



UFAM

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ISAMARA SILVA DOS SANTOS

**MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DAS ESPÉCIES DE *Tetragona* LEPELETIER &
SERVILLE, 1828 (HYMENOPTERA: APIDAE: MELIPONINI)**

Manaus

2021

ISAMARA SILVA DOS SANTOS

**MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DAS ESPÉCIES DE *Tetragona* LEPELETIER &
SERVILLE, 1828 (HYMENOPTERA: APIDAE: MELIPONINI)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador(a): David Silva Nogueira

Coorientador(a): Fabio Siqueira Pitaluga de Godoi

Manaus

2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S237m Santos, Isamara Silva dos
Morfometria geométrica das espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) / Isamara Silva dos Santos . 2021
36 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: David Silva Nogueira
Coorientador: Fabio Siqueira Pitaluga de Godoi
TCC de Graduação (Ciências Biológicas - Bacharelado) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. abelha-sem-ferrão. 2. Asa anterior. 3. Taxonomia. 4. Variação da forma. 5. Venação alar. I. Nogueira, David Silva. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Dedico aos meus pais e irmãos, ao meu trio Alice, Taynara e Pedro e aos meus professores e orientadores, por me ajudarem a chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao INPA pela oportunidade de aprimoramento profissional através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), no departamento de Zoologia II – Entomologia, foram um ano e meio que me proporcionou grande aprendizado e se tornou decisivo para minha carreira profissional, além de boas amizades que espero levar pra vida;

Ao meu orientador David Nogueira, que contribuiu grandemente para esse trabalho, sem sua ajuda esse trabalho não seria possível. Obrigada por me ensinar tudo que sei sobre as abelhas e me mostrar o caminho que permitiu com que eu me apaixonasse por elas, por me abraçar quando cheguei ao laboratório, pela paciência de ensinar as coisas técnicas, a como manusear os espécimes, como mexer nos aparelhos, pelas conversas e conselhos, pelo chocolate e pelas caronas. São dois anos dessa parceria e amizade;

Agradeço a todas as instituições e curadores que nos enviaram espécimes: Isabel Alves-dos-Santos (CEPANN, São Paulo-SP), Marcio Oliveira (INPA, Manaus-AM), Orlando Silveira (MPEG, Belém-PA), Weyder Santana e Lucio Campos (UFV, Viçosa-MG) e Eduardo Almeida (RPSP, Ribeirão Preto-SP);

Agradeço também pelo apoio financeiro da bolsa pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - 01280.002501/2019-11, tornando possível a execução deste trabalho;

Aos meus professores, em especial aos da Zoologia, por me abraçarem e me fazerem sentir em casa, além de todo o aprendizado, não só acadêmico, mas também sobre a vida e como encarar ela de cabeça erguida e ir com tudo. Um agradecimento especial ao Sérgio Gianizella, por me fazer apaixonar pelos invertebrados marinhos, por me ajudar em um momento difícil e não me deixando desistir de tudo, pela grande amizade que temos e por todo café da tarde que tomamos juntos assistindo “GregNews” e os doces que me deixava roubar da sua sala; ao Fabio Godoi, por me aceitar como estagiária quando cheguei do nada falando que queria um estágio porque gostava de taxonomia apesar de não ter um grupo específico em mente, além disso, pelas longas conversas na sua sala falando dos assuntos mais aleatórios possíveis, pela amizade e por me indicar para o David; ao Fabricio Baccaro, por me aceitar como monitora, foram três semestres incríveis lhe ajudando e auxiliando nas aulas, tanto presenciais quanto virtuais, pelo aprendizado adquirido e pelas risadas durante as aulas, pelas conversas após as aulas, pela amizade e por me entender quando demorava pra entregar os relatórios corrigidos. E também um agradecimento especial ao Marcelo Menin, por me deixar pendurar na conta do Fabio os “10 real” que me cobrava quando ia beber água

na sala da zoologia. Ao Ronis da Silveira, por me abrir os olhos e fazer expandir os horizontes quanto à atuação do biólogo, saindo da caixinha;

Agradeço aos meus amigos Alice, Taynara e Pedro, por toda a ajuda que me deram, por todo apoio e não me deixando jogar tudo para o ar, pelos conselhos e conversas, por me ajudarem na parte matemática do meu trabalho e em como melhorar as abordagens feitas, além de todos os momentos de diversão que tivemos juntos e pelos dramas que assistimos juntas;

A minha psicóloga, por me ajudar a me centrar, me ensinar a controlar meus momentos de irritação e ansiedade, e a não mandar todos que me perturbaram a paciência pra bem longe.

Aos meus pais, Maria e Isaac, e aos meus irmãos, por toda ajuda e apoio durante a graduação, por me apoiarem em todas as minhas escolhas, e me auxiliarem em tudo. Obrigada por me ajudarem a ver a vida com mais leveza, por me distraírem e me alegrarem nos encontros de famílias e por me mimarem muito, ser a filha caçula tem suas vantagens, sou o centro das atenções.

RESUMO

Tetragona Lepeletier & Serville, 1828 é um gênero de abelhas “sem ferrão” que possui 15 espécies distribuídas no Neotrópico, do México ao Uruguai, sendo amplamente distribuído no Brasil, com nove espécies. Porém, *T. elongata* Lepeletier & Serville, espécie de ocorrência conhecida apenas para a região Sudeste e que havia sido sinonimizada sob *T. clavipes*, foi revalidada. O objetivo desse estudo foi testar se a análise morfométrica das asas é eficiente para reforçar a formação dos grupos de espécies, além de testar a validade da revalidação taxonômica citada acima. Para tal, foi estudada a variação da venação da asa anterior direita utilizando morfometria geométrica em 1001 operárias oriundas da Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA, Manaus, Amazonas), do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG, Belém, Pará), da Coleção Entomológica Paulo Nogueira-Neto (CEPANN-IB/USP, São Paulo, São Paulo), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP, Ribeirão Preto, São Paulo) Coleção Prof. J.M.F. Camargo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras De Ribeirão Preto (RPSP-USP, Ribeirão Preto, São Paulo), e da Universidade Federal de Viçosa (UVF, Viçosa, Minas Gerais). O estudo foi realizado com os grupos de espécies e suas respectivas espécies que ocorrem nas regiões Centro-Oeste, Nordeste, Norte, Sul e Sudeste do Brasil: *Ptilotrigona lurida* (n=38), *T. gr. dorsalis* [*T. beebei* (n=49), *T. dorsalis* (n=25), *T. zieglerei* (n=5)], *T. gr. clavipes* [*T. clavipes* (n=222), *T. elongata* (n=414), *T. perangulata* (n=3), *T. quadrangula* (n=28)], *T. gr. essequiboensis* [*T. essequiboensis* (n=24)], *T. gr. goettei* [*T. goettei* (n=94)], *T. gr. handlirschii* [*T. handlirschii* (n=32)], *T. gr. kaieteurensis* [*T. kaieteurensis* (n=53)] e *T. gr. truncata* [*T. truncata* (n=14)]. Para análises da morfometria geométrica foram selecionados 12 *landmarks*. Foi utilizado o *software* MorphoJ versão 1.6 para realização das análises de Função Discriminante (com 1000 replicações) e Análises de Variáveis Canônicas (CVA). Entre *T. clavipes* e *T. elongata*, houve sobreposição com uma variância de 100% entre espécies na CVA, sugerindo que podem corresponder a uma mesma espécie. Para o grupo *dorsalis*, a separação das espécies foi de 100%, e para as demais espécies, houve a separação dos grupos *goettei* e *essequiboensis*, porém, a sobreposição de *T. kaieteurensis*, *T. truncata* e *T. handlirschii* parece não corroborar os grupos previamente propostos. Isso pode se dar pela incerteza ainda das relações taxonômicas das espécies de alguns grupos ou também do número de amostras das espécies, já que para algumas, esse número foi baixo em comparação com outras.

Palavras-chave: abelha sem ferrão, asa anterior, taxonomia, variação da forma, venação alar.

ABSTRACT

Tetragona Lepeletier & Serville, 1828 (Hymenoptera: Apidae) is a genus of stingless bees and has 15 species distributed in the Neotropics, from Mexico to Uruguay, widely distributed in Brazil, with nine species. However, *Tetragona elongata* (Lepeletier & Serville, 1828), a species known from the Southeast region, had been synonymized under *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804) but was revalidated without any excuse. The purpose of this study was to test if the morphometrics analysis of the wings is efficient in diagnosing species of this genus and also to test the separation or junction between *T. elongata* and *T. clavipes*. To this end, the variation in venation of the right forewing was studied using geometric morphometry in 1001 workers from five Brazilian collections: Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA, Manaus, Amazonas), Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG, Belém, Pará), Coleção Entomológica Paulo Nogueira-Neto (CEPANN-IB/USP, São Paulo, São Paulo), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP, Ribeirão Preto, São Paulo), Coleção Prof. J.M.F. Camargo, Faculdade De Filosofia, Ciências e Letras De Ribeirão Preto (RPSP-USP, Ribeirão Preto, São Paulo), and Universidade Federal de Viçosa (UVF, Viçosa, Minas Gerais). To the geometric morphometry analysis, were selected 12 landmarks. To do Discriminant Function analysis (1000 replications) and Canonical Variation Analysis (CVA), the software MorphoJ version 1.6 has been used. Was used groups of species and their respective species that occur throughout Brazil to realize the study. Groups of species and their species used were: *Ptilotrigona lurida* (n=38), *T. gr. dorsalis* [*T. beebei* (n=49), *T. dorsalis* (n=25), *T. zieglerei* (n=5)], *T. gr. clavipes* [*T. clavipes* (n=222), *T. elongata* (n=414), *T. perangulata* (n=3), *T. quadrangula* (n=28)], *T. gr. essequiboensis* [*T. essequiboensis* (n=24)], *T. gr. goettei* [*T. goettei* (n=94)], *T. gr. handlirschii* [*T. handlirschii* (n=32)], *T. gr. kaieteurensis* [*T. kaieteurensis* (n=53)] e *T. gr. truncata* [*T. truncata* (n=14)]. Between *T. clavipes* and *T. elongata*, there was a 100% variance between species (canonical variation analysis), suggesting that it may be an indication of speciation. Even though *T. elongata* was revalidated, it still overlapped with *T. clavipes*, which indicates they are the same species. Taxonomic studies are needed to synonymize them. To *dorsalis* group, there was a 100% separation between the species. There was also a separation of *goettei* and *essequiboensis* groups. However, it had an overlap between *T. kaieteurensis*, *T. truncata*, and *T. handlirschii*, which do not support the groups previously proposed. It happens because of taxonomic relations uncertainty of species from some groups, or, the small number of samples, considering that to some species used, the number was low compared to others.

Key Words: forewing, stingless bee, shape variation, taxonomy, wing venation.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1:** Marcos anatômicos utilizados nas asas de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 no software tpsDig. Escala: 1 mm. 19
- Figura 2:** Vista lateral do corpo e asa de *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804) (A), *T. elongata* (Lepeletier & Serville, 1828) (B) e *T. quadrangula* (Lepeletier, 1836) (C). Escalas de corpo e asa igualadas a 1 mm. Análise canônica com o critério “Espécie” realizada com espécimes de *T. quadrangula*, *T. elongata* e *T. clavipes*, e com variância de 93,22% (D). Análise de Função Discriminante com o critério “Espécie” com 14,83% de sobreposição de *T. clavipes* com *T. elongata* e 9,70% de sobreposição de *T. elongata* com *T. clavipes* (E). 20

CAPÍTULO 2

- Figura 1:** Landmarks utilizado nas asas de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 no software tpsDig. 25
- Figura 2 e 3:** Análises das Variáveis Canônicas envolvendo espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828. 2: *T. beebei* (Schwarz, 1938) (Tb), *T. dorsalis* (Smith, 1854) (Tdor) e *T. ziegleri* (Friese, 1900) (Tz), com variância de 100%. 3: *T. essequiboensis* (Schwarz, 1940) (Tes), *T. goettei* (Friese, 1900) (Tg), *T. handlirschii* (Friese, 1900) (Th), *T. kaieteuresnsis* (Schwarz, 1938) (Tk) e *T. truncata* Moure, 1971 (Ttr), com variância de 59,61%.3 26
- Figura 4:** Análise de Função Discriminante com os gêneros *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 e *Ptilotrigona* Moure, 1951 ($p < 0,0001$). 27
- Figura 5:** Análises das Variáveis Canônicas envolvendo *Ptilotrigona lurida* (Smith, 1854) (Pl) com espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828, *T. beebei* (Schwarz, 1938) (Tb), *T. clavipes* (Fabricius, 1804) (Tc), *T. dorsalis* (Smith, 1854) (Tdor), *T. essequiboensis* (Schwarz, 1940) (Tes), *T. goettei* (Friese, 1900) (Tg), *T. handlirschii* (Friese, 1900) (Th), *T. kaieteuresnsis* (Schwarz, 1938) (Tk), *T. perangulata* (Cockerell, 1917) (Tp), *T. quadrangula* (Lepeletier, 1836) (Tq), *T. truncata* Moure, 1971 (Ttr) e *T. ziegleri* (Friese, 1900) (Tz), com variância de 42,58%. 27
- Figura 6:** Análises das Variáveis Canônicas envolvendo *Ptilotrigona lurida* (Smith, 1854) (Pl) com espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828, *T. clavipes* (Fabricius, 1804) (Tc), *T. essequiboensis* (Schwarz, 1940) (Tes) e *T. kaieteuresnsis* (Schwarz, 1938) (Tk), com variância de 57,12%. 28

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Tabela 1. Validação cruzada da Análise Discriminante com o classificador “Espécie”, entre <i>Tetragona clavipes</i> (Fabricius, 1804) e <i>Tetragona elongata</i> (Lepeletier & Serville, 1828).	19
--	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Análises das variáveis canônicas com os classificadores e espécies/gêneros utilizados e indicação da figura relacionada. <i>T. beebei</i> (Tb), <i>T. clavipes</i> (Tc), <i>T. dorsalis</i> (Tdor), <i>T. essequiboensis</i> (Tes), <i>T. goettei</i> (Tg), <i>T. handlirschii</i> (Th), <i>T. kaieteurensis</i> (Tk), <i>T. perangulata</i> (Tp), <i>T. quadrangula</i> (Tq), <i>T. truncata</i> (Tt), <i>T. ziegleri</i> (Tz) e <i>Ptilotrigona lurida</i> (Pl).	25
Tabela 2: Validação cruzada da Análise Discriminante com o classificador “Gênero”, entre <i>Ptilotrigona</i> (Moure, 1951) e <i>Tetragona</i> (Lepeletier & Serville, 1828).	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 GERAL.....	15
2.2 ESPECÍFICOS.....	15
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
3.1 Capítulo 1	16
3.1.1 AGRADECIMENTOS	19
3.1.2 CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES.....	19
3.1.3 REFERÊNCIAS	19
3.2 Capítulo 2	21
3.2.1 INTRODUÇÃO.....	22
3.2.2 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.2.3 RESULTADOS	26
3.2.4 DISCUSSÃO	28
3.2.5 CONCLUSÃO.....	29
3.3.6 AGRADECIMENTOS	30
3.3.7 REFERÊNCIAS	30
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1 INTRODUÇÃO

As abelhas pertencem à superfamília Apoidea, que faz parte da ordem Hymenoptera, na qual estão alojadas também as vespas e formigas. Elas estão distribuídas em mais de 20 mil espécies agrupadas em sete famílias para o mundo, sendo cinco delas com representantes no Brasil (Michener, 2007; Orr *et al.*, 2020).

A maioria de suas espécies tem hábitos solitários, constroem seus próprios ninhos e não cuidam da sua prole. Por outro lado, a minoria é composta por abelhas eussociais, com nítida sobreposição de geração e divisão de trabalhos dentro do ninho, comportamentos que representam o auge da evolução dos insetos sociais (Sakagami, 1982). Estas abelhas formam colônias com fêmeas adultas, e realizam atividades como o forrageamento, o cuidado da prole e a guarda do ninho. A rainha, que é maior que as operárias, tem a função de reproduzir e gerar descendentes férteis para a colônia (Carvalho-Zilse *et al.*, 2005; Michener, 2007).

As abelhas “sem ferrão” (Apidae: Meliponini) vivem em colônias e, na maioria das vezes, constroem ninhos em cavidades pré-existentes. Elas são caracterizadas por possuírem o ferrão atrofiado, impossibilitando o seu uso defensivo (Silveira *et al.* 2002; Michener, 2007).

Os Meliponini, formam a tribo com maior riqueza dentre as abelhas com corbícula, e possuem representantes principalmente em regiões tropicais e subtropicais do planeta, uma das causas mais prováveis desse padrão de distribuição geográfica é a sensibilidade dos indivíduos e das colônias a baixas temperaturas. Assim, ocorrem nas Américas do Sul e Central, África, Sudoeste da Ásia e Austrália. No Brasil são abelhas nativas e estão presentes em todo o país (Roubik, 1989; Silveira *et al.*, 2002; Camargo e Pedro, 2013). A tribo é formada por 33 gêneros e mais de 400 espécies conhecidas para o Neotrópico (Camargo e Pedro, 2013).

A sistemática de Meliponini foi parcialmente elucidada a partir das análises filogenéticas de Rasmussen e Cameron (2010), que recuperaram um único clado Neotropical e resolveram boa parte das relações entre os gêneros, resultando por exemplo, em *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 e *Ptilotrigona* Moure, 1951 como gêneros irmãos.

O gênero *Tetragona* é caracterizado por possuírem operárias com manchas amarelas nas áreas paraoculares, metassoma alongado (mais que duas vezes mais longo do que largo), corbícula bem desenvolvida e machos com sexto esterno com um processo mediano longo, estreito e cilíndrico, e sétimo esterno estreito, longo e formando uma antecosta em forma de “Y” (Camargo e Pedro, 2004).

O gênero possui 15 espécies (Camargo e Pedro 2013; Nogueira *et al.*, 2021; Pedro, 2014) que estão distribuídas no Neotrópico, do México ao Uruguai, sendo oito com

ocorrência no Brasil: *T. clavipes* (Fabricius, 1804), *T. dorsalis* (Smith, 1854), *T. essequiboensis* (Schwarz, 1940), *T. goettei* (Friese, 1900), *T. handlirschii* (Friese, 1900), *T. kaieteurensis* (Schwarz, 1938), *T. truncata* Moure, 1971 e *T. quadrangula* (Lepeletier, 1836). Entretanto, Pedro (2014) revalidou a espécie *T. elongata* (Lepeletier & Serville, 1828), que havia sido sinonimizada sob *T. clavipes* por Spinola (1840), como abelha distinta de *T. clavipes*, com ocorrência na região sudeste, apesar de não ter justificado a revalidação.

Nogueira *et al.* (2020) propuseram a formação de grupos para *Tetragona* com base em sua morfologia, sendo eles: 1. grupo *clavipes*, composto pelas espécies *T. clavipes*, *T. elongata*, *T. dissecta* Moure, 2000, *T. perangulata* (Cockerell, 1917), *T. quadrangula* e mais duas espécies novas (Nogueira *in prep.*), tendo como características o clípeo completamente amarelo, com ou sem manchas, linha longitudinal ou triângulo basal de castanhos escuro a pretos; com manchas amarelas nas paraoculares que não ultrapassam superiormente a tangente no alvéolo antenal; cerdas em T6 1,5x ou mais o comprimento das cerdas de T4, além disso, essas cerdas são mais abundantes que em T5; os tergos pretos com 1/3 apical amarelo contrastante; 2. grupo *dorsalis*, composto por *T. dorsalis*, *T. beebei* (Schwarz, 1938), *T. ziegleri* (Friese, 1900) e mais duas espécies novas (Nogueira *in prep.*), tendo como características o corpo de castanho claro a amarelo; clípeo amarelo ou com pequenas manchas castanhas escuras; macha paraocular geralmente sem uma fina estria justaposta ao olho composto. Se estria presente, tergos com coloração de castanho escuro a preto; mandíbula apenas com um dente proeminente, o segundo menor que o primeiro; membrana das asas hialinas, amareladas ou esfumadas; 3. grupo *goettei*, composto por *T. goettei*, *T. mayarum* (Cockerell, 1912) e uma espécie nova (Nogueira *in prep.*), tendo como características o corpo de castanho claro a amarelo; clípeo amarelo; mancha paraocular iniciando na metade do alvéolo antenal e com uma fina estria justaposta ao olho composto acima da tangente média do alvéolo antenal; mandíbula com os dois primeiros dentes proeminentes; membrana das asas esfumadas; 4. grupo *kaieteurensis*, composto por *T. kaieteurensis* e mais uma espécie nova (Nogueira *in prep.*), tendo como características as cerdas em T6 com comprimento similar às cerdas de T5; cerdas em T6 com abundância similar às em T5; tergos com coloração de castanhos claros a castanho escuros; corpo predominantemente castanho escuro; clípeo amarelo com mancha preta central; 5. grupo *handlirschii*, composto por *T. handlirschii* e mais duas espécies novas (Nogueira *in prep.*), tendo como características o clípeo com tonalidade de castanho escuro a preto, geralmente sem manchas nas paraoculares ou raramente com manchas paraoculares castanho escuras; corpo predominantemente castanho claro; pernas e escapo amarelados; membrana das asas esfumadas; veias castanho escuras;

6. grupo *essequiboensis*, composto apenas por *T. essequiboensis*, tendo como características o corpo completamente preto; cípeo preto; sem manchas paraoculares; pernas e escapo pretos; membrana das asas com metade basal esfumada e metade apical hialina; veias pretas, com petrostigma, veias R e Rs amareladas; e 7. grupo *truncata*, composto por *T. truncata* e *T. atahualpa* Nogueira & Rasmussen, 2020 (Nogueira *et al.*, 2021), tendo como características o dente basal de mesmo comprimento do segundo dente e bem próximo a ele; mancha paraocular truncada na tangente média do alvéolo antenal ou esfumada; área supraclipeal amarela truncada ou esfumada; bordo posterior do metabasitarso sem ângulo; membrana das asas hialina ou esfumada; tergos pretos com 1/3 apical amarelo com contraste ou castanhos com 1/3 apical castanho amarelo.

A separação de espécies próximas pode ser elucidada pela técnica de morfometria geométrica, que, segundo Slice (2005), consiste em um conjunto de métodos de aquisição, processamento e análise de variáveis de forma que preserva toda a informação geométrica contida nos dados originais. A morfometria é definida como um estudo estatístico da variação da forma em relação a fatores causais (Bookstein, 1991). Ou seja, almeja não somente quantificar as formas biológicas, mas também fazer inferências sobre causas que levam às diferenças de forma (Monteiro e Reis, 1999).

Os dados utilizados se baseiam em coordenadas cartesianas chamadas “marcos anatômicos” ou *landmarks* (Rohlf, 1990; Rohlf e Marcus, 1993; Monteiro e Reis, 1999). Estas coordenadas podem ser definidas num plano e ter duas dimensões ($x, y = 2D$) ou em um espaço de três dimensões ($x, y, z = 3D$). As coordenadas cartesianas são distâncias espaciais (em relação à origem de um referencial) que preservam toda a informação geométrica entre um conjunto de pontos (Fornel e Cordeiro-Estrela, 2012). Enquanto nas abordagens tradicionais a variação da forma é estudada através da covariação entre pares de medidas lineares, a morfometria geométrica é capaz de descrever e localizar mais claramente as regiões de mudanças na forma e, sobretudo, de construir e reconstituir graficamente estas diferenças (Astúa, 2003).

A vantagem do uso de coordenadas (em relação a medidas lineares, como as usadas na morfometria tradicional), é que estas incluem informação sobre suas posições relativas, e deste modo permitem a reconstrução da forma após as diversas análises uni- e multivariadas (Astúa, 2003). Porém, adquirir as coordenadas brutas dos marcos anatômicos é apenas mais um passo na aquisição dos dados. A importância das coordenadas está na informação geométrica de suas posições relativas (Marcus *et al.*, 1996; Adams *et al.*, 2004; Zelditch *et al.*, 2004).

Uma abordagem utilizada na diferenciação dos indivíduos baseia-se na aferição geométrica das asas, considerada uma técnica rápida e de baixo custo, já implementada com sucesso na identificação e caracterização da diversidade de abelhas “sem ferrão” em diversos estudos, cuja análise tornou-se uma característica informativa importante para estudos interespecíficos e também de populações (Francoy *et al.*, 2008; Francoy e Imperatriz-Fonseca, 2010; Nogueira *et al.*, 2019) e entre castas (Castro, 2012).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

O objetivo deste estudo foi realizar análises morfométricas da venação alar das espécies de *Tetragona* na tentativa de esclarecer a separação ou sobreposição entre elas, distinguindo morfótipos identificados de diferentes regiões do Brasil.

2.2 ESPECÍFICOS

Testar a separação ou junção entre *T. elongata* e *T. clavipes*;

Testar se a morfometria geométrica pode reforçar os grupos de espécies de *Tetragona*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Capítulo 1

Santos, IS; Nogueira, DS; Castro, I; Teixeira, JSG; Freitas, GS; Oliveira, ML. (2021). Padrões morfológicos na venação alar de espécies de *Tetragona* Lepelletier & Serville, 1828 do grupo *clavipes* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Entomological Communications*, ec03032.

Scientific Note

Padrões morfológicos na venação alar de espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 do grupo *clavipes* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini)

Isamara S. dos Santos^{1,2✉}, David S. Nogueira^{1,3}, Ivan de Castro⁴, Juliana S. G. Teixeira⁵, Geusa S. de Freitas⁴, Marcio L. Oliveira¹

¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas, Brasil. ²Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Amazonas, Brasil. ³Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil. ⁴Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. ⁵Instituto Tecnológico Vale (ITV), Belém, Pará, Brasil.

✉Corresponding author: isabranches.ib@gmail.com

Edited by: Pedro G. B. S. Dias

Received: August 09, 2021. Accepted: November 02, 2021. Published: November 19, 2021.

Morphological patterns of wing venation in *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 species of the *clavipes* group (Hymenoptera: Apidae: Meliponini)

Abstract. *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 (Hymenoptera: Apidae) is a genus of stingless bees widely distributed in Brazil. It has 15 species distributed in the Neotropics, from Mexico to Uruguay, nine of which are found in Brazil. However, *Tetragona elongata* (Lepeletier & Serville, 1828), a species known only from the Southeast region and which had been synonymized with *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804), was revalidated without any justification. The aim of this study was to test whether the morphometrics analysis of the wings is efficient in the diagnosis of the species of this genus, in addition to testing the validity of the revalidation mentioned above. This technique was applied by accessing the right forewings of 660 workers of *T. clavipes*, *T. elongata* e *T. quadrangula* (Lepeletier, 1836), from five Brazilian collections. For the geometric morphometric analysis, 12 landmarks were selected. The software MorphoJ version 1.6 was used to do Discriminant Function analysis (1000 replications) and Canonical Variation Analysis (CVA). Between *T. clavipes* and *T. elongata*, there was a 100% variance between species (canonical variation analysis), suggesting that it may be an indication of speciation. Even though *T. elongata* has been revalidated, it still has overlapped with *T. clavipes*, which indicates to be the same species. Taxonomic studies are needed to synonymize them.

Keywords: Shape variation, species, stingless bee, taxonomy, wing venation.

Tetragona Lepeletier & Serville, 1828 (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), possui espécies que estão distribuídas do México ao Uruguai, sendo nove com ocorrência para o Brasil: *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804), *Tetragona dorsalis* (Smith, 1854), *Tetragona elongata* (Lepeletier & Serville, 1828), *Tetragona essequiuboensis* (Schwarz, 1940), *Tetragona goettei* (Friese, 1900), *Tetragona handlirschii* (Friese, 1900), *Tetragona kaieteurensis* (Schwarz, 1938), *Tetragona truncata* Moure, 1971 e *Tetragona quadrangula* (Lepeletier, 1836). Sendo que Pedro (2014) revalidou *T. elongata*, espécie de ocorrência conhecida apenas para a região Sudeste, a qual havia sido sinonimizada sob *T. clavipes* por Spinola (1840). *Tetragona clavipes* faz parte do grupo *clavipes* e possui cinco espécies similares morfológicamente (*T. clavipes*, *T. elongata*, *T. quadrangula*, *T. perangulata* (Cockerell, 1917) e *T. dissecta* Moure, 2000).

A espécie *T. clavipes* foi descrita por Fabricius (1804) e é uma espécie nativa da América do Sul, sendo encontrada da Colômbia até Uruguai, passando pela Bolívia, Brasil, Guiana, Paraguai, Peru e Suriname. No Brasil ocorre nos biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Pampa (Camargo & Pedro 2013) onde faz seus ninhos em ocos de árvores. Possui colônias muito populosas, de comportamento territorialista e bastante defensivo, com abelhas-guardas que mordem e depositam resina em quem se aproxima ou interfere em seu ninho (Kerr et al. 1967; Oliveira et al. 2013; Duarte et al. 2016). Morfológicamente, as operárias de *T. clavipes* possuem corbícula bem desenvolvida, a metade apical das asas mais hialinas e possuem o corpo com 6 a 8 mm

de comprimento. A espécie é popularmente conhecida como “borá” e além de possuir muitas variações morfológicas, como a coloração dos pelos da frente e o padrão de altura e inclinação da mancha paraocular, que confundem a sua real identificação e separação de outras espécies (Nogueira et al. 2020; 2021).

A separação de espécies próximas pode ser elucidada pela técnica de morfometria geométrica, que consiste em um estudo estatístico da variação da forma em relação a fatores causais, que quantifica as formas biológicas e faz inferências sobre causas que levam às diferenças de forma (Bookstein 1991; Monteiro & Reis 1999). A confusão taxonômica envolvendo as diferentes espécies de *Tetragona* pode ser avaliada por diferentes técnicas. Uma delas é avaliar o quanto variações morfológicas sutis nas formas de determinadas estruturas dos insetos, como o padrão da venação das asas, por exemplo, podem ser estatisticamente diferentes entre os organismos em questão, ajudando a solucionar questões complexas como diferenciação de espécies próximas filogeneticamente. Essa técnica tem sido uma ferramenta bem-sucedida no estudo com abelhas “sem ferrão”, que sugerem que diferentes padrões na venação alar das asas anteriores ajudam a identificar, discriminar e caracterizar gêneros, espécies e até mesmo raças de abelhas (Francoy et al. 2006; Francoy et al. 2008; Francoy et al. 2009).

O objetivo deste estudo foi realizar análises morfométricas da venação alar das espécies de *Tetragona* do grupo *clavipes* na tentativa de esclarecer a separação ou sobreposição entre elas, distinguindo



morfótipos identificados de diferentes regiões do Brasil. Com isso, objetivou-se também testar a validade da revalidação proposta por Pedro (2014).

Foram estudadas 660 espécimes de operárias, preservadas em via seca, da Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA, Manaus, Amazonas; n=395), além de material obtido por empréstimo de outras coleções, como o Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG, Belém, Pará; n=87), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP, Ribeirão Preto, São Paulo; n=61), Coleção Prof. J.M.F. Camargo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (RPSP-USP, Ribeirão Preto, São Paulo, n=23), Coleção Entomológica Paulo Nogueira-Neto (CEPANN-IB/USP, São Paulo, São Paulo; n=41) e Universidade Federal de Viçosa (UFV, Viçosa, Minas Gerais; n=76).

Para a confecção das lâminas permanentes, foi removida a asa anterior direita de operárias de *T. clavipes* (n=219), *T. elongata* (n=414) e *T. quadrangula* (n=27). Cada asa foi extraída manualmente e imersa em Acetato de Butila, sendo fixada em uma laminula com Bálsamo do Canadá. Foram utilizadas laminulas (24 x 24 mm), que foram divididas em quatro partes com o auxílio de estilete. As lâminas foram deixadas em estufa em 40°C até a secagem. Todo esse processo foi feito pela mesma pessoa. Para a captura das imagens foi utilizado o estereomicroscópio Leica M205A acoplado à câmera Leica DMC4500 com o software Leica Application Suite V4.1. Para análises da morfometria geométrica e escolha de 12 marcos anatômicos (Fig. 1) foram utilizados os softwares tpsUtil versão 1.64, tpsDig versão 2.22, tpsRelw versão 1.46. Foi utilizado o software MorphoJ versão 1.6 para realização das análises de Função Discriminante (com 1000 replicações), que examina a separação entre dois grupos observados, e Análises das Variáveis Canônicas (CVA), que é um método utilizado para encontrar características na forma que melhor difere entre os múltiplos grupos de amostras analisadas. Para as análises foram utilizadas três espécies do grupo *clavipes* (*T. clavipes*, *T. elongata* e *T. quadrangula*) (Fig. 2A, 2B e 2C), com os seguintes critérios: “Região”, com 52 indivíduos do Centro-Oeste, 20 do Nordeste, 167 do Norte, 348 do Sudeste e 73 do Sul; e “Espécie” com 219 indivíduos de *T. clavipes*, 414 de *T. elongata* e 27 de *T. quadrangula*.

Foi realizada uma análise de Função Discriminante com o critério “Estados” com *T. clavipes* do Pará e *T. elongata* do Paraná (102 e 73 espécimes, respectivamente); e uma segunda análise com o classificador “Espécie”, com apenas *T. clavipes* e *T. elongata* (236 e 412 espécimes, respectivamente).

Com os resultados obtidos a partir da CVA com a variável “Região”, verificou-se uma sobreposição das espécies encontradas em todas as regiões estudadas. Na CVA com a variável “Espécie”, verificou-se que *T. clavipes* e *T. elongata* se separam parcialmente no gráfico (Fig. 2D), formando dois conjuntos, com uma sobreposição entre as espécies

que é suportada com 93,22%.

A análise isolada das amostras de populações distantes, como dos estados do Pará e Paraná, desconsiderando todas as populações geograficamente intermediárias, evidencia uma separação maior entre os grupos dos indivíduos tratados como *T. clavipes* e *T. elongata* usando os critérios de “Espécie” e “Estado”, com taxa de sobreposição abaixo de 15% na Função Discriminante.

Quando avaliamos a tabela de validação cruzada com as espécies *T. clavipes* e *T. elongata* (Tab. 1) no critério “Espécie”, percebemos que 84,02% de indivíduos de *T. clavipes* foram classificados de maneira correta, assim como 89,86% de *T. elongata* ($p < 0,0001$), além disso, 35 indivíduos de *T. clavipes* foram classificados como *T. elongata* (n=219) e 40 de *T. elongata* foram identificados como *T. clavipes* (n=414) (Tab. 1).

Tabela 1. Validação cruzada da Análise Discriminante com o classificador “Espécie”, entre *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804) e *Tetragona elongata* (Lepeletier & Serville, 1828).

Espécie	<i>Tetragona clavipes</i>	<i>Tetragona elongata</i>	Total
<i>Tetragona clavipes</i>	184	35	219
<i>Tetragona elongata</i>	42	372	414

A variação na venação alar encontrada não foi significativa para a separação das espécies, pois houve sobreposição entre pontos encontrados nos gráficos ($p < 0,0001$) (Fig. 2D e 2E). Na análise das variações canônicas com o classificador “Espécie” (Fig. 2D), houve uma sobreposição de *T. clavipes* e *T. elongata*, com explicação de 100% entre espécies, sugerindo que as pequenas mudanças morfométricas encontradas não foram significativas para distinguir as espécies através da venação alar. O conjunto de *T. quadrangula* não mostrou separação clara em relação aos de *T. clavipes*+*T. elongata*, que pode ser inferido pelo viés da baixa amostra disponível nesta análise ou que sua asa seja muito similar às das outras, sugerindo ainda alguma dúvida em relação à sua validade taxonômica.

Esse estudo se mostrou promissor no sentido do entendimento sobre a relação entre as espécies de *Tetragona* do grupo *clavipes*, pois indicou que *T. clavipes* e *T. elongata* podem corresponder a uma única espécie. Além disso, estudos mais aprofundados de morfologia e que incluam outras técnicas auxiliares podem ser interessantes para reforçar essa hipótese de sinonimização taxonômica.

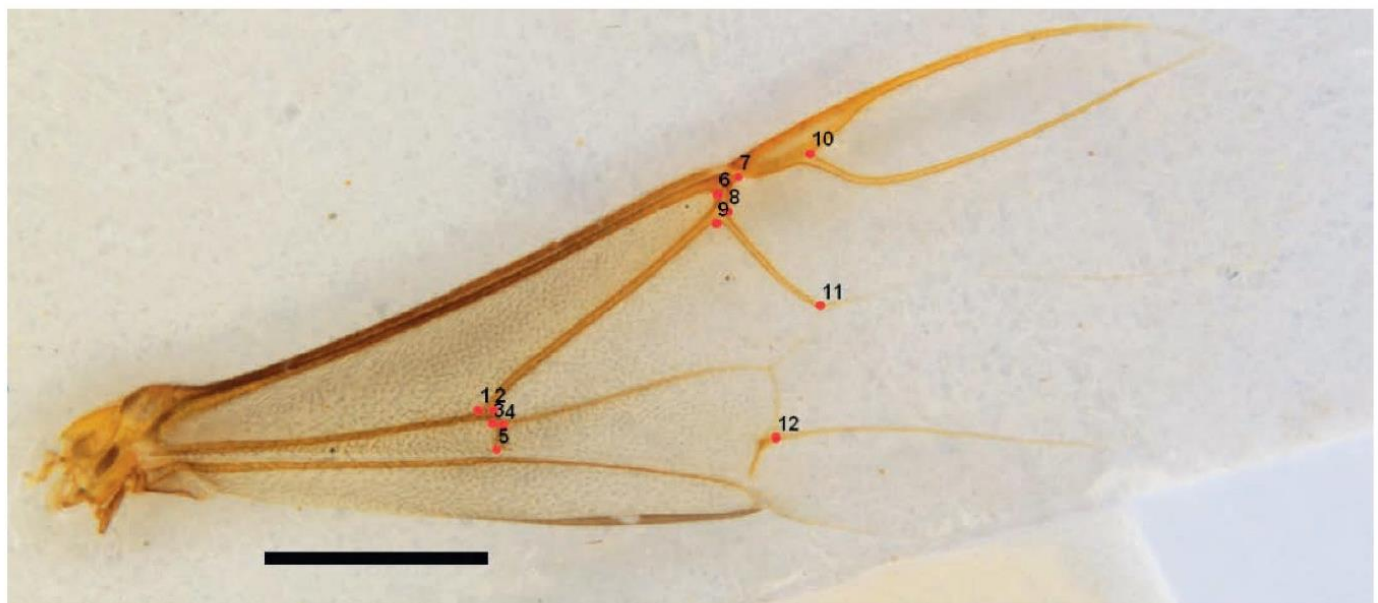


Figura 1. Marcos anatômicos utilizados nas asas de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 no software tpsDig. Escala: 1 mm.

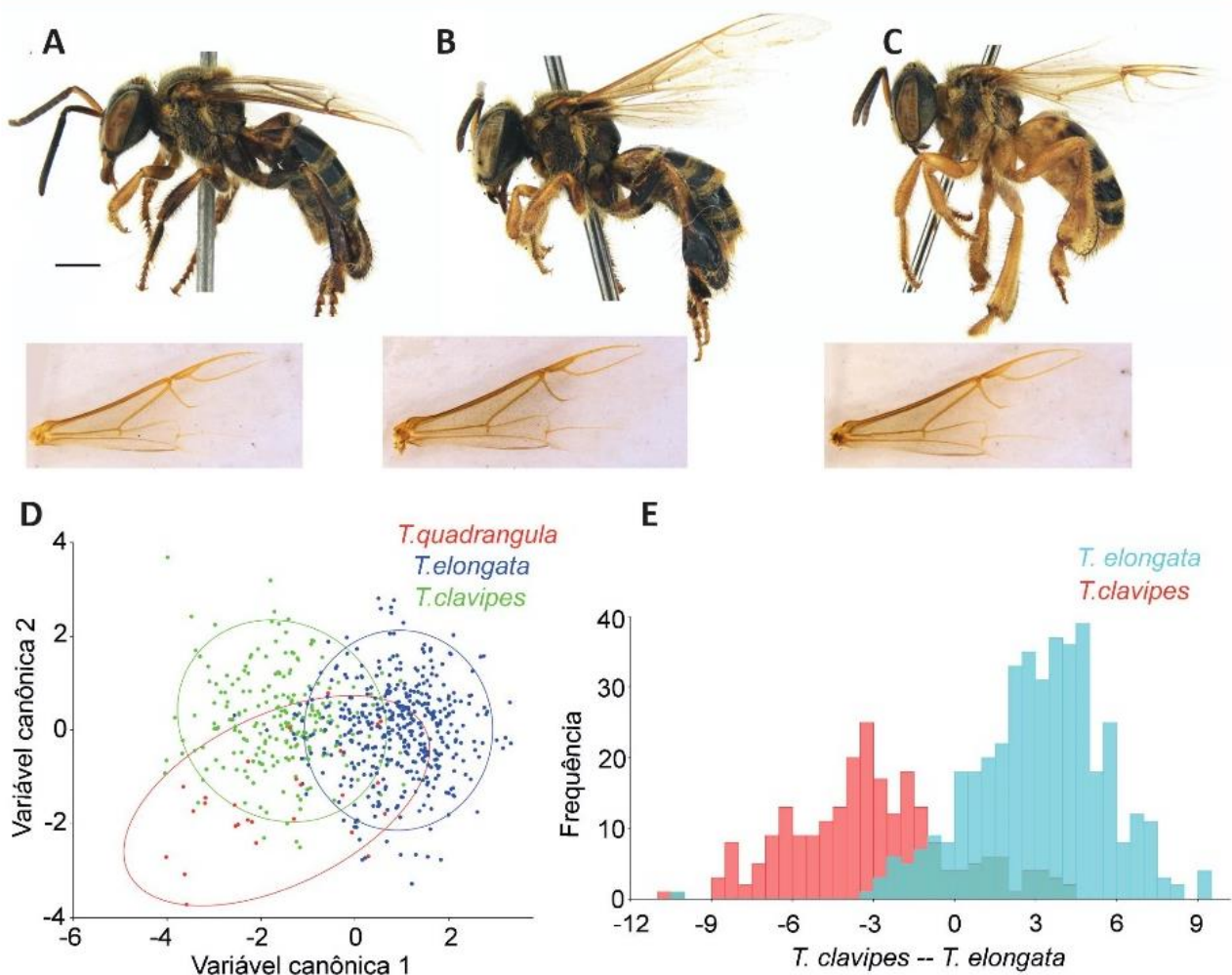


Figura 2. Vista lateral do corpo e asa de *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804) (A), *T. elongata* (Lepelletier & Serville, 1828) (B) e *T. quadrangula* (Lepelletier, 1836) (C). Escalas de corpo e asa igualadas a 1 mm. Análise canônica com o critério “Espécie” realizada com espécimes de *T. quadrangula*, *T. elongata* e *T. clavipes*, e com variância de 93,22% (D). Análise de Função Discriminante com o critério “Espécie” com 14,83% de sobreposição de *T. clavipes* com *T. elongata* e 9,70% de sobreposição de *T. elongata* com *T. clavipes* (E).

Agradecimentos

A todas as instituições e curadores que nos enviaram espécimes: Isabel Alves-dos-Santos (CEPANN), Marcio Oliveira (INPA), Orlando Silveira (MPEG), Weyder Santana e Lucio Campos (UFV) e Eduardo Almeida (RPSP). ISS agradece ao apoio financeiro da bolsa pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - 01280.002501/2019-11, DSN agradece pelo suporte do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM) e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (PPG-ENT). Esse estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, e FAPEAM-Programa POSGRAD.

Contribuições dos autores

ISS realizou as análises e escreveu o artigo. DSN e JSGT auxiliaram na execução das análises e escrita do artigo. IC e GSF auxiliaram na obtenção das amostras de *T. elongata* e escrita do artigo. MLO orientou todo o processo de análise de dados. Todos os autores leram o manuscrito e fizeram suas contribuições. MLO agradece ao CNPq-Brasil pela bolsa de produtividade (305150/2020-0)

Referências

Bookstein, F. L. (1991) *Morphometric tools for landmark data. Geometry and Biology*. New York: Cambridge University Press.
Camargo, J. M. F.; Pedro, S. R. M. (2013) Meliponini Lepeletier, 1836.

In: Moure, J. S., Urban, D.; Melo, G. A. R. (Eds.). *Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region*. <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acesso em: 22.v.2020.

Duarte, R.; Souza, J.; Soares, A. E. E. (2016) Nest architecture of *Tetragona clavipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Sociobiology*, 63: 813-818. doi: 10.13102/sociobiology.v63i2.1019

Fabricius, J. C. (1804) *Systema Piezatorum secundum ordines, genera, species, adjectis synonymis, locis, observationibus, descriptionibus*. Brunsvigae: Reichard 1-439 pp.

Francoy, T. M.; Prado, P. R. R.; Gonçalves, L. S.; Costa, L. F.; Jong, D. (2006) Morphometric differences in a single wing cell can discriminate racial types. *Apidologie*, 37(1): 91-97. doi: 10.1051/apido:2005062

Francoy, T. M.; Wittmann, D.; Drauschke, M.; Müller, S.; Steinhage, V. S.; Bezerra-laure, M. A. F.; Jong, D.; Gonçalves, L. S. (2008) Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39(5): 488-494. doi: 10.1051/apido:2008028

Francoy, T.; Wittmann, D.; Steinhage, V.; Drauschke, M.; Müller, S.; Cunha, D. R.; Nascimento, A. M.; Figueiredo, V.L.; Simões, Z. L. P.; Jong, D.; Arias, M. C.; Gonçalves, L. S. (2009) Morphometric and genetic changes in a population of *Apis mellifera* after 34 years of Africanization. *Genetics and Molecular Research*, 8(2): 709-717. doi: 10.4238/vol8-2kerr019

Kerr, W. E.; Sakagami, S. F.; Zucchi, R.; Portugal Araújo, V.; Camargo, J. M. F. (1967) Observações sobre a arquitetura dos ninhos e comportamento de algumas espécies de abelhas sem ferrão das vizinhanças de Manaus, Amazonas (Hymenoptera, Apoidea). *Atas do Simpósio sobre a Biota Amazônica*, 5: 255-309.

Monteiro, L. R.; Reis, S. F. (1999) *Princípios de Morfometria Geométrica*.



- Ribeirão Preto: Editora Holos.
- Nogueira, D. S.; Ribeiro, C. F.; Oliveira, M. L. (2020) Taxonomia histórica de *Nogueirapis* Moure, 1953, *Scaura* Schwarz, 1938, *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 e *Trigona* Jurine, 1807 (Apidae: Meliponini). In: Oliveira-Junior, J. M. B.; Calvão, L. B. (Eds.). *A Interface do Conhecimento sobre Abelhas 2*. pp.63-77. Ponta Grossa: Atena Editora.
- Nogueira, D. S.; Rasmussen, C.; Oliveira, M. L. (2021) A new species of *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 from “truncata group” and new distribution records of *T. truncata* Moure, 1971 (Hymenoptera: Apidae). *Neotropical Entomology*, 50: 68-77. doi: [10.1007/s13744-020-00822-6](https://doi.org/10.1007/s13744-020-00822-6)
- Oliveira, F. F.; Richers, B. T. T.; Silva, J. R.; Farias, R. C.; Matos, T. A. L. (2013) *Guia ilustrado das abelhas “sem-ferrão” das reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)*. Tefé: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá.
- Pedro, S. (2014) The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, 61: 348-354. doi: [10.13102/sociobiology.v61i4.348-354](https://doi.org/10.13102/sociobiology.v61i4.348-354)
- Spinola. M. (1840) Observations sur les apiaries meliponides. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie et Biologie Animale*, 13: 116-140.

3.2 Capítulo 2

Santos, IS; Teixeira, JSG; Oliveira, ML; Godoi, FSP; Nogueira, DS. Morfometria geométrica das espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). Manuscrito em preparação para submissão ao periódico *Acta Amazonica*.

3.2.1 INTRODUÇÃO

Todas as abelhas “sem ferrão” estão alocadas em Meliponini, tribo formada por 33 gêneros e mais de 400 espécies conhecidas para o Neotrópico (Camargo e Pedro, 2013). Vivem em colônias e, na maioria das vezes, constroem ninhos em cavidades pré-existentes. Elas são caracterizadas por possuírem o ferrão atrofiado, impossibilitando o seu uso defensivo (Silveira *et al.* 2002; Michener, 2007).

A sistemática de Meliponini foi parcialmente elucidada a partir das análises filogenéticas de Rasmussen e Cameron (2010), que recuperaram um único clado Neotropical e resolveram boa parte das relações entre os gêneros, resultando por exemplo, em *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 e *Ptilotrigona* Moure, 1951 como gêneros irmãos.

O gênero de abelhas “sem ferrão” *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828, de acordo com Camargo e Pedro (2013), possui espécies que estão distribuídas no Neotrópico, do México ao Uruguai, sendo oito com ocorrência no Brasil: *T. clavipes* (Fabricius, 1804), *T. dorsalis* (Smith, 1854), *T. essequiboensis* (Schwarz, 1940), *T. goettei* (Friese, 1900), *T. handlirschii* (Friese, 1900), *T. kaieteurensis* (Schwarz, 1938), *T. truncata* Moure, 1971 e *T. quadrangula* (Lepeletier, 1836). Entretanto, Pedro (2014) revalidou a espécie *T. elongata* (Lepeletier & Serville, 1828), que havia sido sinonimizada sob *T. clavipes* por Spinola (1840), como abelha distinta de *T. clavipes*, com ocorrência na região sudeste, apesar de não ter justificado a revalidação.

Nogueira *et al.* (2020) propuseram a formação de grupos para *Tetragona* com base em sua morfologia, sendo eles: 1. grupo *clavipes*, composto pelas espécies *T. clavipes*, *T. elongata*, *T. dissecta* Moure, 2000, *T. perangulata* (Cockerell, 1917), *T. quadrangula* e mais duas espécies novas (Nogueira *in prep.*), tendo como características o clípeo completamente amarelo, com ou sem manchas, linha longitudinal ou triângulo basal de castanhos escuro a pretos; com manchas amarelas nas paraoculares que não ultrapassam superiormente a tangente no alvéolo antenal; cerdas em T6 1,5x ou mais o comprimento das cerdas de T4, além disso, essas cerdas são mais abundantes que em T5; os tergos pretos com 1/3 apical amarelo contrastante; 2. grupo *dorsalis*, composto por *T. dorsalis*, *T. beebei* (Schwarz, 1938), *T. zieglerei* (Friese, 1900) e mais duas espécies novas (Nogueira *in prep.*), tendo como características o corpo de castanho claro a amarelo; clípeo amarelo ou com pequenas manchas castanhas escuras; macha paraocular geralmente sem uma fina estria justaposta ao olho composto. Se estria presente, tergos com coloração de castanho escuro a preto; mandíbula apenas com um dente proeminente, o segundo menor que o primeiro; membrana das asas hialinas, amareladas ou esfumadas; 3. grupo *goettei*, composto por *T. goettei*, *T. mayarum*

(Cockerell, 1912) e uma espécie nova (Nogueira *in prep.*), tendo como características o corpo de castanho claro a amarelo; clipeo amarelo; mancha paraocular iniciando na metade do alvéolo antenal e com uma fina estria justaposta ao olho composto acima da tangente média do alvéolo antenal; mandíbula com os dois primeiros dentes proeminentes; membrana das asas esfumadas; 4. grupo *kaieteurensis*, composto por *T. kaieteurensis* e mais uma espécie nova (Nogueira *in prep.*), tendo como características as cerdas em T6 com comprimento similar às cerdas de T5; cerdas em T6 com abundância similar às em T5; tergos com coloração de castanhos claros a castanho escuros; corpo predominantemente castanho escuro; clipeo amarelo com mancha preta central; 5. grupo *handlirschii*, composto por *T. handlirschii* e mais duas espécies novas (Nogueira *in prep.*), tendo como características o clipeo com tonalidade de castanho escuro a preto, geralmente sem manchas nas paraoculares ou raramente com manchas paraoculares castanho escuras; corpo predominantemente castanho claro; pernas e escapo amarelados; membrana das asas esfumadas; veias castanho escuras; 6. grupo *essequiboensis*, composto apenas por *T. essequiboensis*, tendo como características o corpo completamente preto; clipeo preto; sem manchas paraoculares; pernas e escapo pretos; membrana das asas com metade basal esfumada e metade apical hialina; veias pretas, com petrostigma, veias R e Rs amareladas; e 7. grupo *truncata*, composto por *T. truncata* e *T. atahualpa* Nogueira & Rasmussen, 2020 (Nogueira *et al.*, 2021), tendo como características o dente basal de mesmo comprimento do segundo dente e bem próximo a ele; mancha paraocular truncada na tangente média do alvéolo antenal ou esfumada; área supraclipeal amarela truncada ou esfumada; bordo posterior do metabasitarso sem ângulo; membrana das asas hialina ou esfumada; tergos pretos com 1/3 apical amarelo com contraste ou castanhos com 1/3 apical castanho amarelo.

A separação de espécies próximas pode ser elucidada pela técnica de morfometria geométrica, que, segundo Slice (2005), consiste em um conjunto de métodos de aquisição, processamento e análise de variáveis de forma que preserva toda a informação geométrica contida nos dados originais, além de fazer inferências sobre causas que levam às diferenças de forma (Bookstein, 1991; Monteiro e Reis, 1999). Os dados utilizados se baseiam em coordenadas cartesianas chamadas “marcos anatômicos” ou *landmarks* (Rohlf, 1990; Rohlf e Marcus, 1993; Monteiro e Reis, 1999). A técnica é capaz de descrever e localizar mais claramente as regiões de mudanças na forma e, sobretudo, de construir e reconstituir graficamente estas diferenças (Astúa, 2003).

Uma abordagem utilizada na diferenciação dos indivíduos baseia-se na aferição geométrica das asas, considerada uma técnica rápida e de baixo custo, já implementada com

sucesso na identificação e caracterização da diversidade de abelhas “sem ferrão” em diversos estudos, cuja análise tornou-se uma característica informativa importante para estudos interespecíficos e também de populações (Francoy *et al.*, 2008; Francoy e Imperatriz-Fonseca, 2010; Nogueira *et al.* 2019) e entre castas (Castro, 2012).

O objetivo desse estudo foi realizar análises morfométricas da venação alar das espécies de *Tetragona* na tentativa de esclarecer a separação ou sobreposição entre elas, distinguindo morfótipos e/ou grupos de espécies identificados de diferentes regiões do Brasil.

3.2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 650 operárias, oriundas da Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA, Manaus, Amazonas, n=391), do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG, Belém, Pará, n=85), da Coleção Entomológica Paulo Nogueira-Neto (CEPANN-IB/USP, São Paulo, São Paulo, n=41), da Coleção Prof. J.M.F. Camargo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (RPSP-USP, Ribeirão Preto, São Paulo, n=57) e da Universidade Federal de Viçosa (UVF, Viçosa, Minas Gerais, n=76). O estudo foi realizado com espécimes secos, fixados em alfinetes.

Para a confecção das lâminas, foi removida asa anterior direita de operárias de *Ptilotrigona lurida* (n=38), *T. beebei* (n=49), *T. clavipes* (n=285), *T. dorsalis* (n=25), *T. essequiboensis* (n=24), *T. goettei* (n=94), *T. handlirschii* (n=32), *T. kaieteurensis* (n=53), *T. perangulata* (n=3), *T. quadrangula* (n=28), *T. truncata* (n=14) e *T. ziegleri* (n=5). Cada asa foi extraída manualmente com o auxílio de uma pinça. Após a extração, as asas foram colocadas imersas em uma gota de Acetato de Butila, para que as asas não quebrassem durante o manuseio ou dobrassem nas lâminas. Foram utilizadas lamínulas (24 x 24 mm), que foram divididas em quatro partes com o auxílio de estilete. Para a montagem, as asas foram colocadas na região central da lamínula, sendo coberta por outra lamínula e fixadas com Bálsamo do Canadá diluído em Acetato de Butila. O processo de montagem foi feito apenas por uma pessoa. Após a montagem, as lâminas foram deixadas em estufa por dois dias em torno de 40°C até a completa secagem. Neste trabalho foram utilizadas as asas por serem estruturas em 2D, o que facilita os procedimentos metodológicos para captura das imagens, assim como realizado por diversos autores (Francoy *et al.*, 2008; Macedo, 2017; Nogueira *et al.* 2019; Santos *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2019;). O gênero *Ptilotrigona* foi utilizado com o intuito de comparar as espécies de *Tetragona* com uma espécie que não fosse do mesmo gênero, mas sim com um gênero filogeneticamente próximo. E segundo as análises filogenéticas de Rasmussen e Cameron (2010), *Tetragona* e *Ptilotrigona* são gêneros irmãos.

Para captura das imagens foi utilizado o estereomicroscópio Leica M205A acoplado à câmera Leica DMC4500 com o *software* Leica Application Suite V4.1. Após a aquisição das imagens, a lamínula foi colada em uma etiqueta e fixada junto ao próprio alfinete do espécime. Para análises da morfometria geométrica foi utilizado o *software* tpsUtil versão 1.64 para gerar um arquivo em TPS e, em seguida, o tpsDig versão 2.22 para marcar 12 *landmarks* nas imagens (Figura 1), sendo definidos em pontos de encontros entre veias alares. As interseções foram ligadas utilizando Procrustes e as deformações relativas e parciais e o *centroid size* foram obtidos pelo *software* tpsRelw versão 1.46. Os dados gerados foram submetidos às análises de Função Discriminante (com 1000 replicações), que examina a separação entre dois grupos observados, e Análises das Variáveis Canônicas (CVA), que é um método utilizado para encontrar características na forma que melhor difere entre os múltiplos grupos de amostras analisadas, no qual foi utilizado o *software* MorphoJ versão 1.6, com o qual foram obtidos os valores da distância de Procrustes, porcentagem de variância e as elipses representando as espécies. Para a análise canônica, foram utilizados os critérios contidos na tabela 1 para avaliar os resultados. Foi realizada uma análise de Função Discriminante com o critério “Gênero” com *Tetragona* e *Ptilotrigona* (612 e 38 espécimes, respectivamente).

Tabela 1: Análises das variáveis canônicas com os classificadores e espécies/gêneros utilizados e indicação da figura relacionada. *T. beebei* (Tb), *T. clavipes* (Tc), *T. dorsalis* (Tdor), *T. essequiboensis* (Tes), *T. goettei* (Tg), *T. handlirschii* (Th), *T. kaieteurensis* (Tk), *T. perangulata* (Tp), *T. quadrangula* (Tq), *T. truncata* (Tt), *T. zieglerei* (Tz) e *Ptilotrigona lurida* (Pl).

Análise	Classificador	Espécies/Gênero	Figura
1	Espécie	Tb, Tdor Tz	2
2	Espécie	Tes, Tg, Th, Tk, Tt	3
3	Gênero	<i>Ptilotrigona</i> e <i>Tetragona</i>	4
4	Espécie	Pl, Tb, Tc, Tdor, Tes, Tg, Th, Tk, Tp, Tq, Tt, Tz	5
5	Espécie	Pl, Tc, Tes, Tk	6

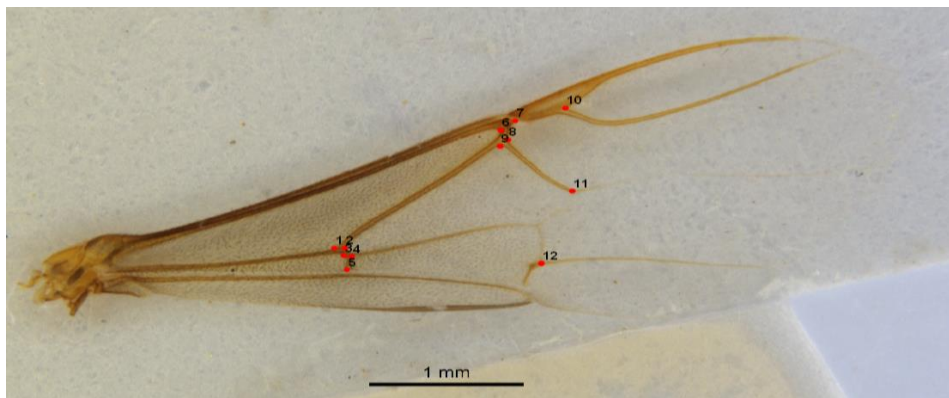
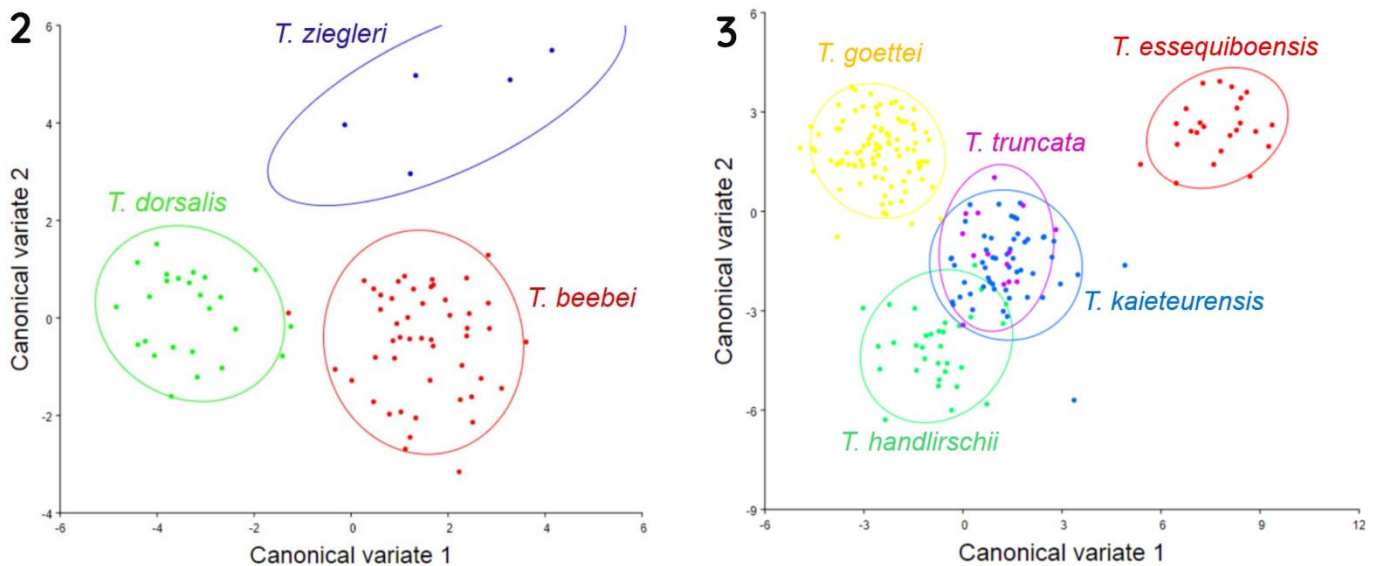


Figura 1: Landmarks utilizado nas asas de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 no software tpsDig.

3.2.3 RESULTADOS

Com os resultados obtidos a partir da CVA com a variável “Espécie” para o grupo *dorsalis*, verificou-se que as espécies *T. beebei*, *T. dorsalis* e *T. ziegleri* se separam no gráfico (Figura 2), formando três aglomerados distintos, sem sobreposição entre elas que é explicada com 100%.

Quanto a CVA com a variável “Espécie” para as demais espécies, verificou-se que as espécies *T. kaieteuensis* e *T. truncata* ficaram sobrepostas no gráfico, juntamente com parte das amostras de *T. handlirschii* (Figura 3), que é explicada com 59,61%. As espécies *T. goettei* e *T. essequiboensis* formaram dois grupos distintos dos demais. A espécie *T. essequiboensis* ficou mais distante das demais, ficando na região superior direita do gráfico.



Figuras 2 e 3: Análises das Variáveis Canônicas envolvendo espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828. 2: *T. beebei* (Schwarz, 1938), *T. dorsalis* (Smith, 1854) e *T. ziegleri* (Friese, 1900), com variância de 100%. 3: *T. essequiboensis* (Schwarz, 1940), *T. goettei* (Friese, 1900), *T. handlirschii* (Friese, 1900), *T. kaieteuensis* (Schwarz, 1938) e *T. truncata* Moure, 1971, com variância de 59,61%.

Quando comparamos gêneros diferentes, os resultados obtidos da tabela de validação cruzada com *Ptilotrigona* (n=38) e *Tetragona* (n=612) (Tabela 2) no critério “Gênero”, percebemos que 94,74% de indivíduos de *Ptilotrigona* foram classificados de maneira correta, com apenas dois indivíduos desse gênero classificados como *Tetragona*. E todas as amostras de *Tetragona* foram classificadas corretamente ($p < 0,0001$) (Figura 4).

Tabela 2: Validação cruzada da Análise Discriminante com o classificador “Gênero”, entre *Ptilotrigona* Moure, 1951 e *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828.

Gênero	<i>Ptilotrigona</i>	<i>Tetragona</i>	Total
<i>Ptilotrigona</i>	36	2	38
<i>Tetragona</i>	0	612	612

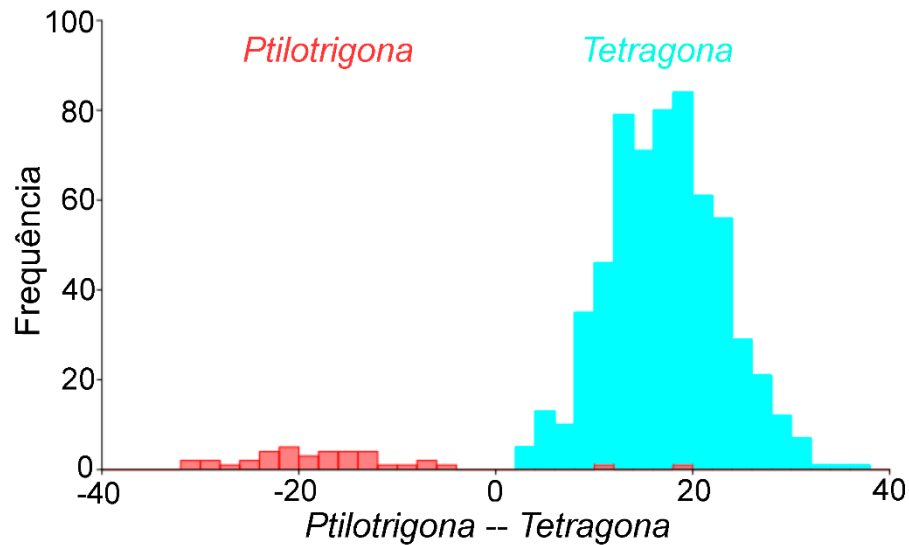


Figura 4: Análise de Função Discriminante com os gêneros *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 e *Ptilotrigona* Moure, 1951 ($p < 0,0001$).

Quando avaliamos a CVA com a variável “Espécie”, verificou-se que *P. lurida* ficou sobreposta com *T. essequiboensis*, e levemente sobreposta com *T. kaieteurensis* (Figura 5), apontada pelas setas, que é explicada com 42,58%. As demais espécies de *Tetragona* ficaram sobrepostas entre si.

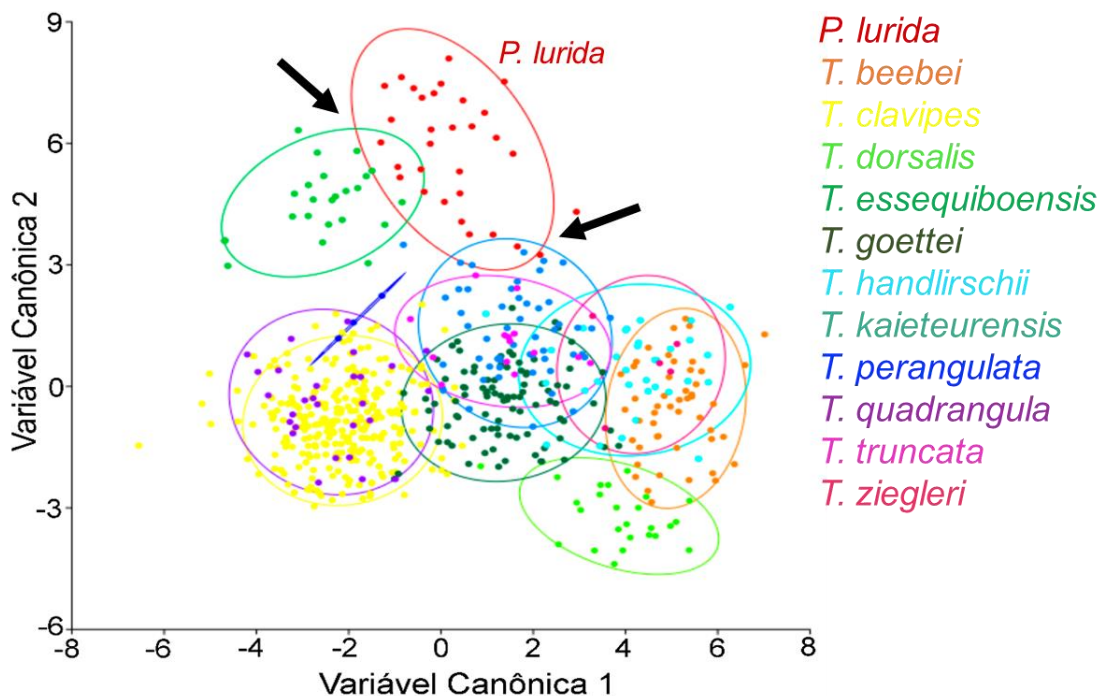


Figura 5: Análises das Variáveis Canônicas envolvendo *Ptilotrigona lurida* (Smith, 1854) com espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828, *T. beebei* (Schwarz, 1938), *T. clavipes* (Fabricius, 1804), *T. dorsalis* (Smith, 1854), *T. essequiboensis* (Schwarz, 1940), *T. goettei* (Friese, 1900), *T. handlirschii* (Friese, 1900), *T. kaieteurensis* (Schwarz, 1938), *T. perangulata* (Cockerell, 1917), *T. quadrangula* (Lepeletier, 1836), *T. truncata* Moure, 1971 e *T. zieglerei* (Friese, 1900), com variância de 42,58%. As setas indicam os pontos de sobreposição de *P. lurida* (Smith, 1854) com *T. essequiboensis* (Schwarz, 1940) e *T. kaieteurensis* (Schwarz, 1938).

Quando avaliada a CVA com a variável “Espécie”, somente com *P. lurida*, *T. clavipes*, *T. essequiboensis* e *T. kaieteurensis*, não se observou mais a sobreposição de *P. lurida* com as outras espécies, resultando em um único conjunto na região superior direita do gráfico, que é explicado com 57,12% (Análise 5, Figura 6).

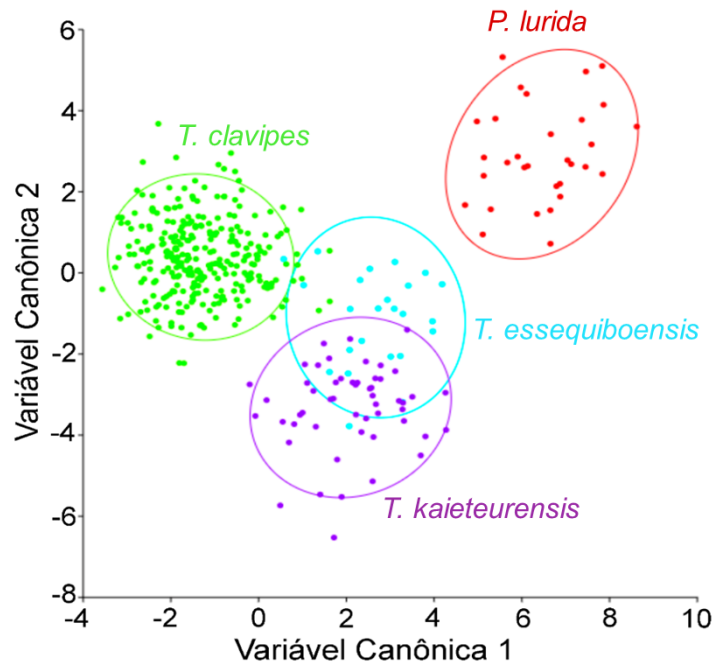


Figura 6: Análises das Variáveis Canônicas envolvendo *Ptilotrigona lurida* (Smith, 1854) com espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828, *T. clavipes* (Fabricius, 1804), *T. essequiboensis* (Schwarz, 1940) e *T. kaieteurensis* (Schwarz, 1938), com variância de 57,12%.

3.2.4 DISCUSSÃO

Segundo Nogueira *et al.* (2020), no grupo *dorsalis*, estão incluídas *T. beebei*, *T. dorsalis* e *T. ziegleri*, e quando testadas na análise 1 com o classificador “Espécie” ficaram separadas no gráfico, e diferiram com 100% de variância entre elas (Fig. 2). Na análise 2, com várias espécies (Tabela 1, Figura 3), a separação dos grupos *goettei* e *essequiboensis* foi corroborada no estudo de Nogueira *et al.* (2020), porém, a sobreposição de *T. kaieteurensis*, *T. truncata* e *T. handlirschii* parece não corroborar os grupos definidos, pois existem muitos outros caracteres morfológicos reforçam a sua separação, porém, pode indicar que eles estejam mais relacionados filogeneticamente (Nogueira inf. pess.).

Quando as amostras de *Ptilotrigona* foram adicionadas, houve uma sobreposição de *P. lurida* com *T. essequiboensis*, e uma leve sobreposição de *P. lurida* com *T. kaieteurensis* na análise 4 com o classificador “Espécie” (Figura 5). Essa sobreposição pode ser explicada pela semelhança no padrão de venação da asa ou por haverem muitas espécies adicionadas em uma mesma análise, o que pode aumentar o erro na análise e diminuir o valor da variância. Além

disso, também foi percebido que *T. clavipes*, *T. quadrangula* e *T. perangulata* ficaram sobrepostas entre si e separadas do conjunto das outras espécies (exceto *T. essequiboensis*), isso pode indicar a formação do grupo *clavipes* morfometricamente (Santos *et al.*, 2021) além da morfologia clássica proposta por Nogueira *et al.* (2020).

Porém, quando foram avaliadas somente *P. lurida*, *T. clavipes*, *T. essequiboensis* e *T. kaieteurensis* (análise 5, ver tabela 1), essa sobreposição não é mais observada (Fig. 6) e o valor da variância aumenta. Isso pode ser explicado pelo fato de, apesar de ter dado sobreposição de *P. lurida* com *T. essequiboensis* e com *T. kaieteurensis* na análise 4, isso não foi observado na análise 5, pois houve um menor número de espécies utilizadas na análise, e isso quer dizer que há poucas características para serem comparadas por espécie. Essa diferenciação das figuras 5 e 6 se dá porque o *software* MorphoJ utiliza critérios de similaridade das estruturas avaliadas, quanto mais espécies de *Tetragona* na análise, maiores serão os critérios de avaliação, e espécies com um padrão de venação alar similar irão se aproximar no gráfico.

3.2.5 CONCLUSÃO

Para as espécies dos grupos *dorsalis*, *goettei* e *essequiboensis*, a separação morfométrica foi clara, porém, houve sobreposição de *T. kaieteurensis*, *T. truncata* e *T. handlirschii*, que constituem grupos distintos, o que não corrobora com os grupos anteriormente definidos, porém, podem refletir as relações filogenéticas, assim como a recuperação do grupo *clavipes*, formado pelo conjunto de *T. clavipes*, *T. perangulata* e *T. quadrangula*. Mesmo com a adição de *Ptilotrigona* nas análises, a diferença entre as espécies de *Tetragona* ficou clara, uma vez que os gêneros ficaram claramente separados. Assim sendo, análises morfométricas envolvendo as espécies de *Tetragona* podem auxiliar a resolução taxonômica, separando espécies distintas e juntando as mais relacionadas, o que pode refletir nas relações evolutivas desse gênero. As análises de morfometria geométrica, usando a forma da asa e disposição das suas veias, oferecem uma oportunidade promissora para identificar espécies do gênero *Tetragona* de forma rápida, eficiente e com baixo custo.

3.3.6 AGRADECIMENTOS

A todas as instituições e curadores que nos enviaram espécimes: Isabel Alves-dos-Santos (CEPANN), Marcio Oliveira (INPA), Orlando Silveira (MPEG), Weyder Santana e Lucio Campos (UFV) e Eduardo Almeida (RPSP). ISS agradece ao apoio financeiro da bolsa pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - 01280.002501/2019-11, DSN agradece pelo suporte do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM) e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (PPG-ENT). Esse estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, e FAPEAM–Programa POSGRAD. MLO agradece ao CNPq-Brasil pela bolsa de produtividade (306100/2020-0).

3.3.7 REFERÊNCIAS

- Astúa, D. 2003. Morfometria geométrica e a revolução morfométrica – Localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. *Bioletim*, 3: 1-5.
- Bookstein, F.L.1991. *Morphometric tools for landmark data. Geometry and Biology*. Cambridge University Press: New York, 456 pp.
- Camargo, J.M.F.; Pedro, S.R.M Meliponini Lepeletier, 1836. In: Moure, J.S., Urban, D.; Melo, G.A.R. (Orgs). Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region. (<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>). Acesso em 22/06/2020., 2013.
- Castro, I. *Obtenção artificial de rainhas e estabelecimento de novas colônias de Tetragona clavipes (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)*. Dissertação de Mestrado em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 99 pp, 2012.
- Cockerell, T.D.A. 1912. Descriptions and records of Bees- XLVI. *Ann. Mag. Nat. Hist.* (8) 10: 311-320 [311].
- Cockerell, T.D.A. 1917. New social bees. *Psyche* 24: 120-128 [125].
- Fabricius, J.C. 1804. *Systema Piezatorum secundum ordines, genera, species, adjectis synonymis, locis, observationibus, descriptionibus*. Brunsvigae: Reichard 1-439 pp.
- Francoy, T.M.; Wittmann, D.; Drauschke, M.; Müller, S.; Steinhage, V.; Bezerra-Laure, M.A.F.; *et al.* 2008. Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39: 488-494.
- Francoy, T.M.; Imperatriz-Fonseca V.L. 2010. A morfometria geométrica de asas e a identificação automática de espécies de abelhas. *Oecologia Australis*. 14: 317-321.

- Friese, H. 1900. Neue arten der Bienengattungen *Melipona* III. Und *Trigona* Jur. *Természetr. Füz.* 23: 381-394.
- Lepeletier, A.L.M.; Serville, A. 1828. [Articles], p. 345-832. In: Diderot, M. *et al.* (ed.) *Encyclopédie Méthodique. Histoire Naturelle. Entomologie, ou Histoire Naturelle des Crustacés, des Arachnides et des Insectes*, vol. 10, P. A. Latreille. Paris: Agasse.
- Lepeletier, A.L.M. 1836. *Histoire Naturelle des Insectes- Hyménoptères*. Paris: Roret Vol. 1 1-547 pp.
- Macedo, M. 2017. Morfometria geométrica alar como ferramenta para a identificação de *Lucilia sericata* e *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Criminalística*. 6. 10.15260/rbc.v6i1.142.
- Michener, C.D. 2007. *The Bees of the World*. 2. ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. 953 pp.
- Monteiro, L.R.; Reis, S.F. 1999. *Princípios de Morfometria Geométrica*. Holos, Ribeirão Preto. 198 pp.
- Moure, J. S. 1951. Notas sobre Meliponinae (Hymenoptera - Apoidea). *Dusenía*. 2 (1): 25-70.
- Moure, J.S. 1971. Descrição de uma nova espécie de *Tetragona* do Brasil Central (Hymenoptera - Apidae). *Boletim da Universidade Federal do Paraná*, 4: 47-50.
- Moure, J.S. 2000. Duas espécies novas do gênero *Tetragona* (Hymenoptera, Apidae). *Acta Biol. Paranaense* (Curitiba) 28 (1999) (1-4): 141-146 [141].
- Nogueira, D.S.; Teixeira, J.S.G.; Mahlmann, T.; Oliveira, M.L; Roubik, D.W. 2019. Geometric morphometrics of wing venation to differentiates new species of *Scaura* Schwarz, 1938 populations (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Scientia Plena*, 15: 1–9.
- Nogueira, D.S.; Ribeiro, C.F.; Oliveira, M.L. 2020. Taxonomia histórica de *Nogueirapis* Moure, 1953, *Scaura* Schwarz, 1938, *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 e *Trigona* Jurine, 1807 (Apidae: Meliponini). p. 63-77. In: Oliveira-Junior, J.M.B; Calvão, L.B. *A interface do conhecimento sobre abelhas 2*. Editora Atena.
- Nogueira, D.S.; Rasmussen, C.; Oliveira, M.L. 2021. A new species of *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 from "truncata group" and new distribution records of *T. truncata* Moure, 1971 (Hymenoptera: Apidae). *Neotropical Entomology*, 50: 68-77. doi: 10.1007/s13744-020-00822-6.
- Pedro, S. 2014. The Stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, 61: 348-354.

- Rasmussen, C.; Cameron, S.A. 2010. Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal. *Biological Journal of the Linnean Society*, 99: 206–232.
- Rohlf, F.L. 1990. Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21: 299-316.
- Rohlf, F.J.; Marcus, Lf. 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*, 8: 129-132.
- Santos, I.S.; Nogueira, D.S.; Castro, I.; Teixeira, J.S.G.; Freitas, G.; Oliveira, M.L. 2021. Padrões morfológicos na venação alar de espécies de *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 do grupo *clavipes* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Entomological Communications*, XXX. doi: 10.37486/2675-1305.ec0300X.
- Schwarz, H.F. 1938. The stingless bees (Meliponidae) of British Guiana and some related forms. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 74: 437-508.
- Schwarz, H.F. 1940. Additional species and records of stingless bees (Meliponidae) from British Guiana. *American Museum Novitates*, 1078: 1-12.
- Silva, F.A.S.; Souza, D.C.; Alves, A.A.; Campelo, J.E.G.; Bendini, J.N.; Nunes, L.A.; Verznigassi, J.R.; Paludo, F.; Fernandes, P.B.; Silva, J.R.G.; Silva, J.Q. 2019. Morfometria geométrica das asas permite verificar o posicionamento racial de abelhas africanizadas. *Pubvet*. 13. 1-7. 10.31533/pubvet.v13n11a453.1-7.
- Silveira, F.A.; Melo, G.A.R.; Almeida, E.A.B. 2002. *Abelhas brasileiras - Sistemática e Identificação*. 1a ed. Editora Eletrônica Composição e Arte, Belo Horizonte, MG, 253 pp.
- Slice, D.E. 2005. Modern Morphometrics, p. 1-45. In: Slice, D.E. (ed) *Modern Morphometrics in Physical Anthropology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Smith, F. 1854. *Catalogue of hymenopterous insects in the collection of the British Museum*, Part 2. Apidae. London: British Museum, 199-465 pp.
- Spinola, M. 1840. Observations sur les apiaries meliponides. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie et Biologie Animale*, 13: 116-140.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Análises morfométricas, usando a forma da asa e disposição das suas veias, envolvendo as espécies de *Tetragona* podem auxiliar a resolução taxonômica, nas relações entre as espécies, separando espécies distintas e juntando as mais relacionadas, o que pode refletir nas relações evolutivas desse gênero. A técnica da morfometria geométrica oferece uma oportunidade promissora para identificar espécies do gênero *Tetragona* de forma rápida, eficiente e com baixo custo, quando comparada aos métodos de identificação genética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, D.C.; ROHLF, F.J.; SLICE, D.E. Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Italian Journal of Zoology*, 71: 5-16., 2004.
- ASTÚA, D. Morfometria geométrica e a revolução morfométrica – Localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. *Bioletim*, 3: 1-5., 2003.
- BOOKSTEIN, F.L. Morphometric tools for landmark data. *Geometry and Biology*. Cambridge University Press: New York, 456 pp., 1991.
- CAMARGO, J.M.F.; PEDRO, S.R.M. Meliponini neotropicais: o gênero *Ptilotrigona* Moure (Hymenoptera, Apidae, Apinae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 48, 3, 353–377. 2004.
- CAMARGO, J.M.F.; PEDRO, S.R.M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: Moure, J.S., Urban, D.; Melo, G.A.R. (Orgs). *Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region*. (<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>). Acesso em 22/06/2020, 2013.
- CASTRO, I. Obtenção artificial de rainhas e estabelecimento de novas colônias de *Tetragona clavipes* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Dissertação de Mestrado em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 99 pp, 2012.
- CARVALHO-ZILSE, G.A.; SILVA, C.G.N; ZILSE, NELSON; BOAS, H.C.V.; SILVA, A.C.; LARAY, J. P; FREIRE, D.C.B.; KERR, W.E. Criação de abelhas sem ferrão. Manaus: Provárzea/Ibama. 17 pp, 2005.
- COCKERELL, T.D.A. Descriptions and records of Bees- XLVI. *Ann. Mag. Nat. Hist.* (8) 10: 311-320 [311]. 1912.
- COCKERELL, T.D.A. New social bees. *Psyche* 24: 120-128 [125]. 1917.

- FABRICIUS, J. C. Systema Piezatorum secundum ordines, genera, species, adjectis synonymis, locis, observationibus, descriptionibus. Brunsvigae: Reichard 1-439 pp, 1804.
- FORNEL, R.; CORDEIRO-ESTRELA P. Morfometria Geométrica e a Quantificação da Forma dos Organismos, p. 101-120. In: Marinho, J.R.; Hepp, L.U.; Fornel, R.. (Org.). Temas em Biologia: Edição comemorativa aos 20 anos do Curso de Ciências Biológicas e aos 5 anos do PPGEcologia da URI Campus de Erechim. 1ed.Erechim: EDIFAPES. 2012.
- FRANCOY, T.M.; WITTMANN, D.; DRAUSCHKE, M.; MÜLLER, S.; STEINHAGE, V.; BEZERRA-LAURE, M.A.F.; DE JONG, D.; GONÇALVES, L.S. Identification of Africanized honey bees through wing morphometrics: two fast and efficient procedures. *Apidologie*, 39: 488-494., 2008.
- FRANCOY, T.M.; IMPERATRIZ-FONSECA V.L. A morfometria geométrica de asas e a identificação automática de espécies de abelhas. *Oecologia Australis*. 14: 317-321, 2010.
- FRIESE, H. Neue arten der Bienengattungen *Melipona* Ill. Und *Trigona* Jur. *Természetr. Füz.* 23: 381-394, 1900.
- LEPELETIER, A.L.M.; SERVILLE, A. [Articles], p. 345-832. In: Diderot, M. *et al.* (ed.) *Encyclopédie Méthodique. Histoire Naturelle. Entomologie, ou Histoire Naturelle des Crustacés, des Arachnides et des Insectes*, vol. 10, P. A. Latreille. Paris: Agasse., 1828.
- LEPELETIER, A.L.M. *Histoire Naturelle des Insectes- Hyménoptères*. Paris: Roret Vol. 1 1-547 pp, 1836.
- MARCUS, L.F.; CORTI, M.; LOY, A.; NAYLOR, G.J.P.; SLICE, D.E. *Advances in Morphometrics*. NATO ASI series A: Life Sciences, vol. 284, Plenum Press, New York. 587 pp. 1996.
- MICHENER, C.D. *The Bees of the World*. 2. ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. 953 pp. 2007.
- MONTEIRO, L.R.; REIS, S.F. *Princípios de Morfometria Geométrica*. Holos, Ribeirão Preto. 198 pp. 1999.
- MOURE, J. S. Notas sobre *Meliponinae* (Hymenoptera - Apoidea). *Dusenica*. 2 (1): 25-70. 1951.
- MOURE, J.S. Descrição de uma nova espécie de *Tetragona* do Brasil Central (Hymenoptera - Apidae). *Boletim da Universidade Federal do Paraná*, 4: 47-50. 1971.
- MOURE, J.S. Duas espécies novas do gênero *Tetragona* (Hymenoptera, Apidae). *Acta Biol. Paranaense (Curitiba)* 28 (1999) (1-4): 141-146 [141]. 2000.

- NOGUEIRA, D.S.; TEIXEIRA, J.S.G.; MAHLMANN, T.; OLIVEIRA, M.L.; ROUBIK, D.W. Geometric morphometrics of wing venation to differentiates new species of *Scaura* Schwarz, 1938 populations (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Scientia Plena*, 15: 1–9. 2019.
- NOGUEIRA, D.S.; RIBEIRO, C.F.; OLIVEIRA, M.L. Taxonomia histórica de *Nogueirapis* Moure, 1953, *Scaura* Schwarz, 1938, *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 e *Trigona* Jurine, 1807 (Apidae: Meliponini). p. 63-77. In: Oliveira-Junior, J.M.B; Calvão, L.B. A interface do conhecimento sobre abelhas 2. Editora Atena. 2020.
- NOGUEIRA, D.S.; RASMUSSEN, C.; OLIVEIRA, M.L. A new species of *Tetragona* Lepeletier & Serville, 1828 from "*truncata* group" and new distribution records of *T. truncata* Moure, 1971 (Hymenoptera: Apidae). *Neotropical Entomology*, 50: 68-77. doi: 10.1007/s13744-020-00822-6. 2021.
- ORR, M.; HUGHES, A.; CHESTERS, D.; PICKERING, J.; ZHU, C.; ASCHER, J. (2020). Global Patterns and Drivers of Bee Distribution. *Current Biology*. 10.1016/j.cub.2020.10.053.
- PEDRO, S. The Stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, 61: 348-354. 2014.
- RASMUSSEN, C.; CAMERON, S.A. Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal. *Biological Journal of the Linnean Society*, 99: 206–232. 2010.
- ROHLF, F.L. Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21: 299-316. 1990.
- ROHLF, F.J.; MARCUS, LF. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*, 8: 129-132. 1993.
- ROUBIK, D.W. Ecology and natural history of tropical bees. New York, Cambridge University Press. 514p. 1989.
- SAKAGAMI, S.F. Stingless bees, p. 361-423. In: Hermann, H.R. (ed.). *Social insects*, v. 3. New York: Academic Press. 1982.
- SCHWARZ, H.F. The stingless bees (Meliponidae) of British Guiana and some related forms. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 74: 437-508. 1938.
- SCHWARZ, H.F. Additional species and records of stingless bees (Meliponidae) from British Guiana. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 1078: 1-12, 1940.

- SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E.A.B. *Abelhas brasileiras - Sistemática e Identificação*. 1a ed. Editora Eletrônica Composição e Arte, Belo Horizonte, MG, 253 pp. 2002.
- SLICE, D.E. Modern Morphometrics, p. 1-45. In: Slice, D.E. (ed) *Modern Morphometrics in Physical Anthropology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. 2005.
- SMITH, F. *Catalogue of hymenopterous insects in the collection of the British Museum, Part 2. Apidae*. London: British Museum, 199-465 pp. 1854.
- SPINOLA, M. *Observationes sur les apiaries meliponides*. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie et Biologie Animale*, 13: 116-140. 1840.
- ZELDITCH, M.L.; SWIDERSKI, D.L.; SHEETS, H.D.; FINK, W.L. *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Elsevier Academic Press, San Diego, California, USA. 488 pp, 2004.