,01	0,00	0,01	0,10	0,05	0,28
MA15	0,02	0,20	0,18	0,35	0,12	0,13	0,21		0,04	0,19	0,43	0,04	0,06	0,04	0,01	0,10	0,03
MA16	0,12	0,20	0,21	0,33	0,05	0,18	0,07	0,10		0,10	0,45	0,03	0,01	0,00	0,09	0,09	0,23
MA20	0,18	0,33	0,32	0,47	0,13	0,26	0,12	0,32	0,18		0,52	0,09	0,00	0,01	0,02	0,11	0,14
MA03	0,38	0,51	0,51	-0,01	0,44	0,48	0,55	0,44	0,45	0,60		0,45	0,52	0,69	0,50	0,51	0,27
MA22	0,10	0,09	0,16	0,35	-0,01	0,11	0,03	0,09	0,05	0,17	0,42		0,00	-0,01	0,05	0,01	0,13
MA23	0,06	0,11	0,13	0,31	0,00	0,09	0,00	0,10	0,04	0,02	0,40	-0,03		0,00	0,04	0,05	0,24
MA24	0,04	0,19	0,20	0,38	0,03	0,12	0,04	0,10	0,04	0,10	0,48	-0,05	-0,03		0,02	0,03	0,09
MA25	0,00	0,11	0,09	0,35	0,05	0,06	0,11	0,12	0,14	0,10	0,42	0,10	0,03	0,06		0,03	0,03
MA27	0,10	-0,11	0,00	0,39	0,06	0,08	0,10	0,17	0,13	0,23	0,47	0,04	0,06	0,08	0,08		0,14
MA30	0,01	0,16	0,14	0,24	0,15	0,17	0,23	0,05	0,14	0,19	0,33	0,16	0,12	0,11	0,05	0,16	

As populações apresentam amostragens com número de colônias ≥ 3 .
Os valores de F_{st} em destaque são não significativos.

As populações de *M. asilvai* mais divergentes, MA01 (Casa Nova-BA) e MA03 (Petrolina-PE), são geograficamente próximas entre si e distantes das restantes. Essas populações estão no limite noroeste de ocorrência da espécie, à margem esquerda do Rio São Francisco que, possivelmente promove o isolamento dessas populações e impede o fluxo gênico com as demais, uma vez que, conforme Araújo et al. (2004) a distância de voo está associada ao tamanho do corpo das abelhas sem ferrão.

Araújo et al. (2004) estimaram para a espécie *M. scutellaris* (maior que a *M. asilvai*) distâncias máximas de voo de aproximadamente 2.800 metros, sendo este valor, inferior às distâncias entre as margens do Rio São Francisco como nas proximidades da localidade de Casa Nova-BA, que após a construção da barragem e Lago do Sobradinho em 1970, apresenta distâncias entre margens de até 25 quilômetros.

Neste sentido, o isolamento promovido pelo Rio São Francisco proporciona a diferenciação genética das populações MA01 e MA03, decorrente do limitado fluxo gênico e consequente ação da deriva genética que, como observado por Nunes et al. (2013) em meliponíneos, é mais acentuada em populações pequenas e isoladas.

Na análise Bayesiana foi encontrado o valor ótimo de $K = 4$, sugerindo que as populações utilizadas descendem de quatro *clusters* genéticos (representados na Figura 1 pelas cores amarela, azul, verde e vermelha).

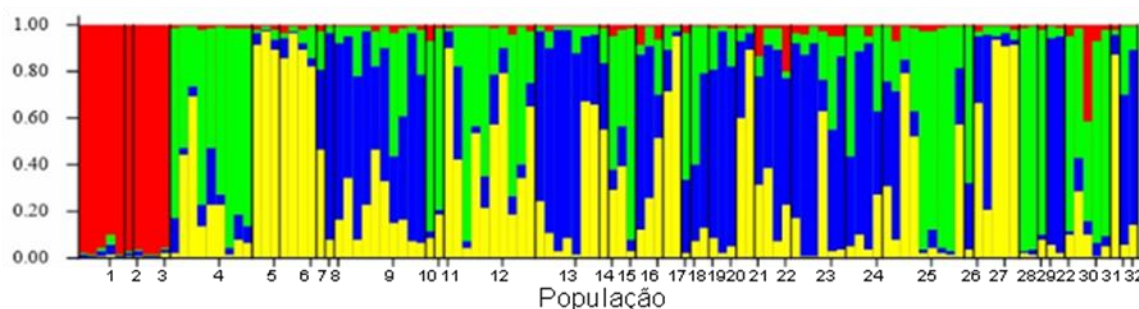


Figura 1. Agrupamento Bayesiano de populações de *Melipona asilvai* com o programa Structure, com a formação de quatro *clusters* genéticos indicados pelas cores vermelha, verde, amarela e azul.

Verifica-se a sobreposição dos quatro *clusters* genéticos em diferentes populações de distintas localidades, principalmente nas áreas de maior

probabilidade de ocorrência de *M. asilvai* (Figura 2), o que sugere um fluxo gênico recente e manutenção da diversidade genética dessa espécie nessa área. Este aspecto apresenta elevada importância para programas de proteção e conservação da diversidade desta espécie, além de aproveitamento dessa variabilidade em futuros programas de melhoramento genético e manejo racional dessa abelha.

As diferenças genéticas verificadas nas populações MA01 e MA03 também foram visualizadas na análise Bayesiana realizada com todas as 32 populações obtidas, onde se pode observar a formação de um grupo distinto (de coloração predominantemente vermelha na Figura 2) composto pelas populações MA01 (Casa Nova-BA), MA02 (Dom Inocêncio-PI) e MA03 (Petrolina-PE), confirmando que o isolamento geográfico deste grupo está promovendo a sua diferenciação genética devido à falta de fluxo gênico e consequente ação de deriva genética.

O grupo formado pelas populações de MA05 (Cafarnaum-BA), MA06 (Canarana-BA), MA17 (Morro do Chapéu-BA), MA27 (São Gabriel-BA) e MA31 (Umburanas-BA), de predominância do *cluster* genético de cor amarela na Figura 2, também se destaca das demais. Possivelmente, esta divergência está associada à presença da cadeia de montanhas *Greenstone Belt de Mundo Novo*, que promovem um isolamento geográfico das colônias nessa região, evidenciando provável limitação de dispersão vertical neste grupo de abelhas, conforme verificado por Nunes et al. (2007) para as populações de *M. scutellaris* em Morro do Chapéu-BA.

O efeito da altitude na estruturação genética em *M. scutellaris* também foi identificado por Tavares et al. (2013b), que encontraram dois grupos distintos separados por gradientes de altitude. Entretanto Tavares et al. (2013b) destacaram que a divergência genética encontrada poderia estar relacionada ao conjunto de condições climáticas peculiares às localidades dentro de um gradiente de altitude. Esta combinação de características associadas à altitude foi considerada por Alves et al. (2012), que verificaram melhor desenvolvimento das colônias de *M. scutellaris* residentes em altitudes menores, com menor amplitude térmica diária.

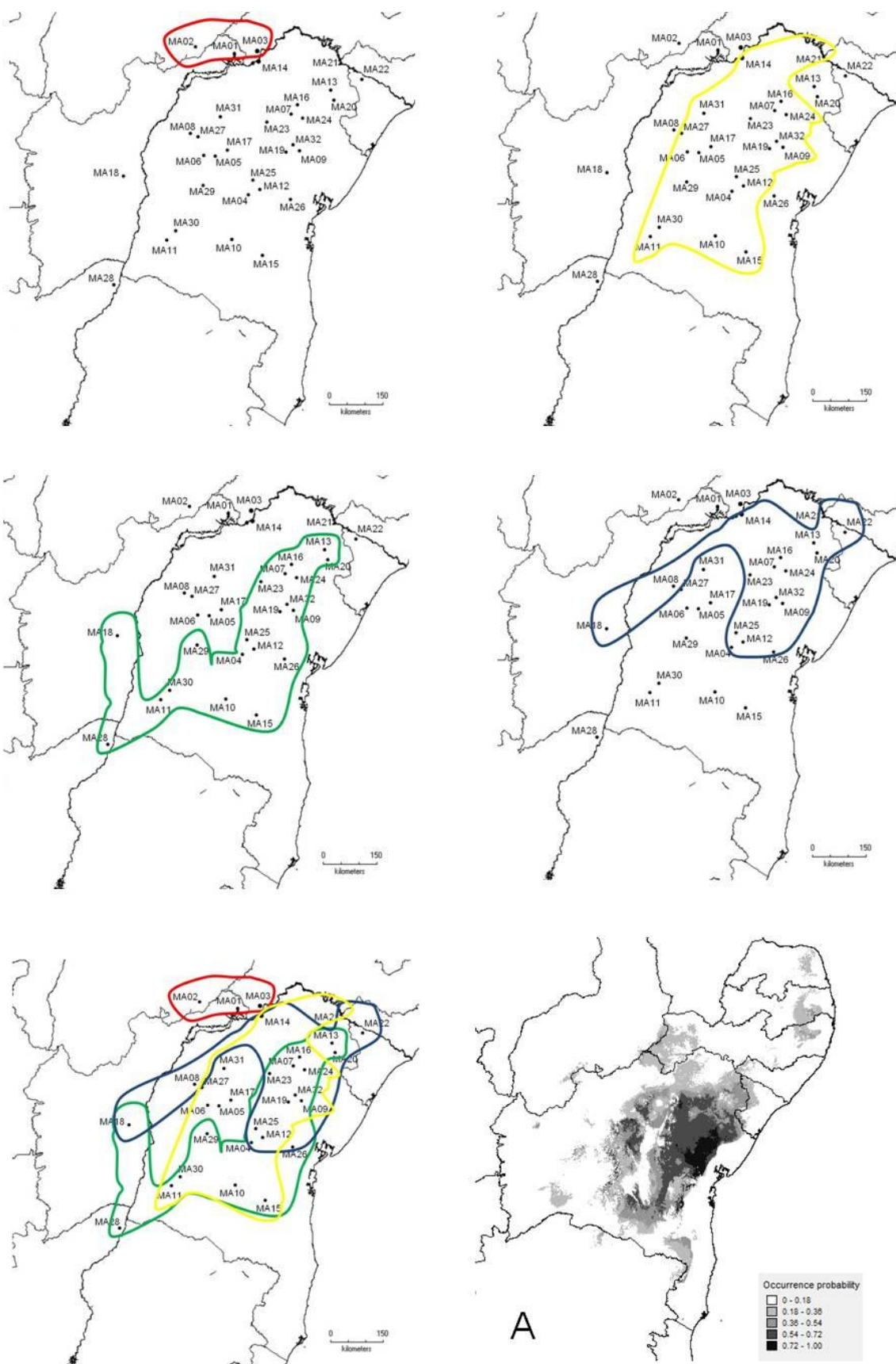


Figura 2. Distribuição dos *clusters* genéticos nas populações de *Melipona asilvai*.
A - Distribuição potencial de *M. asilvai*.

Os resultados obtidos com o estudo da diversidade genética e estruturação populacional de *M. asilvai* podem contribuir para programas de conservação e manejo desta espécie, além da associação com trabalhos futuros de filogeografia com um maior número de colônias amostradas que poderão esclarecer outras questões relacionadas a esta abelha como as prováveis vias de dispersão da espécie e consequente direção de fluxo gênico.

CONCLUSÕES

A maior diversidade genética de *M. asilvai* é verificada nas áreas de maior probabilidade de ocorrência da espécie. A estruturação genética em populações de *M. asilvai* está associada a barreiras geográficas que impedem ou limitam o fluxo gênico dessa espécie em determinadas regiões da sua área de ocorrência natural.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, D.A., Imperatriz-Fonseca, V.L., Francoy, T.M., Santos-Filho, P.S., Billen, J., Wenseleers, T. (2011) Successful maintenance of a stingless bee population despite a severe genetic bottleneck. *Conserv. Genet.* **12**, 647-658
- Alves, R.M.O., Carvalho, C.A.L., Souza, B.A., Santos, W.S. (2012) Areas of natural occurrence of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) in the state of Bahia, Brazil. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **84**, 679-688
- Araújo, E.D., Costa, M., Chaud-Netto, J., Fowler, H.G. (2004) Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): Interference of flight range and possible ecological implications. *Braz. J. Biol.* **64**, 563-368
- 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)? *Gen. Mol. Res.* **8**, 758-765

- Carvalho-Zilse, G.A., Kerr, W.E. (2006) Utilização de marcadores microsatélites para estudos populacionais em *Melipona scutellaris* (Apidae, Meliponini). *Magistra* **18**, 213-220
- Crawford, N.G. (2010) SMOGD: software for the measurement of genetic diversity. *Mol. Ecol. Resour.* **10**, 556-557
- Duarte, O.M.P., Gaiotto, F.A., Costa, M.A. (2014) Genetic Differentiation in the Stingless Bee, *Scaptotrigona xanthotricha* Moure, 1950 (Apidae, Meliponini): a Species with Wide Geographic Distribution in the Atlantic Rainforest. *J. Hered.* **105** (4), 477-484
- Earl, D.A., vonHoldt, B.M. (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* **4** (2), 359-361
- Excoffier, L., Lischer, H.E.L. (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* **10**, 564-567
- Freitas, B.M., Imperatriz-Fonseca, V.L., Medina, L.M., Kleinert, A.M.P., Galetto, L., Nates-Parra, G., Quezada-Euán, J.J.G. (2009) Diversity, threats and conservation of native bees in the neotropics. *Apidologie* **40**, 332-346
- Giannini, T.C., Acosta, A.L., Garófalo, C.A., Saraiva, A.M., Alves-dos-Santos, I., Imperatriz-Fonseca, V.L. (2012) Pollination services at risk: Bee habitats will decrease owing to climate change in Brazil. *Ecol. Model.* **244**, 127-131
- Jost, L. (2008) G_{st} and its relatives do not measure differentiation. *Mol. Ecol.* **17**, 4015-4026
- Koser, J.R., Francisco, F.O., Moretto, G. (2014) Genetic Variability of Stingless Bees *Melipona mondury* Smith and *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) from a Meliponary. *Sociobiology*, **61** (3), 313-314

- Lopes, D.M., Silva, F.O., Salomão, T.M.F., Campos, L.A.O., Tavares, M.G. (2009) Microsatellite loci for the stingless bee *Melipona rufiventris* (Hymenoptera, Apidae). *Mol. Ecol. Resour.* **9**, 923-925
- Lopes, D.M., Campos, L.A.O., Salomão, T.M.F., Tavares, M.G. (2010) Comparative study on the use of specific and heterologous microsatellite primers in the stingless bees *Melipona rufiventris* and *M. mondury* (Hymenoptera, Apidae). *Gen. Mol. Biol.* **33** (2), 390-393
- Miranda, E.A., Batalha-Filho, H., Oliveira, P.S., Alves, R.M.O., Campos, L.A.O., Waldschmidt, A.M. (2012) Genetic Diversity of *Melipona mandacaia* SMITH 1863 (Hymenoptera, Apidae), an Endemic Bee Species from Brazilian Caatinga, Using ISSR. *Psyche* **2012**, 1-6
- Nunes, L.A., Passos, G.B., Carvalho, C.A.L., Araújo, E.D. (2013). Spatial variation of size and shape of the wing in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera; Meliponini) assessed by geometric morphometrics. *Braz. J. Biol.* **73**, 887-893
- Nunes, L.A., Pinto, M.F.F.C., Carneiro, P., Pereira, D.G., Waldschmidt, A.M. (2007) Divergência Genética em *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae) com base em Caracteres Morfológicos. *Biosci. J.* **23**, 1-9
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research, an update. *Bioinformatics*, **28**, 2537-2539
- Peters, J.M., Queler, D.C., Imperatriz-Fonseca, V.L., Strassmann, J.E. (1998) Microsatellite loci for stingless bees. *Mol. Ecol.* **7**, 784-787
- Pritchard J.K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* **155**, 945-959

- Slaa, E.J., Chaves, L.A.S., Malagodi-Braga, K.S., Hofstede, F.E. (2006) Stingless bees in applied pollination: pratic and perspectives. *Apidologie* **37**, 293-315
- Souza, B.A., Carvalho, C.A.L., Alves, R.M.O. (2008) Notas sobre a bionomia de *Melipona asilvai* (Apidae: Meliponini) como subsídio à sua criação racional. *Arch. Zootec.* **57**, 53-62
- Tavares, M.G., Almeida, B.S., Passamani, P.Z., Paiva, S.R., Resende, H.C., Campos, L.A.O., Alves, R.M.O., Waldschmidt, A.M. (2013b) Genetic variability and population structure in *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Apidae) from Bahia, Brazil, based on molecular markers. *Apidologie*, **44**, 720-728
- Tavares, M.G., Dias, M.A.S., Borges, A.A., Lopes, D.M., Busse, A.H.P., Costa, R.G., Salomão, T.M.F., Campos, L.A.O. (2007) Genetic divergence between population of the stingless bee uruçú- amarela (*Melipona rufiventris* group, Hymenoptera, Meliponini): is there a new *Melipona* species in the Brazilian state of Minas Gerais? *Genet. Mol. Biol.* **30**, 667-675
- Tavares, M.G., Pietrani, N.T., Durvale, M.C., Resende, H.C., Campos, L.A.O. (2013a) Genetic divergence between *Melipona quadrifasciata* Lapeletier (Hymenoptera, Apidae) populations. *Genet. Mol. Biol.* **36** (1), 111-117
- Viana, J.L., Francisco, A.K., Carvalho C.A.L., Waldschmidt, A.M. (2013) Genetic variability in *Melipona scutellaris* from Recôncavo, Bahia, Brazil. *Genet. Mol. Res.* **12** (4), 3444-3454
- Viana, M.V.C., Miranda, E.A., Francisco, A.K., Carvalho, C.A.L., Waldschmidt, A.M. (2011) Transferability of microsatellite primers developed for stingless bees to four other species of the genus *Melipona*. *Genet. Mol. Res.* **10** (4), 3942-3947
- van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M. (2004) Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes* **4**, 535-538

Rousset, F. (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resour* **8**, 103-106

Zayed, A. (2009) Bee genetics and conservation. *Apidologie*, **40**, 237-262

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho foram identificadas as áreas de ocorrência natural e distribuição potencial de *Melipona asilvai*, além das variações biogeográficas por morfometria geométrica de asas e diversidade genética e estruturação populacional desta espécie.

Melipona asilvai possui distribuição restrita à região semiárida brasileira como sugerido por Souza et al. (2009), associada à vegetação com características de Caatinga, em faixas de temperatura de 19,5°C a 26,5°C e em altitudes abaixo de 965 metros, o que a torna uma espécie endêmica do semiárido do Brasil.

Com a morfometria geométrica foi possível verificar diversidade morfológica entre as populações amostradas. No entanto, foi observada baixa estruturação populacional para a forma de asas, sugerindo que a forma de asa é um marcador conservado que pode ser utilizado em estudos populacionais para esta espécie. Foram encontradas diferenças significativas entre as populações ($p < 0,01$) para o tamanho do centroide. Parte das diferenças na forma de asas está associada ao isolamento geográfico por distância, conforme teste de Mantel ($r = 0,23$; $p < 0,01$). O tamanho das asas não apresentou correlação com a altitude conforme trabalhos similares com *Melipona* spp. (NUNES et al., 2007; 2008; 2013; LIMA JUNIOR et al., 2015). Entretanto, o tamanho pode estar associado a outras variáveis ambientais como fontes, quantidade e qualidade de alimento, além da carga genética do indivíduo.

A diversidade genética também foi constatada com o uso de marcadores microsatélites heterólogos, confirmando a possibilidade de transferibilidade de marcadores desenhados para espécies de *Melipona*, para utilização em abelhas desse mesmo gênero, como destacado por Viana et al. (2011).

A maior diversidade genética foi verificada na área de maior probabilidade de ocorrência da *M. asilvai* proposta por este trabalho. Contudo, foi encontrada estruturação genética de populações que estão localizadas próximas ao limite noroeste de ocorrência da espécie, nos municípios de Casa Nova-BA, Dom Inocêncio-PI e Petrolina-PE, além de estarem isolada das outras populações pelo Rio São Francisco e Lago do Sobradinho. Também houve estruturação nas populações localizadas nos municípios de Canarana-BA, Cafarnaum-BA, Morro do Chapéu-BA, São Gabriel-BA e Umburanas-BA, decorrente de cadeias de montanha que formam uma barreira geográfica para populações residentes nestas localidades.

Assim como na morfometria geométrica, parte da diferenciação genética esta associada isolamento por distância geográfica ($p < 0,05$), o que reduz o fluxo gênico entre as populações.

A associação de estudos envolvendo ocorrência natural, modelagem de distribuição potencial, diversidade morfológica e genética da *M. asilvai* pode subsidiar planos de manejo e conservação desta importante espécie endêmica da região semiárida brasileira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LIMA JUNIOR, C. A.; CARVALHO, C. A. L.; NUNES, L. A.; SANTOS, W. S. Variação morfométrica entre populações disjuntas de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Interciência**, v.40, n.5, p.324-329, 2015.
- NUNES, L. A.; ARAUJO, E. D.; CARVALHO, C. A. L.; WALDSCHMIDT, A. M. Population divergence of *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae) endemic to the semiarid region of State of Bahia, Brazil. **Sociobiology**, v.52, n.1, p.81-93, 2008.
- NUNES, L. A.; PINTO, M. F. F. C.; CARNEIRO, P.; PEREIRA, D. G.; WALDSCHMIDT, A. M. Divergência Genética em *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae) com base em Caracteres Morfológicos. **Bioscience Journal**, v.23, p.1-9, 2007.

NUNES, L. A.; PASSOS, G. B.; CARVALHO, C. A. L.; ARAÚJO, E. D. Spatial variation of size and shape of the wing in *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera; Meliponini) assessed by geometric morphometrics. **Brazilian Journal of Biology**, v.73, p.887-893, 2013.

SOUZA, B. A.; CARVALHO, C. A. L.; ALVES, R. M. O.; DIAS, C. S. CLARTON, N. **Munduri (*Melipona asilvai*): a abelha sestrosa**. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/SEAGRI, 2009. 46p. (Serie Meliponicultura 07).

VIANA, M. V. C.; MIRANDA, E. A.; FRANCISCO, A. K.; CARVALHO, C. A. L.; WALDSCHMIDT, A. M. Transferability of microsatellite primers developed for stingless bees to four other species of the genus *Melipona*. **Genetics and Molecular Research**, v.10, n.4, p.3942-3947, 2011.

ANEXO

Tabela S1. Registro de ocorrência de *Melipona asilvai* no Estado da Bahia.

Ocorrência	Localidade	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Origem do registro
1	Anagé	384	-14,6122	-41,1356	Insecta
2	Anguera	235	-12,1511	-39,2464	Insecta
3	Aracatu	740	-14,4275	-41,4619	Insecta
4	Araci	272	-11,3333	-38,9667	Insecta
5	Barro Alto	705	-11,7608	-41,9117	Insecta
6	Barra	406	-11,0894	-43,1417	Neves e Viana (2002)
7	Biritinga	249	-11,6167	-38,8000	Insecta
8	Boa Vista do Tupim	317	-12,6603	-40,6092	Insecta
9	Boninal	955	-12,7017	-41,8275	Castro (2005)
10	Brotas de Macaúbas	813	-11,9989	-42,6258	Insecta
11	Brumado	422	-14,2036	-41,6653	Insecta
12	Caetanos	455	-14,3375	-40,9086	Insecta
13	Caetitê	824	-14,0694	-42,4750	Insecta
14	Cafarnaum	770	-11,6936	-41,4683	Insecta
15	Caldeirão Grande	492	-11,0200	-40,3028	Insecta
16	Canarana	691	-11,6847	-41,7689	Insecta
17	Cansanção	395	-10,6672	-39,4992	Insecta
18	Capela do Alto Alegre	412	-11,6681	-39,8378	Insecta
19	Casa Nova	397	-9,1619	-40,9708	Insecta
20	Castro Alves	278	-12,7656	-39,4283	Insecta
21	Central	698	-11,1356	-42,1128	Insecta
22	Cipó	132	-11,0997	-38,5136	Insecta
23	Conceição do Coité	440	-11,5639	-39,2828	Insecta
24	Contendas do Sincorá	291	-13,7628	-41,0411	Insecta
25	Cícero Dantas	436	-10,6000	-38,3833	Insecta
26	Euclides da Cunha	472	-10,5075	-39,0158	Insecta

Tabela S1. Registro de ocorrência de *Melipona asilvai* no Estado da Bahia. *Continuação*

Ocorrência	Localidade	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Origem do registro
27	laçu	242	-12,7672	-40,2117	Insecta
28	lchu	280	-11,7486	-39,1922	Insecta
29	Igaporã	765	-13,7733	-42,7142	Insecta
30	Ipirá	328	-12,1583	-39,7372	Insecta
31	Ipupiara	731	-11,8203	-42,6142	Insecta
32	Irajuba	542	-13,2514	-40,0844	Insecta
33	Iramaia	607	-13,2856	-40,9511	Insecta
34	Irecê	721	-11,3042	-41,8558	Insecta
35	Itaberaba	265	-12,5275	-40,3069	Souza et al. (2008); Insecta
36	Itaquara	578	-13,4508	-39,9411	Insecta
37	Itatim	260	-12,7119	-39,6981	Aguiar (2003); Insecta
38	Itiúba	377	-10,6917	-39,8536	Insecta
39	Jequié	215	-13,8575	-40,0836	Batalha-Filho et al. (2007); Insecta
40	Jeremoabo	275	-10,0750	-38,4808	Insecta
41	Juazeiro	368	-9,4117	-40,4986	Insecta
42	Lamarão	315	-11,7833	-38,9000	Insecta
43	Lapão	775	-11,3833	-41,8319	Insecta
44	Mairi	468	-11,7114	-40,1489	Insecta
45	Manoel Vitorino	292	-14,1453	-40,2425	Insecta
46	Maracás	964	-13,4411	-40,4308	Insecta
47	Marcionílio Souza	292	-13,0031	-40,5306	Insecta
48	Milagres	419	-12,8700	-39,8589	Insecta
49	Mirante	420	-14,2419	-40,7783	Insecta
50	Monte Santo	489	-10,4378	-39,3328	Insecta
51	Morro do Chapéu	610	-11,5500	-41,1561	Insecta
52	Muquém do São Francisco	560	-12,1986	-43,8328	Insecta
53	Nova Fátima	298	-11,6072	-39,6319	Insecta

Tabela S1. Registro de ocorrência de *Melipona asilvai* no Estado da Bahia. *Continuação*

Ocorrência	Localidade	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Origem do registro
54	Nova Itarana	560	-13,0269	-40,0686	Insecta
55	Nova Soure	169	-11,2333	-38,4833	Insecta
56	Novo Triunfo	460	-10,3222	-38,4083	Insecta
57	Olindina	139	-11,3667	-38,3333	Insecta
58	Oliveira dos Brejinhos	550	-12,3169	-42,8961	Insecta
59	Paulo Afonso	243	-9,4061	-38,2147	Insecta
60	Pintadas	300	-11,8125	-39,9086	Insecta
61	Ponto Novo	362	-10,8628	-40,1336	Insecta
62	Presidente Dutra	672	-11,2961	-41,9867	Insecta
63	Pé de Serra	286	-11,8339	-39,6125	Insecta
64	Queimadas	295	-10,9783	-39,6264	Insecta
65	Quijingue	352	-10,7525	-39,2092	Insecta
66	Quixabeira	420	-11,4117	-40,1283	Insecta
67	Rafael Jambeiro	238	-12,4083	-39,5014	Insecta
68	Riachão do Jacuípe	219	-11,8069	-39,3856	Insecta
69	Ribeira do Amparo	180	-11,0472	-38,4333	Insecta
70	Ribeira do Pombal	228	-10,8344	-38,5358	Insecta
71	Ruy Barbosa	368	-12,2839	-40,4939	Insecta
72	Santa Bárbara	293	-11,9583	-38,9750	Insecta
73	Santa Inês	398	-13,2922	-39,8189	Insecta
74	Santa Terezinha	700	-12,7719	-39,5233	Insecta
75	Santaluz	370	-11,2558	-39,3747	Insecta
76	Santanópolis	278	-12,0167	-38,8667	Insecta
77	Saúde	542	-10,9411	-40,4189	Insecta
78	Seabra	812	-12,4186	-41,7703	Insecta
79	Senhor do Bonfim	538	-10,4614	-40,1894	Insecta
80	Serrinha	379	-11,6642	-39,0075	Insecta

Tabela S1. Registro de ocorrência de *Melipona asilvai* no Estado da Bahia. *Continuação.*

Ocorrência	Localidade	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Origem do registro
81	Serrolândia	478	-11,4158	-40,3017	Insecta
82	Sátiro Dias	213	-11,6000	-38,6000	Insecta
83	São Gabriel	692	-11,2292	-41,9119	Insecta
84	Tanhaçu	430	-14,0214	-41,2481	Insecta
85	Tanque Novo	835	-13,5464	-42,4914	Insecta
86	Tanquinho	248	-11,9786	-39,1039	Insecta
87	Tucano	209	-10,9631	-38,7867	Souza et al. (2008); Insecta
88	Uauá	439	-9,8414	-39,4817	Insecta
89	Umburanas	738	-10,7328	-41,3264	Insecta
90	Valente	358	-11,4122	-39,4619	Insecta
91	Várzea da Roça	459	-11,6067	-40,1372	Insecta
92	Várzea do Poço	462	-11,5292	-40,3203	Insecta
93	Xique-Xique	312	-11,8667	-38,7667	Insecta

Insecta: Grupo de Pesquisa Insecta, Universidade federal do Recôncavo da Bahia