



Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação  
Instituto de Biociências  
Universidade Federal de Mato Grosso Do Sul

**ASSIMETRIA FLUTUANTE DE *Paraponera clavata* (FABRICIUS, 1775)  
EM FRAGMENTOS URBANOS E ÁREAS DE REGENERAÇÃO**

Beatriz Oliveira Garbin



Campo Grande  
**Maio 2024**

**ASSIMETRIA FLUTUANTE DE *Paraponera clavata* (FABRICIUS, 1775)  
EM FRAGMENTOS URBANOS E ÁREAS DE REGENERAÇÃO**

Beatriz Oliveira Garbin

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de **Mestre em Ecologia**, pelo Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Orientador: Gustavo Graciolli

## **Banca avaliadora**

Dr. Rodrigo Pires Dallacqua  
[rodrigo.dallacqua@ufms.br]

Dr. Rodrigo Aranda  
[rodrigo.aranda@ufr.edu.br]

Dr. Luan Dias Lima  
[luandiaslima@hotmail.com]

Dr. Mauricio O. Moura  
[mauricio.moura@ufpr.br]

**“Ostra feliz não faz pérola”.**  
**Rubem Alves**

**Agradecimentos**

Agradeço a todas as instituições que, de alguma forma, apoiaram este projeto: primeiramente ao meu orientador, Gustavo Gracioli, por toda paciência e profissionalismo. Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação, Fundect e CAPES, sem esse apoio este trabalho não seria possível; aos meus colegas de disciplina; ao André, proprietário da fazenda Santa Fé, pela parceria e por me receber com tanta hospitalidade. Aos meus parceiros de coleta, Vitor Hugo, mais conhecido como meu pai e ao meu colega João Damasceno, que aceitaram meu convite e junto comigo pegaram inúmeros carrapatos. Agradeço também a minha grande amiga Mariáh, por todo incentivo e ajuda, companheira fundamental desde o início da minha trajetória no mundo das formigas.

Agradeço também as pessoas que não participaram tão diretamente desse projeto, mas que me apoiaram diariamente nessa caminhada: meu querido filho, Lorenzo Garbin, sempre compreensivo com minha ausência em alguns momentos, carinhoso e disposto a ajudar; ao meu pai (que nunca negou esforços e mesmo cansado me acompanhou em todos os campos), tio, tia, primas, avós e principalmente à minha mãe, que cuidou de mim com muito zelo e amor, dispondo de seu tempo e energia para a realização de um sonho, obrigada pelos cafés e lanches feitos com carinho às 4 da manhã, pelas marmitas fresquinhas e por nunca desistir do meu sonho.

Aos técnicos Renan e Lili, pela paciência durante o processo de mensurações no setor de ecologia. Agradeço a Anne Gabrielle, por todo apoio, conversas e incentivo, obrigada também por me ensinar a utilizar a lupa, sem você com certeza tudo isso não seria possível. Aos meus amigos, João Matheus, Pedro Isaac, Mariana, Luís Henrique, Carolina e todos aqueles que me incentivaram de alguma maneira, seja com um café no meio da tarde, uma palavra amiga quando pensei em desistir ou um puxão de orelha quando precisei.

Por fim e mais importante, agradeço à Deus pelo dom da vida e por me fortalecer durante essa trajetória.

## Índice

<b>Resumo.....</b>	<b>VII</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>VIII</b>

<b>Introdução.....</b>	<b>IX</b>
<b>Material e métodos.....</b>	<b>XII</b>
<i>Área de estudo.....</i>	<i>XII</i>
<i>Coleta de indivíduos de Paraponera clavata.....</i>	<i>XIII</i>
<i>Análise de dados.....</i>	<i>XIV</i>
<i>Morfometria linear.....</i>	<i>XIV</i>
<i>Morfometria geométrica.....</i>	<i>XV</i>
<b>Resultados.....</b>	<b>XX</b>
<i>Morfometria linear.....</i>	<i>XX</i>
<i>Morfometria geométrica.....</i>	<i>XXIV</i>
<b>Discussão.....</b>	<b>XXVIII</b>
<i>Morfometria linear.....</i>	<i>XXVIII</i>
<i>Morfometria geométrica.....</i>	<i>XXXI</i>
<i>Conclusões.....</i>	<i>XXXIV</i>
<b>Literatura citada.....</b>	<b>XXXIV</b>

## Resumo

A assimetria flutuante pode ser definida pela diferença entre o lado direito e esquerdo de um indivíduo, sendo essa diferença normalmente influenciada por fatores externos. O objetivo desse estudo foi verificar a diferença do nível de assimetria flutuante em populações de *Paraponera clavata* (Fabricius, 1775) em fragmentos urbanos e áreas em regeneração. O estudo foi realizado em uma área com influência antrópica, localizada dentro do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul e uma área com tempo de regeneração maior que 40 anos, localizada na Fazenda Santa Fé, no município de Santa Rita do Pardo, Mato Grosso do Sul. Os ninhos foram localizados e as coletas foram realizadas pelo método de busca ativa. Além de mensurar as medidas do comprimento do escapo antenal e o fêmur e tibia de todos os pares de pernas para a realização da morfometria linear, foi realizado também morfometria geométrica através da estrutura da cabeça. Foram obtidos 12 ninhos no total, sendo sete ninhos na APP-UFMS e cinco ninhos na Fazenda Santa Fé. A área com maior influência antrópica apresentou uma diferença significativa na PCoA, mostrando uma variação de tamanho nos indivíduos coletados. Já a área em processo de regeneração, apresentou uma menor variação de tamanho na realização da morfometria linear. Quando realizada as análises de morfometria geométrica, foi possível concluir uma assimetria flutuante, sendo que não houve diferença significativa na forma das cabeças de *P. clavata*, porém levando em consideração o tamanho, é possível verificar uma diferença, a qual é maior na área com influência antrópica, além disso é possível concluir que a variação de tamanho está relacionada ao processo de regeneração e antropização das áreas.

**Palavras-chave: Morfologia, Assimetria flutuante, Regeneração, Morfometria geométrica**

**Abstract**

Fluctuating asymmetry can be defined as the difference between the right and left sides of an individual, typically influenced by external factors. The aim of this study was to assess the level of fluctuating asymmetry difference in populations of *Paraponera clavata* (Fabricius, 1775) in urban fragments and regenerating areas. The study was conducted in an area with anthropogenic influence, located within the municipality of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, and an area with regeneration time exceeding 40 years, situated at Fazenda Santa Fé, in the municipality of Santa Rita do Pardo, Mato Grosso do Sul. Nests were located, and collections were carried out using the active search method. In addition to measuring the lengths of the antennal scape and femur and tibia of all leg pairs for linear morphometrics, geometric morphometrics were also performed on the head structure. A total of 12 nests were obtained, with seven nests in the APP-UFMS and five nests in Fazenda Santa Fé. The area with greater anthropogenic influence showed a significant difference in PCoA, indicating size variation among collected individuals. Conversely, the area undergoing regeneration exhibited lesser size variation in linear morphometric analysis. When geometric morphometric analyses were conducted, it was concluded that there is fluctuating asymmetry, with no significant difference in the shape of *P. clavata* heads; however, considering size, a difference was noted, which was more pronounced in the anthropogenically influenced area. Furthermore, it can be inferred that size variation is related to the regeneration and anthropization processes of the areas.

**Key-words: Morphology, Fluctuating asymmetry, Regeneration, Geometric morphometric**



## **Introdução**

Com o avanço da urbanização, tornou-se comum a destruição e/ou alteração de habitats naturais (Myers, 1988). Com isso, a fragmentação de uma área natural, por exemplo, é vista como uma grande ameaça a diversidade global, levando a alterações das paisagens e uma redução da biodiversidade de espécies (McIntyre 2000, Braga et al. 2013). As áreas verdes dentro de um ambiente urbano são de extrema importância para manutenção dessa biodiversidade, já que abrigam uma alta quantidade de espécies (Nielsen et al. 2014, Melo & Delabie 2017). Porém, com o crescimento da urbanização e fatores antrópicos, a perda ou quebra de habitat, contribui com a redução da riqueza de espécies locais e aumentam o isolamento das populações desse ecossistema (Fahrig 2003, DeFries et al. 2005, Petchey & Gaston 2006). Além disso, o estresse ambiental, ocasionado por essas alterações na paisagem, pode afetar os organismos durante o seu desenvolvimento (Parsons 1992, Moller & Swaddle 1997). Essas alterações podem ser ocasionadas por fatores ambientais, alterando assim características morfológicas, comportamentais e fisiológicas de um ser vivo (Via & Lande, 1985).

Dentre as características morfológicas que podem ser alteradas por fatores ambientais está a simetria, a qual é uma das características mais evidentes de um animal e refere-se ao arranjo regular das estruturas em relação a um eixo do corpo (Brusca & Brusca 2007). Com a exceção de alguns grupos, a maioria dos animais são caracterizados por simetria bilateral, porém existem outros tipos de simetria, como radial, birradial, bilateral, entre outras (Holló 2015). No entanto, alguns indivíduos podem apresentar não apenas características morfológicas dispostas de forma simétrica, mas também a presença de assimetrias, na qual uma parte que deveria ser a imagem da outra difere de algum modo (Sanseverino & Nessimian 2008). Dentre os animais que apresentam simetria bilateral, podemos verificar a

assimetria flutuante, que é um dos três tipos de assimetria, sendo que cada tipo de assimetria é caracterizado por um diferente arranjo da média e da variância da diferença entre o lado direito e esquerdo (R-L) (Palmer & Strobeck 1986). Essa diferença entre os lados direito e esquerdo de um indivíduo de uma população, pode ser influenciada por vários aspectos, por exemplo, quando uma espécie apresenta uma tendência a um desenvolvimento maior de um lado do corpo, podemos chamar de assimetria direcional (Costa et al. 2015, Palmer & Strobeck 1986). Já a antiassimetria é caracterizada por um pico largo, onde a distribuição das diferenças (R-L) é próximo de zero, no caso dos caranguejos-violinistas do gênero *Uca*, citados por Palmer & Strobeck (1986), onde a garra sinalizadora é bem maior do que a oposta, ocorre aproximadamente com a mesma frequência nos lados direito e esquerdo na maioria das espécies. Já a assimetria flutuante é diferente dos outros dois tipos, por ter uma média entre o lado direito e esquerdo igual a zero (Palmer & Strobeck 1986). Assim, os índices de assimetria flutuante buscam avaliar características em ambos os lados dos indivíduos, a fim de encontrar fatores externos que podem ou não afetar o desenvolvimento dos mesmos (Costa et al. 2015).

Apesar da variabilidade fenotípica e genotípica ser normalmente alta, quando ocorre o estresse ambiental (Holloway et al. 1990), o aumento dessa variabilidade pode ocasionar alterações graves e prejudiciais a um sistema biológico (Parsons 1992). Dessa maneira, a escolha de um método para a mensuração da assimetria flutuante é importante, já que um carácter pode não fornecer respostas suficientes (Leary & Allendorf 1989; dos Reis et al. 2011). Sendo assim, através da morfometria, que corresponde ao estudo por meio da mensuração do tamanho e da forma do indivíduo e a diferença destes, é possível obter respostas ecológicas de como aspectos ambientais influenciam no desenvolvimento dos indivíduos (Stuble et al 2013).

Uma boa iniciativa para responder essa demanda é avaliar e comparar um ambiente perturbado e um ambiente não perturbado. Desse modo, a ordem Hymenoptera, composta

pelas abelhas, formigas e vespas, apresentam grande importância ecológica, uma vez que atuam como polinizadores ativos (i.e. abelhas em geral e algumas vespas) e passivos (i.e. algumas espécies de formigas e vespas), além de serem utilizados em práticas de controle integrado de pragas, no caso de algumas vespas e formigas (Borror et al., 1989; Lasalle & Gauld, 1992, 1993; Lasalle & Gauld, 1993; Ribas et al., 2012).

As formigas, pertencentes a família Formicidae, além de abundantes, são bem conhecidas taxonomicamente e estão presentes tanto em áreas não perturbadas como em áreas perturbadas, por isso são consideradas excelentes bioindicadores (Ribas et al., 2012). Desempenham papéis ecológicos fundamentais para o ecossistema, como relações mutualísticas, predação, areação do solo e ciclagem de nutrientes, além de serem sensíveis a mudanças ambientais, como fragmentação de habitat, tipo de solo e influência da urbanização (Lee & Foster, 1991; Leal, 2003; Menke et al., 2011; Oliveira et al., 2015; Tibcherani et al., 2020).

Neste sentido, entre as seis subfamílias pertencentes ao clado parafilético e basal Poneróide, está a subfamília Paraponerinae, incluída no grupo das formigas poneromorfas (Brady et al. 2014). Atualmente a subfamília é representada por uma espécie, a *Paraponera clavata* (Fabricius, 1775), a qual é exclusivamente neotropical e está amplamente distribuída nas Américas (Baccaro et al. 2015). Além disso, possui como principal característica morfológica seu escrobo antenal em forma de “V” invertido (Baccaro et al. 2015). *Paraponera clavata* apresenta aspectos que favorecem estudos morfométricos, como o seu tamanho que varia de 1,8 a 3 cm, o fato de serem monomórficas, não apresentando diferença de tamanho entre as operárias, possuírem colônias populosas, podendo chegar até 3.000 operárias por ninho, se alimentarem principalmente de pequenos invertebrados, sempre nidificando próximo a nectários extraflorais, além da facilidade de coleta (Baccaro et al. 2015).

Desta forma, a assimetria flutuante busca encontrar fatores externos que podem ou não influenciar a morfologia dos indivíduos, visto que os fragmentos urbanos contornados por matriz antrópica e áreas em regeneração apresentam características específicas que variam de acordo com a heterogeneidade ambiental local e que influencia diretamente a disponibilidade de recursos, temperatura e pluviosidade (Costa et al. 2015; Tibcherani et al. 2020; Aranda et al. 2022). Além disso, os estudos envolvendo o grupo das formigas, geralmente focam na hibridização de espécies e não o efeito ecológico da assimetria flutuante nas formigas (Oliveira et al. 2017). Sendo assim, o objetivo do trabalho foi verificar a diferença do nível de assimetria flutuante em populações de *Paraponera clavata* em fragmentos urbanos e áreas em regeneração, testando a hipótese de que populações em áreas mais degradadas e/ou em áreas urbanas terão maior assimetria flutuante do que áreas menos degradadas e/ou com menor impacto de ações antrópicas.

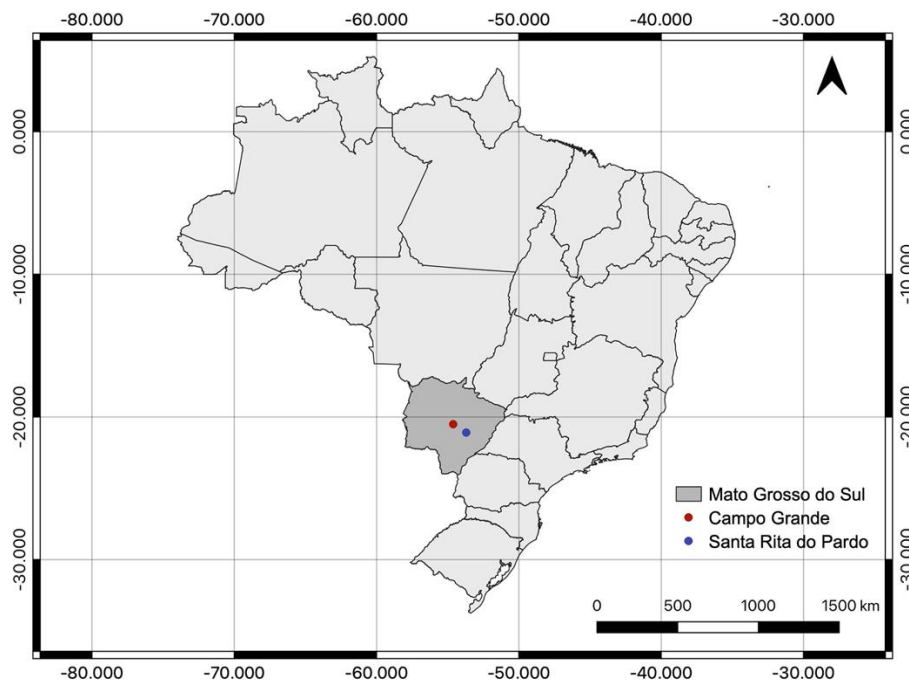
## **Material e Métodos**

### *Área de estudo*

O estudo foi realizado em duas áreas, sendo uma a Área de Preservação Permanente (APP), localizada na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, no município de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul (APPN/UFMS) (20°30'34.55"S 54°36'54.58"W) (Figura 1). A APPN/UFMS, cujo tamanho é de aproximadamente 50,11 hectares, é composta por unidades remanescentes nativas, com vegetação predominantemente típicas de Cerradão, Mata de Galeria e Vereda em estágio avançado de sucessão. Apresenta uma grande quantidade de matriz antrópica circundante, visto que está localizado no meio da cidade de Campo Grande, que conta com aproximadamente 8 092,951 km<sup>2</sup> de área territorial e 154,454 km<sup>2</sup> de área urbana, além de ser considerado o décimo nono município mais população da região Centro-

Oeste do Brasil e possuir cerca de 910 milhões de habitantes, segundo estimativa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2022, além disso a área sofre impactos como a presença de animais sinantrópicos (cães e gatos), acúmulo de lixo, além de livre acesso de transeuntes que deixam entulhos no entorno e dentro da área por um longo período.

Já a segunda área, localizada em uma propriedade rural (Fazenda Santa Fé) em processo de regeneração, no município de Santa Rita do Pardo, Estado de Mato Grosso do Sul (21°4'15.60"S 53°41' 11.64"W) (Figura 1), compreende a fitofisionomia *Cerrado stricto sensu*, nas quais são caracterizadas por um tipo de vegetação com presença de árvores baixas, inclinadas e tortuosas. Além disso, nas áreas também estão presentes arbustos e subarbustos, em meio de estrato de herbáceas e gramíneas. A Fazenda Santa Fé, cuja principal atividade é a criação de gado, apresenta fragmentos com diferentes estágios de regeneração, indo de 5 a 20 anos, porém a coleta foi realizada em uma área com tempo de regeneração maior que 40 anos (Tibcherani et al 2020).

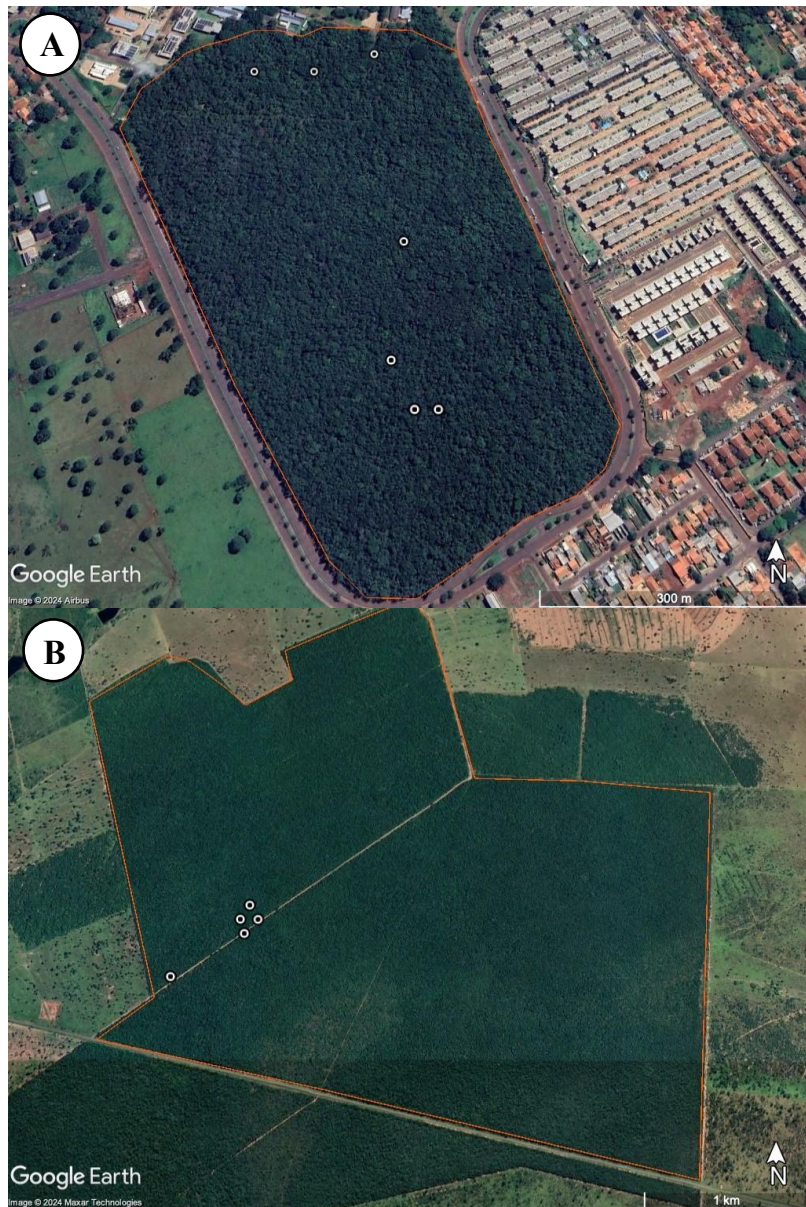


**Figura 1.** Localização dos municípios de Campo Grande e Santa Rita do Pardo, Estado de Mato Grosso do Sul, onde serão realizadas as coletas de *Paraponera clavata*.

*Coleta dos indivíduos de **Paraponera clavata** (Fabricius, 1775)*

Os indivíduos de *Paraponera clavata* foram coletados a partir de busca ativa em cada área de estudo. Sendo assim, a amostragem das formigas foi realizada por quatro dias consecutivos em cada área de coleta, no período da manhã e da tarde (entre 08:00h e 16:00h), não havendo influência do horário na coleta das formigas. Em cada área amostrada foi coletado o maior número possível de indivíduos de *P. clavata*, seguindo de Almeida et al. (2017).

Os indivíduos de *P. clavata*, coletados através de pinça entomológica longa, foram transportados até o laboratório em frascos de vidro com álcool 70% devidamente etiquetados com o número do ninho e sua coordenada geográfica. Em laboratório foi realizada a confirmação da identificação dos indivíduos a partir do Guia para Gêneros de Formigas do Brasil (Baccaro et al., 2015). Após a confirmação, com auxílio de uma tesoura vannas foi retirada a cabeça e os três pares de pernas de cada indivíduo, essas estruturas foram fixadas com esmalte de unha transparente, em uma folha de acetato tamanho A4 padronizando a posição dos indivíduos.

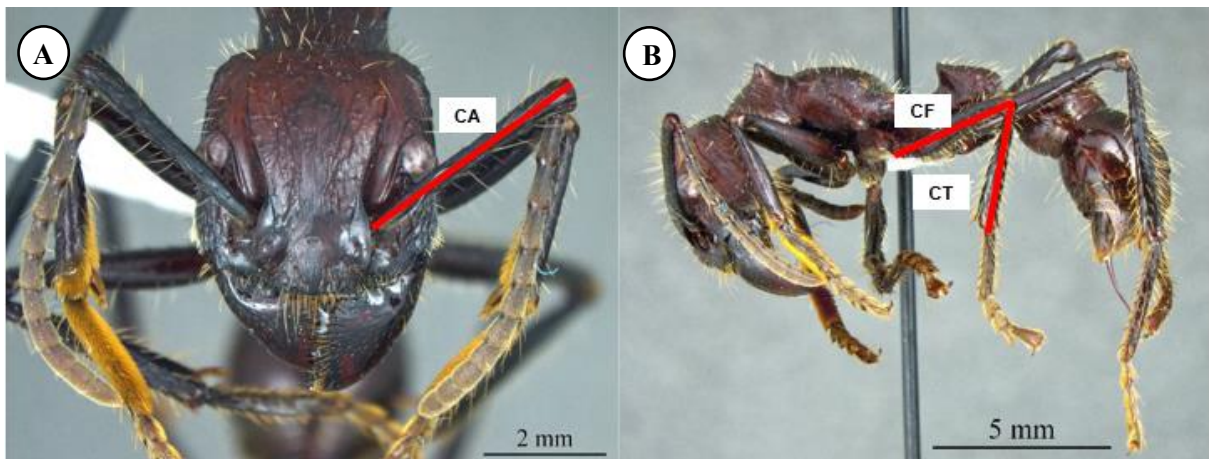


**Figura 2.** (A) Área antropizada localizada no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, na APP da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. (B) Área em estado de regeneração, localizada em uma propriedade rural privada no município de Santa Rita do Pardo, Mato Grosso do Sul, Brasil.

*Morfometria linear de **Paraponera clavata** (Fabricius, 1775)*

As estruturas escolhidas para a realização do estudo de morfometria linear, baseado no trabalho de Rabitsch (1997), foram: comprimento do escapo antenal (CA) (Figura 3A),

comprimento das tíbias (CT) e comprimento dos fêmures (CF) (Figura 3B). Essas medidas foram realizadas através do sistema de captura e tratamento de imagens (estereomicroscópio Zeiss Discovery V20 com câmera Zeiss AxioCam ICc5 acoplada, com software AxioCam IC-ZEN pro 2012 (Figura 3). As estruturas foram posicionadas e para cada estrutura foram tiradas duas fotos padronizando o número de camadas (10 camadas). Essas imagens, contendo uma escala também padronizada, foram salvas no formato JPG para o uso futuro das mensurações das medidas geométricas. As medidas obtidas para cada estrutura foram planilhadas em um arquivo excel.



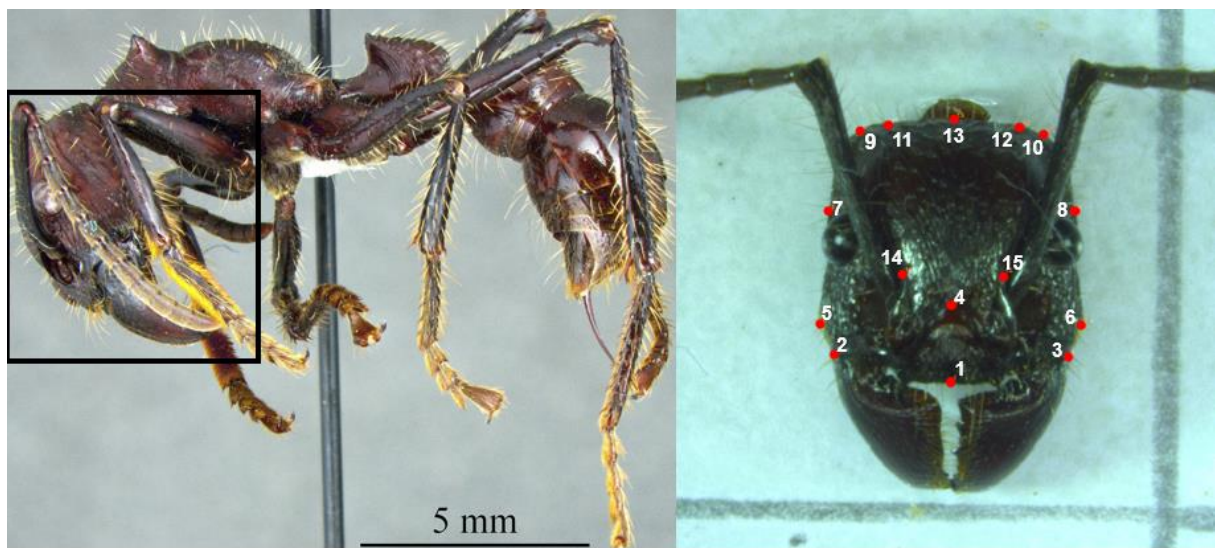
**Figura 3.** Estruturas utilizadas para a realização do estudo de morfologia linear de *Paraponera clavata*: (A) CA: Comprimento do escapo antenal; (B) CF: Comprimento do fêmur; CT: comprimento da tíbia. Modificado de AntWeb (2024).

#### *Morfometria geométrica de Paraponera clavata (Fabricius, 1775)*

A estrutura selecionada para a realização desse estudo foi a cabeça, posicionada sempre na mesma posição e angulação. Sendo assim, foram aleatorizados cinco espécimes de cada ninho de *Paraponera clavata*, seguindo o trabalho de Samung et al. (2022), totalizando 60 indivíduos. Para cada indivíduo foram tiradas duas fotos diferentes em vista dorsal, pela mesma pessoa, com intervalo de tempo, sendo que cada uma dessas fotos foi duplicada,



gerando quatro imagens de um mesmo indivíduo. Dessa maneira, obtivemos 240 fotos, realizadas e tratadas pelo estereomicroscópio Zeiss Discovery V20 com câmera Zeiss AxioCam ICc5 acoplada, com software AxioCam IC-ZEN pro 2012. Posteriormente, selecionamos 15 “landmarks” (pontos de referência) (Figura 4) com base em sua capacidade de representar sua forma geométrica. Para a localização e descrição dos “landmarks” foi utilizado a representação da morfologia presente em Baccaro et al. (2015) (Tabela 1).



**Figura 4.** Estrutura selecionada para a realização do estudo de morfometria geométrica e a localização dos “landmarks” escolhidos. Modificado de Antweb (2022).

**Tabela 1.** Descrição dos landmarks selecionados para as análises de morfometria geométrica seguindo a morfologia descrita e utilizada por Baccaro et al. (2015).

<i>Landmarks</i>	<b>Descrição</b>
1	Ponto central da margem do clipeo
2 e 3	Ponto lateral da margem do clipeo
4	Ponto médio entre os lobos frontais
5 e 6	Ponto médio da gena
7 e 8	Ponto superior da região dos olhos
9 e 10	Ponto anterior do occipital
11 e 12	Ponto superior do vértex
13	Ponto central do occipício
14 e 15	Ponto médio da carena frontal

### *Análise de dados*

#### *Morfometria linear de **Paraponera clavata** (Fabricius, 1775)*

Para analisar a morfometria linear, foi realizado primeiramente o teste de Shapiro-Wilk para testar a normalidade de cada um dos caracteres, os quais foram tratados de forma independente. Após isso, quando normal, foi realizado o Test-T pareado e quando não-normal foi realizado o teste de Mann-Whitney, ambos entre os lados direito e esquerdo para cada estrutura medida. Assim, primeiramente foram comparados os indivíduos de um mesmo ninho, depois comparados os ninhos de uma mesma área e, por último, comparadas as duas áreas, com a finalidade de verificar se existe diferença significativa entre os lados direito e esquerdo dos indivíduos de *P. clavata*. Posteriormente, foi realizada Análise de Variância (ANOVA) e Kruskal-Wallis como complementar para comparar se existe diferença no tamanho dos indivíduos de *P. clavata* entre as duas áreas coletadas. Para cada estrutura foi realizada uma regressão linear, comparando o lado direito e esquerdo dos indivíduos de cada

área. Já para as análises do cálculo de Assimetria Flutuante (FA) foram utilizados os trabalhos de Palmer & Strobeck (1986) e Palmer (1994), sendo o índice escolhido o  $FA4 = \text{var}(R - L)$  de acordo com as escalas e tamanhos amostrados. Com o índice de assimetria flutuante (FA4), foi realizado uma PCoA, utilizando distância Euclidiana, para comparar as duas áreas. Todas as análises foram realizadas no software R 2023.12 (R Core Team, 2023), no qual foram utilizados os pacotes Car (Fox & Weisberg 2019), CarData (Fox et al. 2022), Coin (Hothorn et al 2006), Dplyr (Wickhan et al. 2023), Lattice (Sarkar 2008), Permute (Simpson, 2022), Psych (Revelle 2023), Vegan (Oksanen et al. 2022) e Survival (Therneau 2023).

#### *Morfometria geométrica de Paraponera clavata*

As fotos dos indivíduos utilizados para a morfometria geométrica foram compiladas e convertidas através do programa TPSUtil 1.4 (Rohlf, 2008) e com o software TPSDig versão 2.16 (Rohlf, 2010) foi realizado a digitalização dos pontos de referência (“landmarks”). Em seguida, o arquivo salvo em TPS foi importado para o programa MorphoJ (Klingenberg, 2011) para sobrepor esses “landmarks” por meio da Análise Generalizada de Procrustes. Para testar o erro das marcações de “landmarks”, foi realizada uma análise de variância (Procrustes ANOVA), através da comparação de duas fotos diferentes de uma mesma espécie e duas marcações diferentes de “landmarks” em uma mesma fotografia. (ver Klingenberg e McIntyre, 1998; Klingenberg et al., 2002; e Klingenberg, 2015 para detalhes sobre Procrustes ANOVA).

Foram realizadas diferentes abordagens para verificar a variação do tamanho e forma da cabeça de *Paraponera clavata*. para isso foi categorizada por área, dividindo indivíduos da área 1 e área 2. De forma geral, foi realizado uma Análise de Componentes Principais (PCA), com todos os dados e, posteriormente foi realizado também um teste de permutação para verificar se a tendência era aleatória e, por fim, uma regressão linear. Com os resíduos da

regressão, foi realizada uma nova PCA, corrigindo o efeito do tamanho. Todas as análises foram feitas a partir do componente assimétrico.

## Resultados

Foram localizados no total 12 ninhos nas duas áreas de estudo, sendo encontrados na área 1 (APP-UFMS) sete ninhos de *Paraponera clavata*, nos quais em dois ninhos foram coletados 49 indivíduos cada, e no restante 47, 40, 39, 37 e 14 indivíduos, respectivamente (Tabela 2). Na área 2 (Fazenda Santa Fé) foram localizados cinco ninhos, nos quais foram coletados 45, 40, 35, 23 e 22 indivíduos de *P. clavata* (Tabela 2). Os ninhos encontrados são independentes e todos com uma distância igual ou maior que 60 metros.

### *Morfometria linear*

Quando realizamos test t ou Mann Whitney para cada um dos ninhos da área 1 verificamos que as antenas e o terceiro par de tíbias dos indivíduos do ninho 1 apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) (<lado direito), enquanto no ninho 2, apenas as antenas apresentaram diferença entre o lado direito e esquerdo, sendo o lado esquerdo maior (Tabela 2). No ninho 4, as estruturas que apresentaram diferença significativa entre os lados direito e esquerdo foram o primeiro e segundo par de tíbias (<lado direito), enquanto no ninho 5, todas as tíbias foram significativas (<lado direito) (Tabela 2). Já os indivíduos dos ninhos 3, 6 e 7 não apresentaram diferença significativa em nenhuma de suas estruturas (Tabela 2).

Diferentemente dos resultados encontrados na área 1, na área 2 apenas o ninho 8 não apresentou diferença significativa entre os indivíduos coletados. No ninho 9 foi observada diferença significativa no segundo e terceiro par de fêmur (<lado direito), enquanto o segundo

par de fêmur apresentou diferença no ninho 10 (<lado esquerdo) (Tabela 2). Já o ninho 11 apresentou diferença significativa nas antenas, no primeiro e terceiro par de tibia (<lado direito), e o ninho 12 apresentou diferença apenas no primeiro par de tibia (<lado esquerdo).

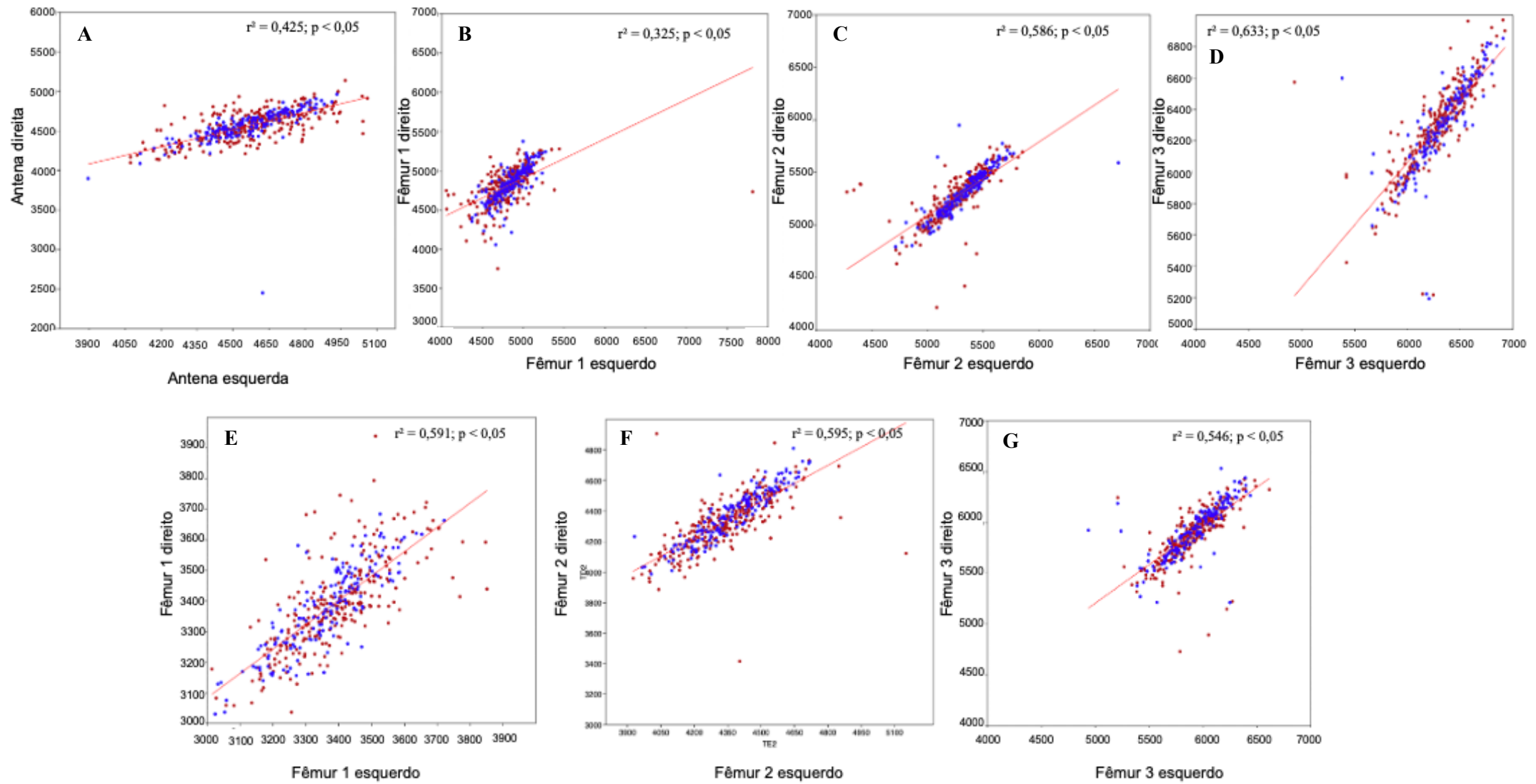
Quando comparamos todos os ninhos da área 1, a estrutura que apresentou diferença significativa foi o segundo par de tibia (<lado esquerdo). Diferentemente do encontrado na área 1, na área 2 foi possível verificar diferença significativa nas antenas, no primeiro par de fêmur e tibia e no terceiro par de fêmur (<lado direito). No entanto, quando comparamos a área 1 com a área 2, não verificamos diferença significativa entre as estruturas dos indivíduos ( $p>0,05$ ).

**Tabela 2.** Número de indivíduos coletados nos ninhos de cada área de estudo e resultados do Test t e Mann Whitney. \* quando realizado o teste de Mann Whitney.

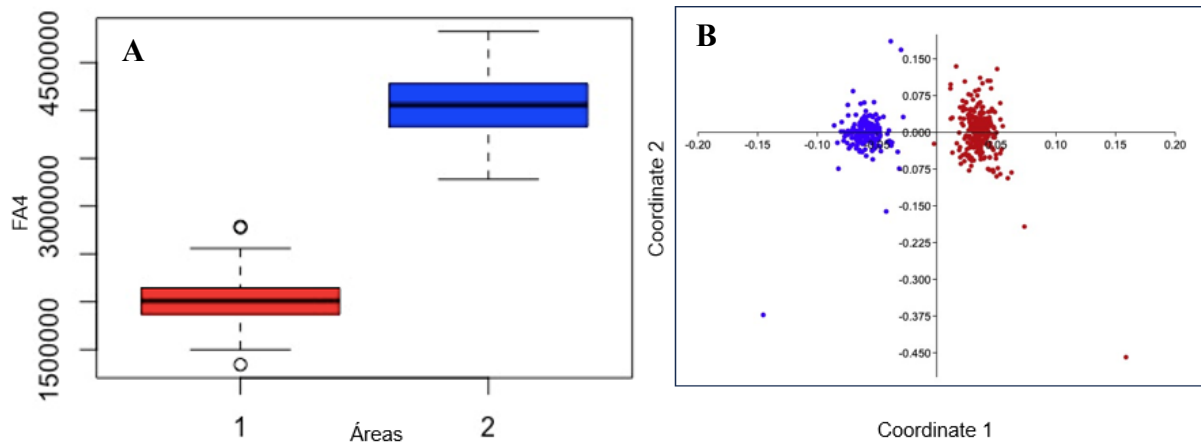
Áreas / Ninhos		Número de indivíduos	Antenas	Fêmur			Tibia		
				1º par	2º par	3º par	1º par	2º par	3º par
1 - APP/UFMS	Ninho 1	40	0,03	0,074*	0,909*	0,26*	0,067	0,04*	0,07*
	Ninho 2	39	0,0078	0,185	0,64*	0,209*	0,254	0,502*	0,689
	Ninho 3	47	0,533	0,196*	0,743	0,943*	0,497	0,15	0,385*
	Ninho 4	14	0,571*	0,832*	0,753	0,13	0,002	0,026*	0,302
	Ninho 5	37	0,681	0,590*	0,488*	0,121	0,039	0,03	0,077*
	Ninho 6	49	0,871	0,0605*	0,417*	0,807*	0,492	0,811*	0,834*
	Ninho 7	49	0,328	0,305	0,525	0,509*	0,424	0,346*	0,265
2 - Fazenda Santa Fé	Ninho 8	35	0,181*	0,239	0,876*	0,761*	0,380*	0,297	0,321*
	Ninho 9	40	0,815	0,549*	0,012*	0,00096*	0,349*	0,377	0,739*
	Ninho 10	45	0,09*	0,443*	0,48*	0,681*	0,647	0,711*	0,085
	Ninho 11	22	0,019	0,136*	0,059*	0,185*	1,00E-03	0,276*	0,012*
	Ninho 12	23	0,166	0,229*	0,444	0,188	0,005	0,194	0,371*
1 - APP/UFMS			0,263*	0,074*	0,909*	0,265*	0,419*	0,045*	0,079*
2 - Fazenda Santa Fé			0,0016*	0,23*	0,009*	0,0000604*	0,0069*	0,72*	0,515*

A partir da realização da regressão linear para cada estrutura comparando os lados direito e esquerdo, verificamos que, nas antenas foi obtido como resultado  $r^2=0,425$ ,  $p<0,05$  (Figura 5A), no primeiro par do fêmur  $r^2=0,325$ ,  $p<0,05$  (Figura 5B), segundo par de fêmur o  $r^2=0,586$ ,  $p<0,05$  (Figura 5C) e terceiro par de fêmur:  $r^2= 0,633$ ,  $p<0,05$  (Figura 5D). Já nas tíbias, o resultado da regressão foi  $r^2=0,5915$ ,  $p<0,05$  (Figura 5E);  $r^2=0,595$ ,  $p<0,05$  (Figura 5F) e  $r^2= 0,546$ ,  $p<0,05$  (Figura 5G), respectivamente.

Quando realizamos ANOVA e Kruskal-Wallis comparando as duas áreas de estudo, verificamos que existe diferença significativa no tamanho das formigas, evidenciando que os indivíduos de *Paraponera clavata* possuem tamanhos diferentes nas duas áreas amostradas ( $p<0,05$ ). As formigas da área mais conservada são maiores do que as formigas da APP/UFMS. Além disso, a partir da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) (Figura 6), utilizando distância euclidiana, verificamos que há uma diferença significativa entre as duas áreas (eixo 1= 86%; eixo 2= 3,7%) .



**Figura 5.** Regressão linear entre (A) antenas direita e esquerda; (B) primeiro par de fêmur direito e esquerdo; (C) segundo par de fêmur direito e esquerdo; (D) terceiro par de fêmur direito e esquerdo; (E) primeiro par de tibia direito e esquerdo; (F) segundo par de tibia direito e esquerdo e (G) terceiro par de tibia direito e esquerdo.



**Figura 6.** (A) Boxplot com a diferença nos valores de assimetria flutuante (FA4) entre as áreas 1 e 2 e; (B) PCoA utilizando distância Euclidiana com o índice de assimetria flutuante (FA4) entre as áreas 1 e 2. \* Área 1 = vermelho; área 2 = azul.

### *Morfometria geométrica*

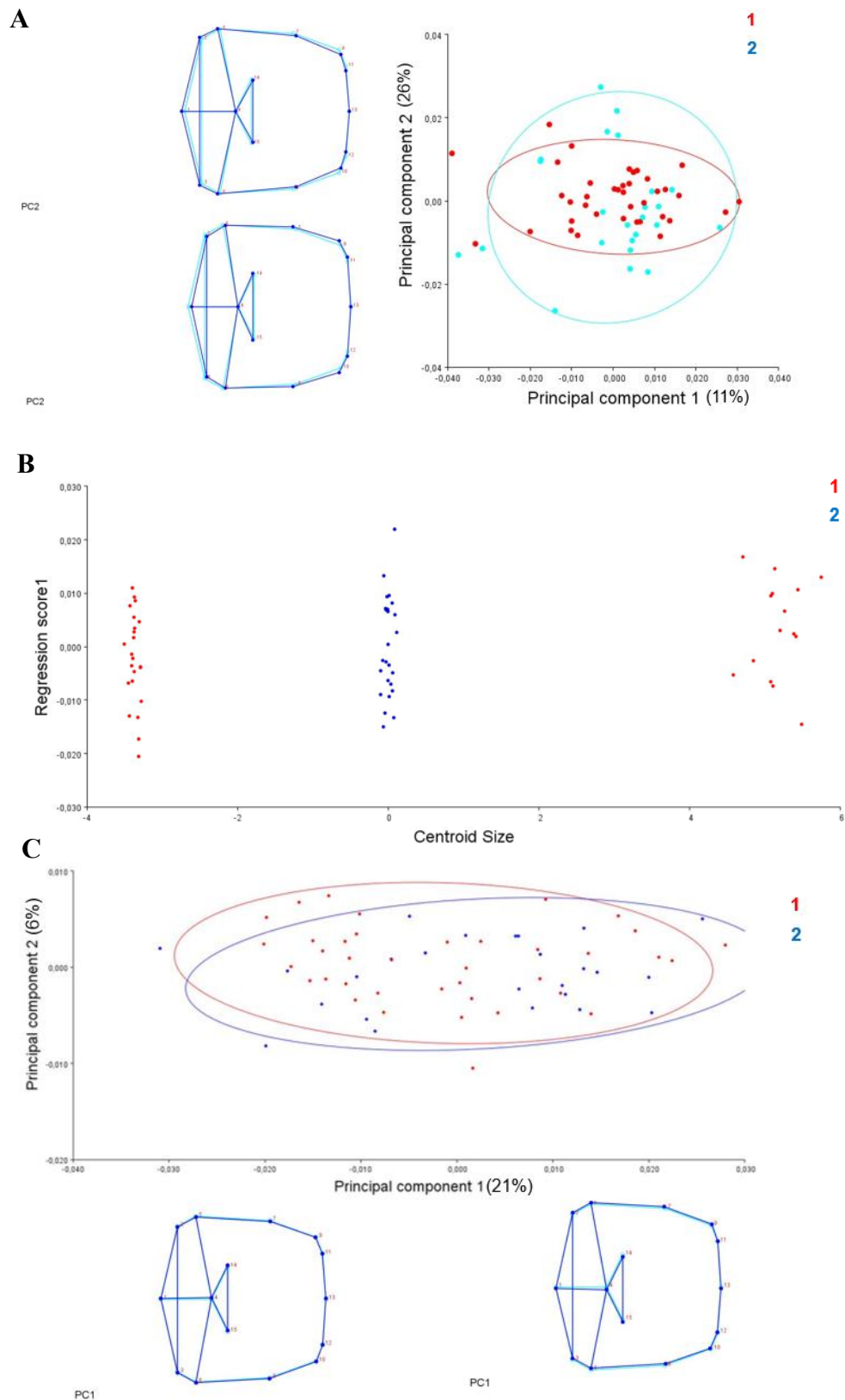
Ao realizarmos ANOVA (Tabela 3) verificamos menor diferença entre fotografia e marcação de “landmarks” em comparação com a diferença entre indivíduos e por esse motivo o erro foi considerado insignificante e as coordenadas médias das marcações dos “landmarks” das quatro fotografias foram utilizadas nas outras análises. O principal efeito dos indivíduos resulta da variação nas médias esquerda-direita dos valores das características. O efeito lateral (Tabela 3) não reflete em uma diferença média entre os lados esquerdo e direito ( $MS=0,003253142$ ) e, portanto, não representa uma assimetria direcional e sim uma assimetria flutuante ( $MS=0,000738753$ ). De acordo com a PCA de componente assimétrico da vista dorsal da forma geral da cabeça, os primeiros quatro componentes principais respondem por aproximadamente 72% de todas as variações de forma (Figura 7A). O primeiro componente (11,03% da variação total) e o segundo componente (26,31%) (Figura 7A).



Para a alometria realizada, a hipótese foi rejeitada, através da análise de regressão, sendo o valor de  $p$  não foi significativo ( $p > 0,05$ ) e apenas 1,9791% da forma varia em função do tamanho. Para a análise discriminante do formato da vista dorsal da cabeça (tamanho corrigido), o teste de permutação mostrou distância de Procrustes não significativa entre ambas as áreas ( $p > 0,05$ ). A PCA, com o tamanho corrigido, realizado a partir dos resíduos da regressão (Figura 7B), mostrou os primeiros quatro componentes principais respondem por aproximadamente 48% de todas as variações de forma. O primeiro componente (21% da variação total) e o segundo componente (6,3%), mostrando que tirando o efeito do tamanho, a forma não apresentou variação significativa entre as duas áreas (Figura 7C).

**Tabela 3.** Erro de medição – ANOVA de Procrustes para uma amostra de cabeças de *Paraponera clavata* com as somas dos quadrados de Procrustes (SS), a média dos quadrados de Procrustes (MS) e os graus de liberdade (DF) para todos os efeitos, bem como os valores F de Goodall e os valores P paramétricos.

Efeito	SS	MS	DF	F	p
Indivíduo	0,10519923	0,00013052	806	1,77	< 0,0001
Lado	0,00422908	0,003253142	13	4,4	< 0,0001
Indivíduo * Lado	0,05954348	0,000738753	806	6,97	< 0,0001
Erro 1	0,0163953	1,06023E-05	1560	1,22	< 0,0001
Resíduo	0,02639756	8,6777E-06	3042		



**Figura 7.** (A) PCA entre o tamanho e a forma dos indivíduos de *Paraponera clavata* entre as áreas 1 e 2 com a variação das cabeças do ponto extremo positivo e extremo negativo (azul-

escuro = tamanho real; azul-claro = variação); (B) Regressão linear entre o tamanho do centroide e as áreas; e (C) PCA com os resíduos da regressão (retirando o efeito do tamanho) com a variação das cabeças do ponto extremo positivo e extremo negativo (azul-escuro = tamanho real; azul-claro = variação).

## **Discussão**

Os ninhos de *Paraponera clavata* estão normalmente associados aos tipos de habitats e essa espécie é conhecida por nidificar preferencialmente em bases de árvores ou próximas a cipós, os quais são utilizados para facilitar a alimentação desses indivíduos. Em ambas as áreas coletadas, foi possível verificar essa associação, além da localização dos ninhos encontrados que apresentaram fatores importantes, como uma grande quantidade de biomassa próxima ao ninho, baixo risco de inundação na área, além da presença de cipós. O mesmo resultado foi encontrado no trabalho de Pérez et al. (1999), onde analisou a distribuição, mortalidade e associação com plantas de ninhos de *P. clavata* no Panamá e afirmou que as colônias de *P. clavata* competem por território. Além disso, Delsinne et al (2019) sugerem que uma distribuição de ninhos em maior escala pode ser exemplificada pelo fato dessa espécie de formiga preferir ambientes menos úmidos e que não são tão afetados por chuvas torrenciais, bem como preferirem florestas jovens e áreas perturbadas. Os resultados do presente estudo coincidem com Delsinne et al. (2019), visto que encontramos uma maior distribuição na área com maior influência antrópica (APP-UFMS), e na área com maior tempo de regeneração encontramos um menor número de ninhos.

### *Morfometria linear*

A relação entre estresse ambiental e assimetria flutuante vem sendo proposta por muitos autores (Møller 1997; Görür 2006, por exemplo) e a aplicação como um instrumento de

bioindicação foi sugerido por Palmer & Strobeck (1986). De todos os caracteres mensurados, os resultados sugerem um padrão de assimetria entre indivíduos de um mesmo ninho e ninhos de uma mesma área nas tíbias e fêmur. Isso pode estar relacionado ao fato de serem responsáveis pela locomoção do indivíduo (Gravish et al. 2013). Essas mudanças também podem ser determinadas por fatores ambientais ou genéticos, porém o estudo da assimetria flutuante, apesar de muito utilizado para bioindicadores de locais degradados e/ou poluídos, não é confiável para indicar estresse (Rabitsch 1996).

Comparando a área 1 com a área 2, o fato de não apresentar diferença significativa entre a assimetria dos caracteres mensurados, não significa que as populações de *Paraponera clavata* não estejam se comportando de maneira diferente ao longo de um gradiente ambiental. Possivelmente, ampliando o tamanho da amostra e dos caracteres mensurados, seria possível testar com maior confiabilidade essa assimetria (Wróblewska 2015). Estudos com formigas em diferentes áreas mostram que elas respondem de acordo com o ambiente em que estão inseridas, sendo afetadas pela vegetação, disponibilidade de recursos e o grau de perturbação da área. Tal evidência foi observada no estudo de Lessard et al. (2005), no qual o tamanho do fragmento e a intensidade da interação humana (antropização) mostrou influenciar na comunidade das espécies de formigas.

As populações de *P. clavata* podem apresentar tamanhos diferentes baseados em diversos níveis de estresses. Tal fato foi observado a partir das regressões lineares, as quais foram realizadas com cada estrutura. Assim, foi observado que se comportam de maneira individual, corroborando com o estudo de Rabitsch (1996). Além disso, também deve ser considerada a resistência das espécies ao estresse ambiental e a presença ou ausência da mesma em determinado local, uma vez que sua presença pode um fator de indicação de área preservada, como apresentado no trabalho de Tibcherani et al. (2018), onde *P. clavata* foi apresentada como uma espécie bioindicadora de área preservada.

Considerando o índice de assimetria flutuante utilizado (FA4) foi possível verificar que as duas áreas diferem entre si, o qual pode estar relacionado ao grau de degradação e preservação das áreas de estudo. Tal fato também foi encontrado no estudo de Nunes et al. (2015), o qual avaliou o índice de assimetria flutuante em *Apis mellifera*, levando em consideração o ambiente em que estava inserida, sendo a coleta realizada em diferentes partes do Brasil, incluindo os biomas Cerrado e Mata Atlântica, além de fatores ambientais como condições climáticas, poluentes, limitações de nutrientes, predadores, entre outros.

Em relação a área 1, a qual está localizada no município de Campo Grande, verificamos que os ninhos apresentaram indivíduos com variação de tamanho, apesar de não existir evidências na literatura que confirmem que *P. clavata* pode apresentar variação de tamanho, o estudo experimental de Peeters (2017) verificou que existiam indivíduos menores do que outros em uma mesma colônia. Ou seja, essa variação de tamanho encontrada poderia sugerir que houvesse um polimorfismo nas colônias de *P. clavata*, porém isso não foi confirmado. Já Peeters (2017) mostrou em seu estudo a produção de operárias naníticas, que diferem em tamanho das outras operárias (menores) e são adaptadas para reduzir o tempo necessário para que as primeiras operárias possam forragear, substituindo a rainha fundadora, que em determinado momento deixa de existir na colônia, corroborando com os resultados encontrados na ANOVA e PCoA, onde apresentaram uma diferença significativa de tamanho nos indivíduos de *Paraponera clavata*, entre as duas áreas e entre ninhos da área 1 localizado na APP-UFMS.

No caso do presente estudo, a diferença de tamanho dentro de uma mesma área pode ser explicada por diversos fatores primários que influenciam o ninho de *Paraponera clavata*, como espécies e tamanhos de árvores encontradas nesse mesmo ambiente, localização de ninhos de outras espécies de formigas, precipitação e disputa territorial, o qual também foi observado nos estudos de Breed et al. (1987) e Eisemann (1984). Apesar da estrutura do ninho

de *Paraponera clavata* ser pouco estudada, o estudo de Rodriguez et al. (2022) evidenciou uma flexibilidade nas tarefas que são divididas entre castas, ou seja, a espécie apresentou uma adaptação elevada no processo de divisão de função, onde formigas enfermeiras e forrageadoras se adaptam a variabilidade ambiental, podendo assumir funções diferentes dentro de um mesmo ninho.

Nessa mesma área (APPN-UFMS), também foi observada uma instabilidade na densidade dos ninhos, isso também foi verificado no estudo Bennett & Breed (1985) e pode ser explicado por fatores já mencionados. Além disso Belk et al. (1989) encontraram uma associação positiva entre colônias de *Paraponera clavata* e árvores com o diâmetro à altura do peito (DAP) de 8 a 38,9 cm e um aumento da taxa de mortalidade em ninhos podendo ser uma possível justificativa para o fato de as colônias não apresentarem um padrão no tamanho dos indivíduos.

Quando analisamos todas as medidas obtidas através da morfometria linear, podemos observar que os indivíduos da área mais afetada (área 1) apresenta uma maior assimetria para o lado esquerdo. No entanto, o estudo de assimetria apresenta uma desvantagem, a qual está relacionada ao fato de que na análise os indivíduos estressados não são separados, assim o resultado obtido, sendo principalmente apresentado nos caracteres responsáveis pela locomoção se correlaciona com os agentes estressantes suspeitos e não podem ser definidos.

### *Morfometria geométrica*

Palmer & Strobeck (1986) propuseram que o estudo da assimetria flutuante ajudaria na compreensão e conseqüentemente evitaria a extinção de uma espécie, já que o aumento da assimetria flutuante antes de sua extinção pode indicar um estresse e, conseqüentemente, ocasionar perda de variação genética. Também é possível concluir que a mensuração de

apenas uma estrutura não é suficiente para analisar a assimetria flutuante, sendo assim o estudo da morfometria geométrica da cabeça de *Paraponera clavata*, foi complementar a morfometria linear.

A interação significativa encontrada entre lado x indivíduo supõe que níveis de estresses causados por fatores externos, como variação da temperatura, pluviosidade, recursos ambientais, podem estar influenciando diretamente no tamanho e formato das cabeças das formigas, visto que foi verificado uma suposição de assimetria flutuante nas cabeças de *P. clavata*. É mais provável que o tamanho de determinada estrutura seja influenciado pelo ambiente (Regeler et al., 2023; Grzes et al. 2015), visto que alguns fatores como encontrados em tal trabalho explicam essa influência. Além disso, fatores como calor, excesso de chuva, falta de comida, local de nidificação e, até mesmo a morte da rainha, podem estar explicando essa variação observada nesse trabalho.

O presente estudo avalia através da morfometria geométrica, a alometria e a maneira como o formato da cabeça de *Paraponera clavata* varia em função do tamanho, bem como a variação morfológica dessa estrutura. Embora foi revelado um padrão de assimetria flutuante, os resultados sugerem um padrão difícil de ser definido, visto que não encontramos resultados significativos na forma da cabeça da espécie. Além disso, verificamos também que a forma não varia de maneira significativa em relação as duas áreas estudadas, corroborando com o estudo de Heinze et al (1994), o qual afirma que a espécie estudada é considerada uma espécie monomórfica, ou seja, não apresenta diferenciação morfológica entre castas, uma vez que as operárias apresentam a mesma morfologia do que as operárias maiores.

Porém, como proposto por Møller (1993), um dos problemas do estudo de assimetria flutuante é não saber ao certo qual estrutura é a melhor e mais confiável para indicadores de estresse, podendo ser a cabeça uma estrutural não ideal para a realização do estudo de FA para

essa espécie, visto que em um trabalho já mencionado aqui Rabitsch (1997), a melhor estrutura encontrada para calcular a assimetria flutuante na formiga são as relacionadas a locomoção, dado ao hábito de forrageamento.

Considerando que as duas áreas se diferem e apresentam variação no tamanho e a forma da cabeça, assim como encontrado na morfometria linear, a área 1 (APP-UFMS) apresentou ninhos com indivíduos com tamanhos diferentes. Tal fato também foi observado por Breed et al. (1987) que evidenciaram que apesar da pouca diferenciação entre castas dessa espécie quando comparada a outras espécies de formigas, ela ainda apresenta uma associação entre o tamanho corporal e o desempenho da tarefa, podendo estar relacionado ao papel de cada indivíduo coletado. Embora o tamanho da colônia selecionada para a realização desse estudo não seja uma amostra consideravelmente grande (número de indivíduos) e que para uma melhor análise dessa variação seria necessário aumentar a amostragem tanto dos indivíduos coletados por ninho, quanto o número de ninhos coletados por área (Oster & Wilson, 1978; Keller & Passera 1993).

Outra observação importante é a variação morfológica do tamanho dos indivíduos dentro de uma população, como no ninho 1 (APP-UFMS). Devido a colônia apresentar variação no tamanho das cabeças, podemos sugerir que o ninho possivelmente sofreu alguma perturbação, visto que a coleta dos indivíduos deste ninho foi realizada numa época chuvosa e estava alocado em uma área propensa a inundação, tornando o ninho vulnerável a fatores externos que podem ter influenciado no desenvolvimento dessa colônia. Tal evidência foi verificada por Harrison & Breed (1989), que estudaram a nidificação dos ninhos de *P. clavata*, levando em consideração o ambiente e a maneira como as formigas se comportaram a ele. Além disso, a variação no tamanho da cabeça também pode estar relacionada ao ninho apresentar formigas assimétricas devido a fundação do ninho ter sido recente. Tal fato também



foi verificado no estudo de Rabitsch (1997), realizado no bioma x com formigas mais assimétricas em colônias novas (prematuros).

Quando analisamos a variação forma excluindo o efeito do tamanho (utilizando os resíduos da regressão), foi possível observar que a área 1 não difere de maneira significativa da área 2, ou seja, existe uma sobreposição dos indivíduos das duas áreas. Isso pode estar relacionado ao fato de que a espécie escolhida é considerada uma espécie monomórfica. Além disso, a estrutura pode não ser considerada a melhor para o estudo de assimetria flutuante, visto que outros estudos mostram que existem estruturas que são afetadas com maior facilidade, como é caso de estruturas responsáveis pela locomoção e comunicação (antenas).

### **Conclusão geral**

Com base nos resultados do presente estudo, foi possível concluir que não há um padrão de alometria e o tamanho dos indivíduos se difere entre a área 1 e a área 2. As estruturas que apresentaram uma maior diferença significativa foram as relacionadas a locomoção, mostrando um padrão de assimetria, o que pode explicar essa diferença, corroborando para a teoria de que fatores externos podem afetar o desenvolvimento de estruturas importantes para os indivíduos. Não houve diferença significativa quando considerada a forma das cabeças de *P. clavata*, apresentando somente uma diferença no tamanho das cabeças entre a área 1 e 2, onde foi possível verificar assimetria flutuante, porém não apresentando um padrão, visto que na área 1 foi possível encontrar diferentes tamanhos.

### **Referências**

Aranda, R., Tibcherani, M., Nacagava, V. A. F., Carvalho, S. S. & Souza, P. R. 2022. The role of urban savannah fragments and their characteristics for the conservation of ants (Hymenoptera: Formicidae) in central Brazil. *Community Ecology* 23: 115-127.

AntWeb. Version 8.106.1. California Academy of Science, online at <https://www.antweb.org>. Accessed April 2024.

Baccaro, F. B., Feitosa, R. M., Fernández, F., Fernandes, I. O., Izzo, T. J., Souza, J. D., & Solar, R. 2015. Guia para os gêneros de formigas do Brasil. Manaus: Editora INPA.

Belk, M. C., Black, H. L., Jorgensen, C. D., Hubbell, S. P., & Foster, R. B. 1989. Nest tree selectivity by the tropical ant, *Paraponera clavata*. *Biotropica*, 21:173-177.

Bennett, B., & Breed, M. D. 1985. The nesting biology, mating behavior, and foraging ecology of *Perdita opuntiae* (Hymenoptera: Andrenidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 58: 185-194.

Brady, S. G., Fisher B. L., Schultz T. R., & Ward P. S. 2014. The rise of army ants and their relatives: diversification of specialized predatory doryline ants. *BMC Evolutionary Biology* 14: 1-14.

Braga, R. F., Korasaki, V., Andresen, E., & Louzada, J. 2013. Dung beetle community and functions along a habitat-disturbance gradient in the Amazon: a rapid assessment of ecological functions associated to biodiversity. *PLoS One* 8:57786.

Breed, M. D., Fewell, J. H., Moore, A. J., & Williams, K. R. 1987. Graded recruitment in a ponerine ant. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 20: 407-411.

Harrison, J. F., Fewell, J. H., Stiller, T. M., & Breed, M. D. 1989. Effects of experience on use of orientation cues in the giant tropical ant. *Animal Behaviour*, 37:5, 869–871

Brusca, R. & Brusca, G. 2007. Invertebrados (Segunda Edição). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Borror, D. J., Triplehorn, C. H., & Johnson, N. F. 1989. An introduction to the study of the insects. Cidade?: Saunders College Publishing.

Costa, M., Mateus, R. P., & Moura, M. O. 2015. Constant fluctuating asymmetry but not directional asymmetry along the geographic distribution of *Drosophila antonietae* (Diptera, Drosophilidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 59, 337-342.

de Almeida, C. R., Monteiro, L. R., & Gaglianone, M. C. 2017. Efeitos da fragmentação florestal em populações de *Euglossa securigera* Dressler, 1982: evidências através da variação morfométrica e assimetria flutuante. Congresso Fluminense de Pós-Graduação-CONPG, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

DeFries, R., Hansen, A., Newton, A. C. & Hansen, M. C. 2005. Increasing isolation of protected areas in tropical forests over the past twenty years. *Ecological Applications* 15: 19-26.

- dos Reis, E. F., Pinto, N. S., Carvalho, F. G., & Juen, L. 2011. Efeito da integridade ambiental sobre a Assimetria Flutuante em *Erythrodiplax basalis* (Libellulidae: Odonata) (Kirby). *EntomoBrasilis*, 4: 103-107.
- Eisemann, C. H., Jorgensen, W. K., Merritt, D. J., Rice, M. J., Cribb, B. W., Webb, P. D., & Zalucki, M. P. 1984. Do insects feel pain? A biological view. *Experientia* 40: 164-167.
- Fahrig, L. 2003. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34: 487-515.
- Fox J, Weisberg S. 2019. *\_An R Companion to Applied Regression\_*, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA. <<https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>>.
- Fox J, Weisberg S, Price B. 2022. *\_carData: Companion to Applied Regression Data Sets\_*. R package version 3.0-5, <<https://CRAN.R-project.org/package=carData>>.
- Gravish, N.; Monaenkova, D.; Goodisman, M. A. D.; Goldman, D. I. 2013. Climbing, falling, and jamming during ant locomotion in confined environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110: 9746–9751.
- Gómez Gómez, B. J. 2024. Distribución y abundancia de la Paraponera clavata hormiga bala en la localidad de Loma Alta, provincia de Santa Elena (Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena. 2024).
- Grześ, I. M., Okrutniak, M., & Szpila, P. 2015. Fluctuating asymmetry of the yellow meadow ant along a metal-pollution gradient. *Pedobiologia*, 58(5-6): 195-200.
- Harrison, J. F., Fewell, J. H., Stiller, T. M., & Breed, M. D. 1989. Effects of experience on use of orientation cues in the giant tropical ant. *Animal Behaviour*, 37(5): 869–871.
- Heinze, J., Hölldobler, B., & Peters, C. 1994. Conflict and cooperation in ant societies. *Naturwissenschaften* 81: 489-497.
- Holló, G. 2015. A new paradigm for animal symmetry. *Interface Focus* 5:20150032.
- Holloway, G. J., Povey, S. R., & Sibly, R. M. (1990). The effect of new environment on adapted genetic architecture. *Heredity* 64: 323-330.
- Hothorn T, Hornik K, van de Wiel MA, Zeileis A. 2006. “A Lego system for conditional inference.” *The American Statistician* 60: 257-263.
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Brasileiro de 2022. Rio de Janeiro: IBGE, 2012.
- Keller, L., & Passera, L. 1993. Incest avoidance, fluctuating asymmetry, and the consequences of inbreeding in *Iridomyrmex humilis*, an ant with multiple queen colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 33: 191-199.

- Klingenberg, C. P., & McIntyre, G. S. 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution*, 52:1363-1375.
- Klingenberg, C. P., Barluenga, M., & Meyer, A. 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56:1909-1920.
- Klingenberg, C. P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353-357.
- Klingenberg, C. P. 2015. Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry* 7: 843-934.
- Korasako, V., Lopes, J., Brown, G. G. & Louzada, J. 2013. Using dung beetles to evaluate the effects of urbanization on Atlantic Forest biodiversity. *Insect Science* 20: 393-406.
- Lasalle, J. & Gauld, I. D. 1992. Parasitic Hymenoptera and the Biodiversity Crisis. *Redia* 74: 315-334.
- Lasalle, J. & Gauld, I. D. 1993. Hymenoptera and Biodiversity. CAB International. The Natural History Museum, Londres. 348.
- Leal, I. R. 2003. Dispersão de sementes por formigas na caatinga. Leal, I. R., Tabarelli, M., & da Silva, J. M. C. (Eds.) 2003. *Ecologia e conservação da Caatinga*. Recife: Editora Universitária UFPE. Pp. 593-624.
- Leary, R. F., & Allendorf, F. W. 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution* 4: 214-217.
- Lee, K. E., & Foster, R. C. 1991. Soil fauna and soil structure. *Australian Journal of Soil Research* 29: 745-775.
- Lessard, Jean-Philippe; Buddle, Christopher M. 2005. The effects of urbanization on ant assemblages (Hymenoptera: Formicidae) associated with the Molson Nature Reserve, Quebec. *The Canadian Entomologist*, 137(2), 215-225.
- McIntyre, N. E. 2000. Ecology of urban arthropods: a review and a call to action. *Annals of the Entomological Society of America* 93: 825-835.
- Melo, T. Da S. & Delabie, J. H. C. 2017. Ecologia e conservação da biodiversidade de formigas em ambientes urbanos. In: O.C.Bueno., A.E.C. Campos., & M.S.C. Morini, eds. *Formigas em ambientes urbanos no Brasil*. Bauru, Canal 6 Editora, pp. 189-240.
- Menke, S. B., Guénard, B., Sexton, J. O., Weiser, M. D., Dunn, R. R., & Silverman, J. 2011. Urban areas may serve as habitat and corridors for dry-adapted, heat tolerant species: an example from ants. *Urban Ecosystems* 14: 135-163.

- Møller, A. P. 1993. Developmental stability, sexual selection and speciation. *Journal of Evolutionary Biology* 6(4): 493-509.
- Møller, A.P. & Swaddle, J.P. 1997. *Asymmetry, developmental stability and evolution*. Oxford University Press, UK.
- Myers, N. 1988. Tropical forests and their species. Going, going...? . In Wilson, E. O. (ed.). *Biodiversity*. Washington, National Academic Press, pp. 28- 35.
- Nielsen, A. B., Van Den Bosch, M., Maruthaveeran, S., & van den Bosch, C. K. 2014. Species richness in urban parks and its drivers: A review of empirical evidence. *Urban Ecosystems* 17: 305-327.
- Nunes, L. A., Araújo, E. D. D., & Marchini, L. C. 2015. Fluctuating asymmetry in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) as bioindicator of anthropogenic environments. *Revista de Biologia Tropical* 63: 673-682.
- Oksanen J, Simpson G, Blanchet F, Kindt R, Legendre P, Minchin P, O'Hara R, Solymos P, Stevens M, Szoecs E, Wagner H, Barbour M, Bedward M, Bolker B, Borcard D, Carvalho G, Chirico M, De Caceres M, Durand S, Evangelista H, FitzJohn R, Friendly M, Furneaux B, Hannigan G, Hill M, Lahti L, McGlenn D, Ouellette M, Ribeiro Cunha E, Smith T, Stier A, Ter Braak C, Weedon J. 2022. *\_vegan: Community Ecology Package\_*. R package version 2.6-4, <<https://CRAN.R-project.org/package=vegan>>.
- Oliveira, A. A., Campos, A. E. C., & Harakava, R. 2017. Genetic diversity of urban *Camponotus* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) ants revealed by capture of alates and DNA sequencing. *Neotropical Entomology* 46: 499-506.
- Oliveira, R. F., Silva, R. R., Souza-Campana, D. R., Nakano, M. A., & Morini, M. S. C. 2015. Worker morphology of the ant *Gnamptogenys striatula* Mayr (Formicidae, Ectatomminae) in different landscapes from the Atlantic Forest domain. *Revista Brasileira de Entomologia*, 59: 21-27.
- Oster, G. F. & Wilson, E. O.. 1978. *Caste and ecology in the social insects*. Princeton University Press.
- Palmer, A. R. & Strobeck, C. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 391-421.
- Palmer, A.R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*. *Contemporary Issues in Genetics and Evolution*. 2: 335-364.
- Parsons, P. A. 1992. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. *Heredity* 68: 361-364.

- Pérez, R., Condit, R., & Lao, S. 1999. Distribución, mortalidad y asociación con plantas, de nidos de *Paraponera clavata* (Hymenoptera: Formicidae) en la isla de Barro Colorado, Panamá. *Revista de Biología Tropical* 47:697-709.
- Peeters, C. 2017. Independent colony foundation in *Paraponera clavata* (Hymenoptera, Formicidae): First workers lay trophic eggs to feed queen's larvae. *Sociobiology* 64: 417-422.
- Petchey, O. L., & Gaston, K. J. 2006 Functional diversity: back to basics and looking forward. *Ecology letters* 9: 741-758.
- R Core Team. 2023. *\_R: A Language and Environment for Statistical Computing\_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.
- Rabitsch, W. B. 1996. Metal accumulation in terrestrial pulmonates at a lead/zinc smelter site in Arnoldstein, Austria. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56:5.
- Rabitsch, W. B. 1997. Levels of asymmetry in *Formica pratensis* Retz. (Hymenoptera, Insecta) from a chronic metal-contaminated site. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 16: 1433-1440.
- Regeler, V., Boudinot, B. E., & Wöhrl, T. 2023. Go thou to the ant: A comparative biomechanical analysis of locomotion in Hymenoptera (Hexapoda). *bioRxiv*, 2023-02.
- Ribas, C. R., Solar, R. R. C., Campos, R. B. F., Schmidt, F. A., Valentim, C. L. & Shoereder, J. H. 2012. Can ants be used as indicators of environment impacts caused by arsenic? *Journal of Insect Conservation* 16: 413-421.
- Rodriguez, A., Fresneau, D., & Cabanesa, G. 2022. Characterization of an ant colony (*Paraponera clavata*) during rest and relocation phases: an experimentally induced protocol. *bioRxiv*, 2022-07.
- Rohlf, F. J. 2008. TPS Serie Sotwares, version 2.12, <http://lfe.bio.sunysb.edu/morph>.
- Rohlf, F. J. 2010. TPS Dig version 2.18 Ecology and Evolution. SUNY at Stony Brook, New.
- Samung, Y., Chaiphongpachara, T., Ruangsittichai, J., Sriwichai, P., Phayakkaphon, A., Jaitrong, W., Dujardin, J. P. & Sumruayphol, S. 2022. Species discrimination of three *Odontomachus* (Formicidae: Ponerinae) species in Thailand using outline morphometrics. *Insects* 13: 3-287.
- Sanseverino, A.M. & Nessimian, J.L. 2008. Fluctuating Asymmetry in Aquatic Organisms And Its Application To Evaluation Of Environmental Impacts. *Oecologia Brasiliensis* 12:1981-9366.
- Sarkar D. 2008. *\_Lattice: Multivariate Data Visualization with R\_*. Springer, New York. ISBN 978-0-387-75968-5, <<http://lmdvr.r-forge.r-project.org>>.
- Simpson G. 2022. *\_permute: Functions for Generating Restricted Permutations of Data\_*. R package version 0.9-7, <<https://CRAN.R-project.org/package=permute>>.

- Stuble, K. L., Chick, L. D., Rodriguez Cabal, M. A., Lessard, J. P., & Sanders, N. J. 2013. Fire ants are drivers of biodiversity loss: a reply to King and Tschinkel. *Ecological Entomology* 38:540-542.
- Therneau T. 2023. *\_A Package for Survival Analysis in R\_*. R package version 3.5-7, <<https://CRAN.R-project.org/package=survival>>.
- Tibcherani, M., Nacagava, V. A. F., Aranda, R., & Mello, R. L. 2018. Review of ants (Hymenoptera: Formicidae) as bioindicators in the Brazilian Savanna. *Sociobiology* 65: 112-129.
- Tibcherani, M., Aranda, R. & Mello, R. L. 2020. Time to go home: The temporal threshold in the regeneration of the ant community in the Brazilian savanna. *Applied Soil Ecology* 150: 103-451.
- Tschinkel, Walter R. 2013 "The morphometry of *Solenopsis* fire ants." *PloSOne* 8: 11.
- Via S & Lande R. 1985. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-522.
- Wickham H, François R, Henry L, Müller K, Vaughan D. 2023. *\_dplyr: A Grammar of Data Manipulation\_*. R package version 1.1.4, <<https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>>.
- William Revelle. 2023. *\_psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research\_*. Northwestern University, Evanston, Illinois. R package version 2.3.9, <<https://CRAN.R-project.org/package=psych>>.
- Williams NH and Whitten WM 1983. Orchid floral fragrance and male euglossine bee. *Methods and advances in the last sesquidecade. The Biological Bulletin* 164: 355-395.
- Wróblewska, A., Bhatia, M., Matthews-Brzozowska, T., & Polańska, A. 2020. Symmetry or face asymmetry, what is the condition—contemporary opinions of researchers. *Journal of Face Aesthetics* 3: 51-60.