



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ECOLOGIA E EVOLUÇÃO**



Nelson Silva Pinto

Como a proximidade de atividades agrícolas afeta libélulas? Efeitos sobre traços biológicos de *Hetaerina rosea*

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Damasco Daud

Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo De Marco Júnior

**GOIÂNIA-GO
FEVEREIRO - 2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ECOLOGIA E EVOLUÇÃO**

Nelson Silva Pinto

Como a proximidade de atividades agrícolas afeta libélulas? Efeitos sobre traços biológicos de *Hetaerina rosea*

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Damasco Daud

Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo De Marco Júnior

**Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Goiás, como parte das exigências do Programa
de Pós-Graduação de Ecologia e Evolução,
para obtenção do título de Mestre**

GOIÂNIA-GO

FEVEREIRO - 2013

Nelson Silva Pinto

Como a proximidade de atividades agrícolas afeta libélulas? Efeitos sobre traços biológicos de *Hetaerina rosea*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Ecologia e Evolução, para obtenção do título de Mestre

Aprovada:

Prof. Paulo E. P. Cardoso – UEFS

Prof. Dr. Rogério P. Bastos - UFG

Prof. Fausto Nomura – UFG

Prof^a. Dra. Francine Z. de Mendonça - UFG

Prof. Dr. Rodrigo Damasco Daud
(Orientador)

Prof. Dr. Paulo De Marco Júnior
(Co-orientador)

DEDICATÓRIA

Dedico à minha família (biológica e do TheMetaLand).

Por toda a compreensão nas ausências,
suporte nas horas difíceis e pelos sorrisos...

“É o álcool no pseudosangue.”

Fanny sobre Bernard (Admirável Mundo Novo).

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UFG, ao Instituto de Ciências Biológicas e toda a equipe do PPG em Ecologia e Evolução por todo o suporte dado desde a graduação e nos dois anos de mestrado. Agradeço à Fapeg e à CAPES pelo apoio financeiro, sem o qual eu não poderia me manter durante o período dedicado ao mestrado.

Primeiramente, gostaria de agradecer aos professores Adriana Rosa Carvalho e Ronaldo Angelini, casal exemplar, meus “pais” científicos, que lá na UEG guiaram meus primeiros passos. À professora Adriana um agradecimento especial, pois ela me apresentou ao professor Paulo De Marco lá pelos idos de 2006.

Já que estamos falando do Paulo De Marco, sim com esse “D” maiúsculo, chique... Sim, esse “D” declara toda sua nobreza, meu chefe. Você é a maior expressão que conheço do que é um Mestre! Sábio no ouvir e no falar. Você sabe inspirar o que há de melhor nas pessoas. Obrigado por ter me recebido no laboratório lá em 2008, e por ter me dado apoio irrestrito desde então. Obrigado por confiar em mim nesse tempo todo! Por comemorar a identificação de um *Erythrodiplax fusca*, como se fosse a coisa mais valiosa do mundo (se o leitor não sabe, eu explico: essa é uma das libélulas mais fáceis de ser identificadas, hehehe)! Ah... Só eu sei o quanto foram gratificantes todos os cafés, os sucos de laranja e principalmente os “Nerso”! Toda vez que olho para você me lembro de John Keating, o professor do filme Sociedade dos Poetas Mortos. Então, em tempo, queria deixar aqui o meu “Oh Capitão! Meu Capitão!”. Você sabe que estarei sempre às suas ordens.

Agradeço também ao Professor Rodrigo Daud, uma das pessoas mais inspiradoras que eu conheci! Obrigado por topar me orientar mesmo sem conhecer inicialmente o que é essa tal de assimetria flutuante! Olha, quantos papos em sua sala me colocaram nos eixos, me deixaram tranquilo! Participar de sua equipe, auxiliando nas aulas, no laboratório me ensinaram o quanto é importante a orientação. Obrigado por ter me dado “carta branca” e me permitir escrever do meu jeito torto... É claro que tenho que agradecer também as correções, hehehehe! Você é muito especial para mim, e eu queria agradecer por ser seu “Padawan”. Espero que eu tenha conseguido ser um bom aprendiz! Posso te dizer que a força está com você!!!

Quero agradecer também a todas as pessoas que passaram ou estão no nosso lab. Tantos nomes: Limnologia, Comunidade, TheMetaLand... Em especial agradeço ao Leandro Juen, pessoa excelente, foi sempre o irmão mais velho cuidando dos meus passos. Chefe, você é especial para mim! Agradeço demais também ao Thiago e à Karina, parceiros de ‘tramos’, papos sobre os mais variados temas, desde o preço dos pneus até o mais novo jogo do ps3. Ao Arthur por toda a atenção, o rock e as risadas. À Carol (cotó) por dividir comigo os momentos de angústia e aflição que só os estudantes sabem compreender. Agradeço a Mirian, pois sem ela eu não teria dissertação! Ao Daniel, grande amigo, valeu os altos papos e me permitir auxiliar nas orientações! Aos ‘meninos’ do lab: Klein, Filipe, Priscilla, Igor e Zander. Obrigado pela ajuda nas medições! Zander, um agradecimento especial a você, que tem sido meu braço direito e topado todos os projetos de pesquisa que foram e os que virão! Ah, e obrigado pelos seus tombos épicos e por todas as risadas (achou que eu ia aliviar, né?).

Aos membros da banca, que aceitaram o convite. Gostaria de agradecer muito ao Professor Fausto pelas conversas no corredor e por me dar atenção sempre! À Fran pelos papos, projetos, coletas e discussões sobre comportamento! Você é fera! Ao Paulo Enrique (Popito), por todos os papos no skype/gtalk/facebook... Por todas as nossas conversas sobre vídeo game, música e ciência. Prepare-se, agora não tem como deixar de me orientar, hein? Agradeço imensamente ao professor Rogério. Sua orientação desde a graduação são fundamentais. Você é uma pessoa muito especial para mim, sempre serei grato!

Gostaria também de agradecer à minha família. Nela eu incluo o José Hidasí Neto, meu amigo, irmão de outra mãe. Grande parceiro de risadas, trabalhos desde a primeira semana da graduação, papers... Sou seu fã! Ao meu papai e à minha mamãe, por terem me posto no mundo e cuidado de tudo. Acho que deu certo, hein? Aos meus irmãos, principalmente Vinícius por todo o companheirismo, as 'brejas', e os momentos de descontração! Amo vocês! À minha Kátia, por ser minha companheira ao longo desses quase 10 anos! Não tenho palavras para definir minha gratidão por tudo (lo che amo solo te). Amo você, minha baixinha. Ao meu filhão, meu lindão. Ser seu papai é a maior aventura de todas! Obrigado pela paciência, meu herói. Papai ama você!

Certa vez li na tese de doutoramento de um sábio que a definição de felicidade é "plantar morangos, aos sábados, no quintal de casa, com alguém que se ama...". Parafrazeando esse grande homem, minha definição de felicidade é dormir de conchinha, abraçando mulher e filho, ou seja, todo o meu mundo...

SUMÁRIO

| | |
|---|-----|
| DEDICATÓRIA | iv |
| AGRADECIMENTOS | vi |
| SUMÁRIO | ix |
| ABSTRACT | xii |
| INTRODUÇÃO | xiv |
| ÁREA DE ESTUDO | xix |
| ESPÉCIE MODELO | 22 |
| MÉTODO DE AMOSTRAGEM | 22 |
| INTEGRIDADE AMBIENTAL E PORCENTAGEM DE COBERTURA ANTRÓPICA .. | 23 |
| TRAÇOS MENSURADOS PARA DETERMINAR AF | 24 |
| INSTABILIDADE DO DESENVOLVIMENTO: ESTIMATIVAS DE TAMANHO, CARACTERES SEXUAIS E ASSIMETRIA FLUTUANTE (AF) | 26 |
| ANÁLISES ESTATÍSTICAS | 31 |
| RESULTADOS | 34 |
| DESCRIÇÃO GERAL | 34 |
| EFEITO DO ANO SOBRE O PESO, TAMANHO E AF | 34 |
| INSTABILIDADE DO DESENVOLVIMENTO: EFEITOS SOBRE PESO, TAMANHO E TAMANHO DA MANCHA | 35 |
| ERROS DE MEDIDA E PADRÕES DE ASSIMETRIA | 37 |
| EFEITO DA PROXIMIDADE DE AGRICULTURA SOBRE AF | 38 |
| EFEITO DA COBERTURA DE ÁREA ANTRÓPICA SOBRE PESO, TAMANHO E ÍNDICE COMPOSTO DE AF | 38 |
| DISCUSSÃO | 40 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 48 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 50 |
| APÊNDICE 1 | 63 |
| APÊNDICE 2 | 64 |

RESUMO

Em nosso estudo avaliamos como a proximidade de atividades agrícolas e a porcentagem de área com atividades antrópicas afetam o desenvolvimento de *Hetaerina rosea*. Os impactos de atividades humanas podem levar à instabilidade do desenvolvimento dos organismos muito antes de afetar variáveis populacionais. A compreensão de como estes efeitos são negativos para os indivíduos pode ser uma métrica poderosa e auxiliar na tomada de decisão com relação ao manejo de impactos. A medida mais comumente utilizada como para avaliar a instabilidade do desenvolvimento é a assimetria flutuante (AF). Embora diversos estudos ofereçam suporte ao uso de AF como indicador de estresses durante o desenvolvimento, outros questionam sua validade como ferramenta para bioindicação. Nossos resultados sugerem pouco suporte à AF. Entretanto, devemos considerar que o desenvolvimento é um processo integrado e que outros traços biológicos podem ser afetados durante o desenvolvimento. O peso é uma destas variáveis. Em nosso estudo, observamos que os indivíduos provenientes de ambientes próximos à atividades agrícolas apresentaram pesos menores. Esse resultado pode ser explicado pela influência de estresses durante o estágio larval, tais como, por exemplo, a presença de agroquímicos nos riachos onde se desenvolveram, maior competição dos machos adultos por territórios de reprodução ou menor quantidade/qualidade de alimento disponível nos riachos próximos à atividades agrícolas. Embora as hipóteses de estresse alimentar na fase larval ou na fase adulta não possam ser consideradas separadamente, elas podem prever que, em Odonata, o tamanho seria mantido, no entanto, o peso não, uma vez que estresses durante o estágio larval levam ao investimento de energia no

crescimento compensatório através de aumento do metabolismo. Nossos resultados podem ser interpretados de acordo com essa premissa uma vez que não observamos diferenças significativas entre o tamanho médio das asas. Desta maneira, sugerimos que para obter uma visão mais integrada de como estresses de origem antropogênica afetam o desenvolvimento de Odonata outras variáveis devem ser utilizadas além da AF, tais como o peso e o tamanho.

Palavras-chave: Instabilidade do desenvolvimento, Morfometria, Calopterygidae, Cerrado, Atividades antropogênicas, Estresse ambiental.

ABSTRACT

In our study, we evaluated the proximity of agricultural activities and the percentage of area with anthropogenic activities affect the development of *Hetaerina rosea*. The impacts of human activities may lead to instability of the development of organisms before they affect population variables. Understanding how these effects are negative for individuals can be a powerful metric and assist in decision making regarding the management of impacts. The most commonly used measure to assess how the developmental instability is fluctuating asymmetry (AF). Although several studies provide support for using AF as an indicator of stress during development, others have questioned its validity as a bioindication tool. Our findings suggest little support to AF. However, we must consider that development is an integrated process and other biological traits may be affected during development. Weight is one of these variables. In our study, we observed that individuals from environments near to agricultural activities had lower weights. This result can be explained by the influence of stresses during the larval stage, such as, for example, the presence of pesticides in streams, increased competition from adult males by breeding territories or lesser quantity/quality of food availability in streams nearby to agricultural activities. Although the hypothesis of food stress in the larval stage or adult stage cannot be considered separately, they may provide that, in Odonata, the size would be maintained in detriment of weight, since stresses during the larval stage lead to energy investment in compensatory growth through increased metabolism. Our results can be interpreted according to this premise since no significant differences between the average size of the wings. Thus, we suggest that for a more integrated view of how anthropogenic

stresses affect the development of Odonata other variables should be used in addition to AF, such as weight and size.

Key-words: Developmental instability, Morphometry, Calopterygidae, Cerrado, Antropogenic Activities, Environmental stress.

INTRODUÇÃO

A modificação de áreas naturais para atividades humanas, tais como a agricultura e pecuária, geralmente entra em conflito com a conservação da biodiversidade. A retirada de vegetação natural para que essas atividades possam ser desenvolvidas, modifica a estrutura hidrológica uma vez que aumenta a taxa de entrada de sedimentos, influenciando o pH, condutividade elétrica, concentração de nutrientes e a temperatura da água (Fernandes et al., 2014; Souza et al., 2013). O aumento da temperatura, por sua vez, diminui a concentração de oxigênio dissolvido, o que também pode reduzir o pH da água (Fernandes et al., 2014). Portanto, essas mudanças podem levar efeitos em cascata profundamente interligados, afetando a estrutura do sistema aquático como um todo (Dance and Hynes, 1980; Egler et al., 2012; Fernandes et al., 2014; Waite, 2013).

Considerando o avanço da agricultura e as mudanças de uso de solo que atualmente ocorrem no Brasil, é possível identificar duas fronteiras de alterações importantes (Luis Schiesari, com. pess.). A “fronteira do desmatamento” reflete as mudanças causadas pela conversão de florestas para áreas de pastagem, modificando a estrutura física do sistema. A “fronteira do agroquímico” relaciona-se à transição entre pastagem para agricultura intensiva (e.g. soja e cana-de-açúcar) e inclui o uso excessivo de agroquímicos (fertilizantes e agrotóxicos). A distinção entre essas duas fronteiras pode ajudar na identificação das principais classes de alterações ambientais que as espécies estão expostas atualmente e pode gerar novas previsões mais específicas sobre essas alterações. Por exemplo, mensurar os efeitos do baixo nível de contaminação de agroquímicos em riachos apresenta elevado custo

financeiro (Beketov, 2004; Egler et al., 2012), além da possibilidade de mascarar os efeitos negativos de agroquímicos através da atribuição errônea para outras variáveis mais facilmente identificadas nas análises químicas, tais como os níveis de nitrogênio e fósforo (Beketov et al., 2013).

O biomonitoramento é uma abordagem alternativa que pode ser utilizada para avaliar impactos ambientais (McGeoch and Chown, 1998; McGeoch, 1998). As vantagens no uso de bioindicadores incluem sua alta sensibilidade às mudanças de qualidade da água, inclusive a presença de agroquímicos. Um pressuposto ecológico do uso de bioindicadores é que os estresses podem afetar o desenvolvimento, com um efeito direto sobre as respostas dos indivíduos ao ambiente (Remsburg and Turner, 2009). Características como distribuição ampla e tempo de desenvolvimento relativamente longo, são importantes em um possível bioindicador. Os invertebrados aquáticos estão entre os organismos comumente utilizados como bioindicadores (McGeoch and Chown, 1998; McGeoch, 1998). Dentre os invertebrados aquáticos, Odonata é um dos organismos comumente utilizados em estudos de biomonitoramento. De acordo com Oertli (2008), a adequação de Odonata como bioindicador deve-se a muitas de suas características, tais como: (i) frequentes em praticamente todos os tipos de corpos de água doce; (ii) taxonomicamente bem resolvido e com ecologia e história de vida relativamente bem estudadas; e (iv) apresentam fase larval aquática e adulta terrestre, portanto podem refletir estresses em ambos os ambientes, além de serem sensíveis a alterações no meio físico. De acordo com estes argumentos, as libélulas podem ser ótimos indicadores, já existindo estudos que avaliaram os efeitos do avanço das

atividades agrícolas sobre estes organismos (Ferreira-Peruquetti and De Marco Jr, 2002; Pinto et al., 2012; Silva et al., 2010).

A instabilidade do desenvolvimento pode ser definida como a falta de capacidade de um organismo em resistir a estresses ambientais durante os estágios iniciais do desenvolvimento (Debat and David, 2001). Este processo pode ser uma boa métrica bioindicadora em função organismos que se desenvolvem sob estresses investem mais energia em sua sobrevivência, o que compromete a manutenção do desenvolvimento de maneira estável (Graham et al., 2010; Palmer, 1994; Van Valen, 1962). Dentre os métodos de bioindicação que utilizam Odonata como organismo modelo, aqueles baseados na instabilidade do desenvolvimento dos indivíduos vêm recebendo destaque (Chang et al., 2007; Clarke, 1995; Hardersen, 2000; Hardersen, 2000; Jinguji et al., 2012). Em libélulas, a instabilidade do desenvolvimento larval pode ser medida através de métricas obtidas nos adultos, uma vez que apresentam um ciclo de vida complexo (*i.e.* fase larval aquática e adulta terrestre) e por existirem mecanismos que acoplam respostas a estresses no desenvolvimento larval à fase adulta (Stoks and Córdoba-Aguilar, 2012; Strobbe and Stoks, 2004). Com isso, alguns traços biológicos afetados durante o estágio larval, como o peso corporal, podem ser observados nos adultos. As larvas de Odonata são predadoras (Corbet, 1999), e o comportamento de forrageio larval pode ser afetado negativamente por agroquímicos (Jinguji et al., 2012) e pela presença de seus predadores, inclusive de outras espécies de Odonata (McPeck et al., 2001).

As condições ambientais adversas nas quais as larvas se desenvolvem tais como falta de alimento (Campero et al., 2008a; Rolff et al., 2004),

exposição a agroquímicos (Campero et al., 2008b) e predação (Mikolajewski et al., 2008; Stoks et al., 2006b), podem afetar as vias de produção de melanina, que estão ligadas tanto a funções imunes quanto à formação de caracteres sexuais secundários nos adultos (Corbet, 1999). Desta forma, é possível que os estresses derivados de atividades agrícolas possam afetar negativamente as vias de metabolismo de melanina, o que levaria a machos mais susceptíveis a infecções e possivelmente com menor quantidade de melanina para formação de caracteres sexuais secundários (Cordoba-Aguilar and Cordero-Rivera, 2005; Stoks and Córdoba-Aguilar, 2012). O tamanho e a forma da asa podem afetar a capacidade de fugir de predadores, manobrar durante o voo, perseguir presas durante o voo (Hardersen et al., 1999; Hardersen, 2000; Samejima and Tsubaki, 2010). A temperatura (Hassall and Thompson, 2008) e os agroquímicos (Chang et al., 2007) podem afetar diretamente o desenvolvimento das asas. Ademais, o aumento na temperatura da água pode acelerar o desenvolvimento de Odonata, culminando em espécimes menores na fase adulta (Hassall and Thompson, 2008).

A assimetria flutuante (AF) é uma das métricas mais utilizadas para mensurar a instabilidade do desenvolvimento (Graham et al., 2010). A AF é definida como pequenos desvios de um modelo de simetria bilateral perfeita (Van Valen, 1962) O pressuposto biológico importante na AF é que o desenvolvimento de ambos os lados de estruturas com simetria bilateral é influenciado pelos mesmos genes. Portanto, as diferenças aleatórias entre os lados tem origem ambiental e refletem a incapacidade do organismo em manter o desenvolvimento próximo do ideal ($AF=D-E=0$). Ainda, elevados níveis de AF

indicam a presença de instabilidade do desenvolvimento (Beasley et al., 2013; Clarke, 1995; Graham et al., 2010; Palmer and Strobeck, 1986).

Vários trabalhos sugerem o uso de medidas de AF como bioindicadores de qualidade ambiental, uma vez que indivíduos que se desenvolveram em locais mais antropizados podem apresentar maiores níveis de AF (Chang et al., 2007; Lazić et al., 2013; Lens et al., 2002a; Polak et al., 2002). Por outro lado, não existe um consenso sobre o uso AF como uma medida universal de instabilidade do desenvolvimento, uma vez que existem estudos com resultados conflitados sobre seu potencial uso para inferir o efeito de impacto ambiental (Arambourou et al., 2012; Campero et al., 2008a; Floate and Fox, 2000; Lens et al., 2002a, 2002b; Rasmuson, 2002). Em uma meta-análise recente, Beasley et al. (2013) demonstraram que 36% da variação do efeito na AF pode ser atribuída a estresses ambientais de origem antropogênica, tanto para estudos observacionais quanto para estudos experimentais. Com isso, é necessário a realização de novos estudos para validar o uso das métricas de AF em programas de biomonitoramento de qualidade ambiental.

Uma premissa biológica da instabilidade do desenvolvimento é que os estresses ambientais afetam a morfologia dos indivíduos, que por sua vez está diretamente ligada à como estes indivíduos respondem a variáveis ambientais (Clarke, 1995; McGeoch and Chown, 1998). Como o desenvolvimento de um organismo é integrado e pode ser afetado negativamente por estresses ambientais ao longo de todo o processo, o objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que a proximidade de atividades agrícolas afeta a estabilidade do desenvolvimento de *Hetaerina rosea*, com efeitos negativos sobre medidas de peso, tamanho da asas e AF baseada em medidas obtidas nas asas.

MATERIAIS E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

Realizamos as coletas em áreas de Cerrado do Estado de Goiás, nos meses de março a junho de 2011 e 2012 (Tabela 1 e Figura 1). O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil e localiza-se no planalto central brasileiro, apresentando grande diversidade e endemismo de espécies (Klink e Machado 2005). O avanço de empreendimentos agropecuários nesta região (e.g. pastagens para criação de gado, soja, milho e cana-de-açúcar) tem seguido de maneira muito intensa, e grande parte das áreas naturais já foi convertida em áreas destinadas para algum tipo de atividade antrópica (Brooks et al., 2002; Klink and Machado, 2005; Sano et al., 2008).

Coletamos espécimes de *H. rosea* em 12 diferentes riachos localizados próximos de agricultura e em outros 12 distantes de atividades agrícolas. O tratamento “próximo de agricultura” foi definido como corpos d’água distanciados a menos de 1 km de qualquer atividade agrícola, enquanto que “longe de agricultura” foi definido como corpos d’água distanciados a mais de 1 km de qualquer atividade agrícola. A localização desses pontos foi feita sobre uma imagem de satélite Landsat classificada e a sua localização e distancia com atividades agrícolas validadas depois em campo.

Tabela 1. Relação dos pontos amostrados, sua classificação em relação ao tratamento, ano de coleta, e coordenadas geográficas

(W/S). PA: Próximo de atividades agrícolas; LA: Longe de atividades agrícolas.

| Município | Tratamento | Ano | Latitude (S) | Longitude (W) |
|----------------------------------|------------|------|--------------|---------------|
| Doverlândia | PA | 2012 | -16.65941 | -52.37702 |
| Doverlândia | LA | 2012 | -16.62268 | -52.34053 |
| Doverlândia | PA | 2012 | -16.65568 | -52.39538 |
| Luziânia | PA | 2011 | -16.10714 | -47.51767 |
| Luziânia | LA | 2011 | -16.10573 | -47.67756 |
| Niquelândia | LA | 2011 | -14.31789 | -48.61670 |
| Niquelândia | PA | 2011 | -14.29000 | -48.64306 |
| Niquelândia | PA | 2011 | -14.26528 | -48.61775 |
| Niquelândia | LA | 2011 | -14.39233 | -48.62458 |
| Pires do Rio/Santa Cruz de Goiás | LA | 2011 | -17.42192 | -48.40175 |
| Pires do Rio/Santa Cruz de Goiás | PA | 2011 | -17.29139 | -48.32472 |
| Pires do Rio/Santa Cruz de Goiás | PA | 2011 | -17.29736 | -48.42611 |
| Pontalina | PA | 2011 | -17.42594 | -49.35001 |
| Pontalina | LA | 2011 | -17.47641 | -49.43594 |
| Rubiataba | LA | 2012 | -15.06306 | -49.81056 |
| Rubiataba | LA | 2012 | -15.04839 | -49.80620 |
| Rubiataba | PA | 2012 | -15.05910 | -49.86217 |
| Rubiataba | PA | 2012 | -15.07789 | -49.83808 |
| Rubiataba | LA | 2012 | -15.03648 | -49.83063 |
| Rubiataba | PA | 2012 | -15.10365 | -49.80829 |
| Silvânia | LA | 2011 | -16.49801 | -48.49091 |
| Silvânia | LA | 2011 | -16.47183 | -48.46642 |
| Silvânia | PA | 2011 | -16.43553 | -48.47378 |
| Silvânia | LA | 2011 | -16.48122 | -48.47011 |

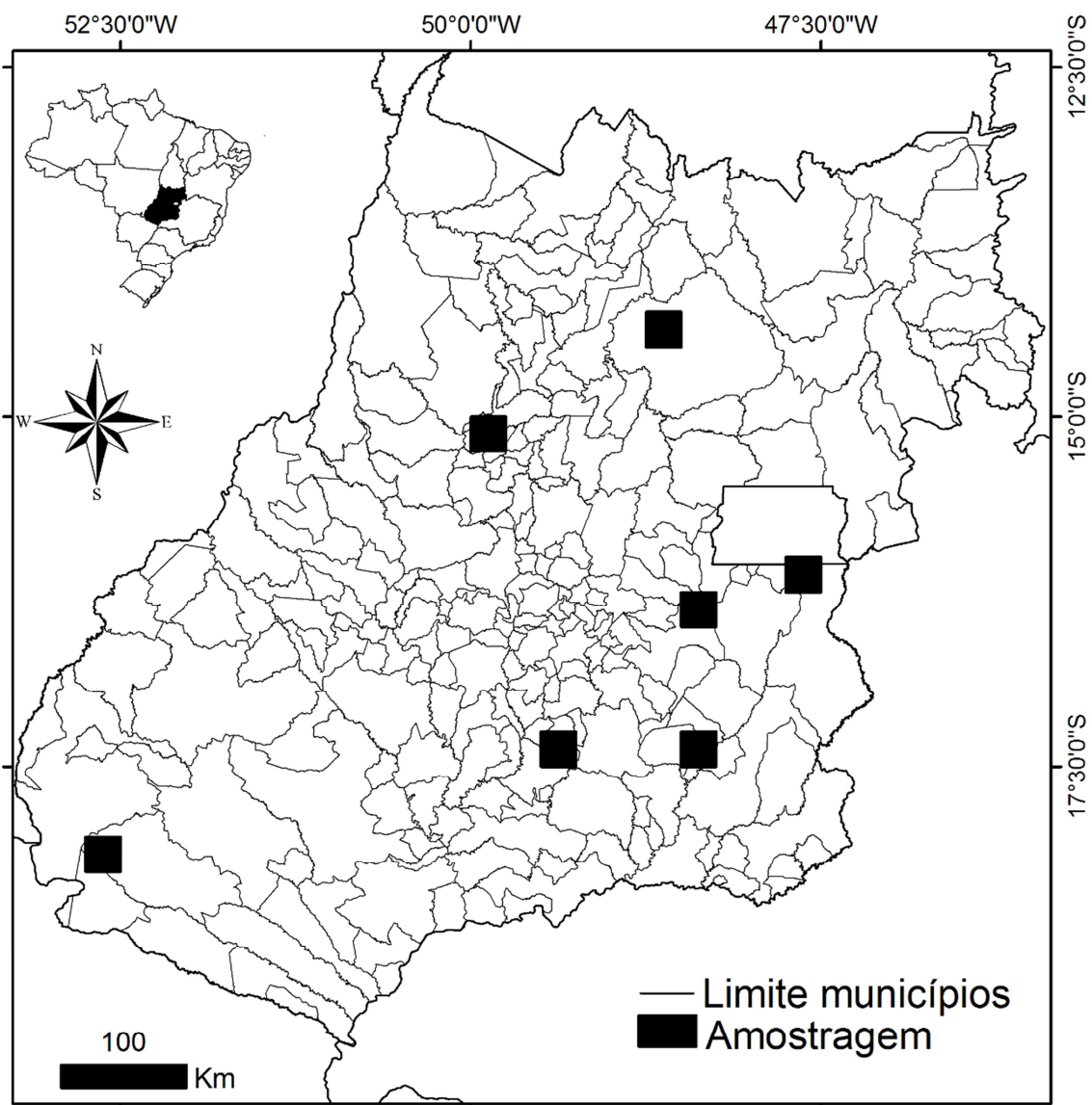


Figura 1. Quadrículas das regiões com os pontos de amostragem. Em cada quadrícula foram amostrados pontos de áreas próximas e longe de agricultura. Vide Tabela 1 para informações detalhadas sobre os pontos de coleta e sua classificação.

ESPÉCIE MODELO

Hetaerina rosea é uma espécie tropical associada a riachos (De Marco e Peixoto 2004) e com alta abundância em locais com mata ripária removida (Ferreira-peruquetti and De Marco Jr, 2002). Esta é uma espécie amplamente distribuída na América do Sul e no Brasil (Pessacq and Muzón, 2004) e a mais comum deste gênero no Cerrado (Carvalho et al., 2013; Guillermo-ferreira and Del-Claro, 2011; Peixoto and De Marco, 2009). Como a distribuição ampla e alta abundância são fatores importantes para um potencial bioindicador (McGeoch and Chown, 1998; McGeoch, 1998), *H. rosea* pode ser usada como organismo modelo. Outro fator importante é que a história natural de *H. rosea* é bem documentada em estudos populacionais (De Marco and Peixoto, 2004) e comportamentais (Guillermo-ferreira and Del-Claro, 2011; Peixoto and De Marco, 2009).

MÉTODO DE AMOSTRAGEM

Realizamos as amostragens sempre com uma temperatura mínima de 20°C a qual está associada a uma maior atividade de Odonata (De Marco e Resende 2002; May 1979), e entre às 10:00 e 15:00h, uma vez que após este horário a abundância de *H. rosea* decresce muito (De Marco and Peixoto, 2004). A amostragem foi baseada no método de varredura por áreas fixas (De Marco, 1998), comumente utilizado em estudos com Odonata (Calvão et al., 2013; Carvalho et al., 2013; Pinto et al., 2012). A amostragem consistiu em coletar todos os espécimes presentes em um transecto de 100 metros, dividido em segmentos de 5 metros, ao longo do riacho. O tempo médio de

permanência em cada ponto foi de 1 hora. Acondicionamos os espécimes coletados em envelopes de papel que, após as análises, foram depositados como material testemunho na Coleção do museu de Zoologia da Universidade Federal de Goiás. Para a confirmação da identificação em campo, utilizamos uma chave dicotômica (Lencioni, 2005), bem como comparamos com outros exemplares depositados na coleção.

INTEGRIDADE AMBIENTAL E PORCENTAGEM DE COBERTURA ANTRÓPICA

Avaliamos as características físicas dos riachos utilizando o protocolo de Nessimian et al. (*Habitat Integrity Index*, HII; 2008). Este protocolo é composto por doze questões que permitem avaliar as condições ambientais locais. As questões descrevem características como o padrão do uso de solo adjacente à vegetação marginal, largura da mata ciliar, estado de conservação da mata ciliar, descrição dos tipos de sedimentos e presença de dispositivos de retenção, presença de vegetação aquática, entre outras. Cada questão apresenta seis possíveis alternativas de resposta. Cada resposta representa um valor que é utilizado para obtermos o valor do índice. A média varia entre 0 e 1, sendo o ambiente mais conservado aquele com valor mais próximo de 1.

A caracterização das paisagens amostradas foi realizada baseada em uma análise multi-escala de áreas de influência (*buffers*) circulares delimitadas a partir da coordenada do transecto amostrado em cada riacho. Para cada um dos 24 córregos amostrados foram construídas áreas de influência circulares de raio de 100 metros. Os polígonos foram delimitados baseados na classificação de uso do solo realizada por inspeção visual das imagens

georreferenciadas do satélite LANDSAT TM 5 do ano de 2010, época da estação seca (Agosto), composição RGB 543. A escala de visualização para inspeção visual foi de 1: 25000. A classificação baseou-se em três classes: 1) Área natural abrangendo as vegetações ciliares, de galeria e formações de cerrado 2) Área de uso antrópico, como lavouras e pastagem e 3) Área com água exposta, abrangendo as represas. Os polígonos em formato *shape* foram transformados em arquivos no formato *raster*. A área total em hectares e a porcentagem de cada classe em relação as demais foram obtidas a partir do programa Fragstats versão 3.3 (McGarigal et al., 2002).

TRAÇOS MENSURADOS PARA DETERMINAR AF

Para a obtenção das imagens para medição, retiramos as asas dos espécimes, com auxílio de tesoura. Posteriormente, fixamos as asas, com auxílio de fita adesiva. Digitalizamos as asas assim montadas, em resolução de 1600 dpi. Para as medições, utilizamos o programa TPSDIG2 (Rohlf, 2006). De acordo com Palmer e Strobeck (2003) e Graham (2010) caso exista dependência da variância das medidas dos lados direito ou esquerdo com o tamanho do traço, a medida de AF refletirá um efeito misto de genótipo, ambiente e instabilidade do desenvolvimento, e não pode ser interpretada diretamente como uma medida de instabilidade do desenvolvimento. As asas foram escolhidas para a obtenção das medidas (Tabela 2; Fig. 2), pois geralmente as variáveis de AF não estão positivamente correlacionadas com o tamanho da estrutura. Isso permite que usemos os valores de AF diretamente, sem a necessidade de correção em relação ao tamanho. De acordo com Forbes et al. (1997), o erro de mensuração é baixo em variáveis obtidas das

medidas das asas, e não há correlação positiva entre variáveis mensuradas na asa e o tamanho da asa. Ainda, as variáveis obtidas na asa apresentam distribuição típica de AF, o que as torna medidas bem confiáveis para a estimativa de AF.

Tabela 2. Traços mensurados nas asas de *Hetaerina rosea* e as abreviaturas utilizadas.

| Traço da asa | Abreviatura |
|--|-------------|
| Distância da primeira antenodal até o nodus da asa posterior | M1 |
| Distância do nodus até a borda da asa posterior | M2 |
| Distância da primeira antenodal até a borda da asa posterior | M3 |
| Largura da asa na região do nodus posterior | M4 |
| Comprimento da mancha | M5 |
| Largura da mancha | M6 |
| Distância da primeira antenodal até o nodus da asa anterior | M7 |
| Distância do nodus até a borda da asa anterior | M8 |
| Distância da primeira antenodal até a borda da asa anterior | M9 |
| Largura da asa na região do nodus anterior | M10 |

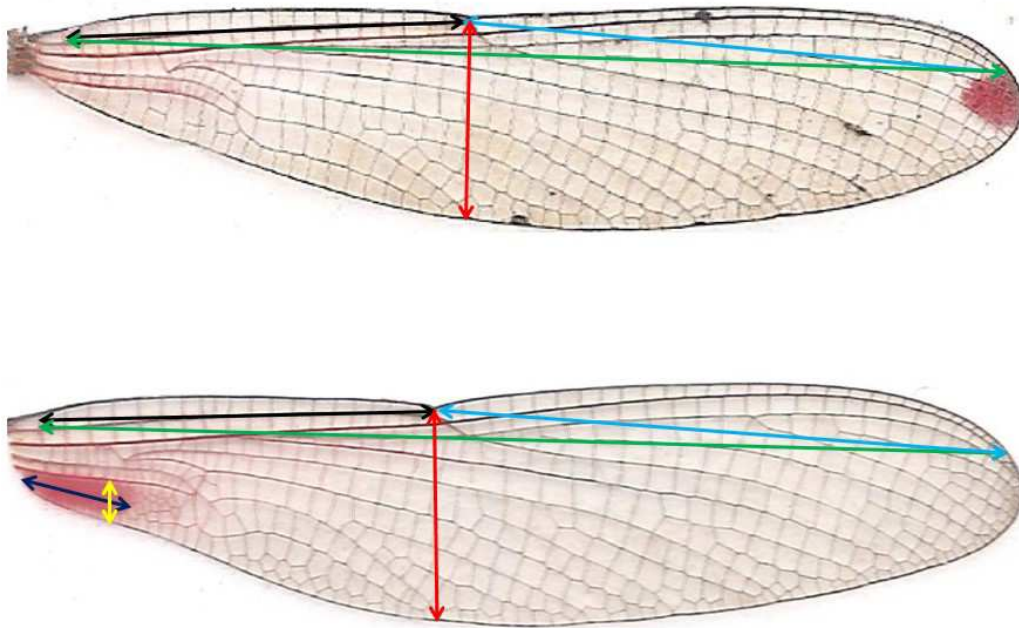


Figura 2. Asas anterior e posterior, exemplificando as variáveis coletadas. As medidas M1 (\leftrightarrow), M2 (\leftrightarrow), M3 (\leftrightarrow) e M4 (\leftrightarrow) foram coletadas em ambas as asas. As medidas M5 (\leftrightarrow) e M6 (\leftrightarrow) referem-se a caracteres sexuais. Todas as abreviações de acordo com a Tabela 2.

INSTABILIDADE DO DESENVOLVIMENTO: ESTIMATIVAS DE TAMANHO, CARACTERES SEXUAIS E ASSIMETRIA FLUTUANTE (AF)

O desenvolvimento ontogenético do organismo compreende uma relação complexa entre o desenvolvimento de diversas estruturas que podem ter tempo e ordem distintos (Beasley et al., 2013). Embora o desenvolvimento seja integrado em todo o organismo, é possível que em diferentes momentos do desenvolvimento, determinadas estruturas estejam em processo mais rápido de crescimento e modificação/diferenciação, com maior quantidade de

células em ativo processo de multiplicação. Neste período de maior desenvolvimento, podemos identificar “janelas de desenvolvimento” para esta estrutura (Hardersen, 2000). Isto sugere que diferentes partes do organismo podem ser afetadas por impactos localizados, dependendo do momento de desenvolvimento no qual ocorre. Por outro lado, alguns tipos de impacto persistentes podem afetar a maioria das estruturas envolvidas.

O tamanho é uma medida multivariada que pode ser aproximada pelo comprimento ou pelo peso. Como um traço de história de vida o tamanho pode estar ligado a vários componentes de aptidão individual (Chown and Gaston, 2010). Para animais com ciclo de vida complexo (como é o caso de Odonata), manter o tamanho corporal próximo do ideal é importante uma vez que larvas menores sofrerão com competição assimétrica por larvas maiores (McCauley et al., 2011) e/ou canibalismo (Mikolajewski et al., 2008). Neste cenário, a competição poderá diminuir a quantidade de alimento consumido, o que afetará não apenas o tamanho nos estágios subsequentes, como também as reservas de energia e capacidade imunológica, ou seja, atuaria como um efeito não letal com consequências sérias para a aptidão no estágio adulto. Outro aspecto a se considerar é que o tamanho em Odonata é fixado durante a metamorfose (Corbet, 1999). Após estes períodos de falta de alimentação as larvas apresentam uma fase de crescimento compensatório, no qual as reservas de energia são investidas no crescimento, e geralmente as larvas alcançam o mesmo tamanho que larvas que não sofreram estresses semelhantes (Stoks et al., 2006a).

Entretanto, o mecanismo relacionado ao crescimento compensatório afeta o metabolismo, acelerando-o (Corbet, 1999; Stoks and Córdoba-Aguilar,

2012). Este fenômeno permanece mesmo após a metamorfose (Strobbe and Stoks, 2004), o que sugere de que fatores estressantes durante a fase larval podem afetar a fase adulta: a manutenção do tamanho próximo ao ideal na metamorfose ao custo de peso menor no estágio adulto (Corbet, 1999; Stoks and Córdoba-Aguilar, 2012). Como variáveis para avaliar este efeito, utilizamos o tamanho médio da asa anterior $(D+E/2)$, e o peso seco do animal (balança de precisão de 0,0001g). Estas medidas nos oferecem uma compreensão de como o tamanho foi afetado no estágio larval, através do comprimento médio das asas, uma vez que a formação desta estrutura é fixado no ato da metamorfose. Permite também compreender como a fase adulta é afetada, mensurada através do peso.

Utilizamos o tamanho médio das máculas (média entre os lados direito e esquerdo) das asas posteriores de cada indivíduo nas análises de variação morfológica. As respostas imunológicas e a expressão de caracteres sexuais secundários em machos de libélulas acompanham a mesma via de metabolismo, uma vez que ambas são dependentes de melanina (Okamoto and Grether, 2013; Serrano-Meneses et al., 2007). As máculas alares são importantes no gênero *Hetaerina*, com uma relação existente entre o tamanho das máculas com a quantidade de melanina, indiretamente servindo como um indicador honesto de resistência a parasitas (Anderson and Grether, 2010; Córdoba-Aguilar and Cordero-Rivera, 2005). É possível que a baixa alimentação, causada pela falta de alimento ou presença de predadores (McCauley et al., 2011; McPeck et al., 2001; Stoks et al., 2006a), possa afetar também as vias metabólicas que levam à produção de melanina, gerando, ao

mesmo tempo indivíduos com máculas menores e com pequena capacidade imunológica.

Considerando a história evolutiva dos organismos, as atividades humanas criam novas condições que afetam diretamente o desenvolvimento do organismo e seu modo de vida (Clarke, 1995). De acordo com essa premissa, avaliamos como a proximidade de agricultura afeta a simetria bilateral dos indivíduos, através de medidas de assimetria flutuante (Van Valen, 1962). Para isso, agrupamos os indivíduos de cada tratamento e por ponto, para obter um tamanho amostral adequado (Lauck, 2006; Morris et al., 2012). Outros estudos que avaliaram AF utilizaram com sucesso o mesmo procedimento (Carchini et al., 2000; Sönke Hardersen, 2000; Lauck, 2006; Morris et al., 2012; Pinto et al., 2012; Schmeller et al., 2011). No total, mensuramos 10 traços métricos (Tab. 2) nas asas anteriores e posteriores de *H. rosea*.

Nesse estudo utilizamos dois índices: AF4 (Palmer 1994; Palmer and Strobeck 2003) e o índice composto de AF (Leung et al., 2000; Palmer and Strobeck, 2003; Palmer, 1994). O índice AF4 é diretamente obtido por meio da subtração do lado esquerdo em relação ao direito [AF= (D-L)]. Este índice fornece uma medida intuitiva e direta da assimetria, além de permitir avaliar a ausência de Antissimetria (AS) e Assimetria Direcional (AD), pré-requisitos neste tipo de estudo (Graham et al., 2010; Palmer, 1994). O segundo índice é um índice composto, que considera em conjunto todas as medidas obtidas para o indivíduo.

De acordo com Leung et al. (2000), medidas compostas de AF seriam mais efetivas, apresentando mais poder de resposta do que medidas de traços unitários ou quando comparados separadamente. Desta forma, além das

comparações entre os traços separadamente (o que oferece uma visão de como cada traço responde separadamente em relação ao estresse), calculamos um índice composto de AF, a partir das sugestões de Leung et al. (2000):

$$CFA_i = |FA_{ij}|/|FA_i|. \quad \text{Eq1.}$$

Neste índice, os valores absolutos são somados, dado que o valor de AF de um traço é dividido pela média de AF para o traço medido, o que permite que todos os traços sejam ponderados equitativamente (Leung et al., 2000).

Os valores de AF frequentemente são pequenos, portanto, em muitos casos, podem ser afetados diretamente pelos erros de medida (Graham et al., 2010; Palmer, 1994). Isto se deve ao fato de que os erros de mensuração frequentemente apresentam a mesma magnitude e distribuição dos valores observados para AF (Graham et al., 2010). Com o intuito de acessar os erros de medida, cada variável foi mensurada cinco vezes, por diferentes pessoas. Em todos os casos não houve referências ou comunicação entre os responsáveis pelas medidas. As medidas seguiram as seguintes orientações: da asa direita para a esquerda, e das asas posteriores para as anteriores. Para avaliar o erro de mensuração (ME), que determina a diferença entre as medidas como a porcentagem da diferença média entre os lados, seguimos o protocolo de Komac e Alados (2012):

$$ME = \frac{MS_m}{MS_{int}} \times 100 \quad \text{Eq.2}$$

onde MS_m refere-se aos quadrados médios do termo relativo ao erro, a partir dos resultados da ANOVA para dois fatores com modelo misto (lado como fator fixo e indivíduos como fator aleatório), MS_{int} refere-se aos quadrados médios do termo de interação (Lado X Indivíduo), apresentados na Tabela 3.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para avaliar se a classificação em perto e longe de atividades agrícolas captou a integridade ambiental (medida pelo HII), utilizamos um teste-t para amostras independentes (Zar, 1999), com o tratamento “próximo e longe de agricultura” como variável independente e o HII como variável resposta. O mesmo procedimento foi aplicado para avaliar o efeito do ano sobre a variação de peso, tamanho e AF.

Para avaliar o efeito da proximidade de agricultura sobre o peso e o tamanho e o tamanho da mancha alar, comparamos as médias de cada variável para ambos os tratamentos. Para estas análises utilizamos o teste-t para amostras independentes (Zar, 1999), com os tratamentos “próximo e longe de agricultura” como variável independente, e as médias para cada traço como variável dependente. Foram realizados testes independentemente para cada medida.

Para as análises de AF, seguimos as sugestões de Palmer (1994), Palmer e Strobeck (2003) e Graham et al. (2010). De acordo com estes autores, existem fatores que podem afetar as interpretações em estudos de assimetria: erros de mensuração, assimetria direcional, antissimetria, dependência do tamanho do traço. Graham et al. (2010) sugerem que, apesar de a ANOVA para dois fatores (modelo misto) ser comumente utilizada como uma ferramenta para analisar a presença dos três tipos de assimetria (i.e. AS, AD e AF), sua principal função está relacionada à análise dos fatores fixos, neste caso, refere-se ao fator ‘Lado’. Além disso, os quadrados médios podem ser utilizados para estimativas de erro de medida (Komac and Alados, 2012; Palmer and Strobeck, 2003). Portanto, neste estudo, a ANOVA (modelo misto)

foi utilizada para verificar a presença de assimetria direcional (através do fator 'Lado'), bem como para as estimativas de erros de medida.

Para avaliar a presença de Antissimetria, realizamos testes-t para verificar se as médias de AF distribuíam-se em torno da média zero. A Assimetria Direcional foi avaliada por meio de um teste de normalidade, Kolmogorov-Smirnov. Este teste é sugerido por Palmer (1994) por não ser tão sensível a um número baixo de categorias, o que resultaria em resultados do tipo "falso positivo", principalmente na presença de uma distribuição de dados leptocúrtica (Graham et al., 2010; Morris et al., 2012; Palmer and Strobeck, 2003). Ademais, os dados foram avaliados em relação à assimetria e curtose. Embora exista muita discussão sobre a validade da expectativa de uma distribuição normal (Babbitt et al., 2006) como distribuição padrão para AF, em nosso protocolo optamos por avaliar tal pressuposto, uma vez que ainda não há suporte inequívoco para excluí-lo (Graham et al., 2010).

A dependência do tamanho do traço medido pode obscurecer os índices de AF observados, e, conseqüentemente, afetar as decisões sobre a validade das análises (Graham et al., 2010; Palmer and Strobeck, 2003). Para avaliar a existência desse efeito, conduzimos correlações de Spearman entre os valores de AF e o tamanho médio da asa. A vantagem no uso da correlação de Spearman é a possibilidade de avaliar relações não-lineares que por acaso existam entre essas variáveis (Zar, 1999). Por fim, para avaliar o efeito da proximidade de atividades agrícolas sobre os níveis de AF, utilizamos testes-t (Zar, 1999), com o tratamento "próximo e longe de agricultura" como variável independente e o as medidas de AF do índice simples como variável resposta. Aplicamos o mesmo protocolo para o índice composto de AF.

Para avaliar o efeito da porcentagem de cobertura antrópica na estabilidade do desenvolvimento de *H. rosea* num raio de 100 metros, utilizamos regressões lineares simples (Zar, 1999). A variável independente corresponde à porcentagem de área antropizada e as variáveis dependentes foram: peso seco, tamanho, e as medidas de índice composto de AF.

RESULTADOS

DESCRIÇÃO GERAL

Coletamos um total de 192 espécimes de *Hetaerina rosea*. Destes 104 indivíduos foram provenientes de áreas próximas de agricultura e 88 de áreas longe de agricultura. As médias de HII variaram entre $\bar{x} = 0,438 \pm 0,032$ (média \pm I.C.; próximo de agricultura) e $\bar{x} = 0,542 \pm 0,057$ (longe de agricultura). As áreas próximas de atividades agrícolas apresentaram valores de HII menores do que o observado para áreas longe de agricultura ($t = -3,080$, $gl = 22$, $p < 0,006$). Este resultado corrobora nossa classificação e demonstra que os locais próximos a atividades agrícolas apresentam valores médios referentes aos índices de integridade física (HII) menores, indicando efeitos antrópicos mais intensos causados pela proximidade de atividades agrícolas.

EFEITO DO ANO SOBRE O PESO, TAMANHO E AF

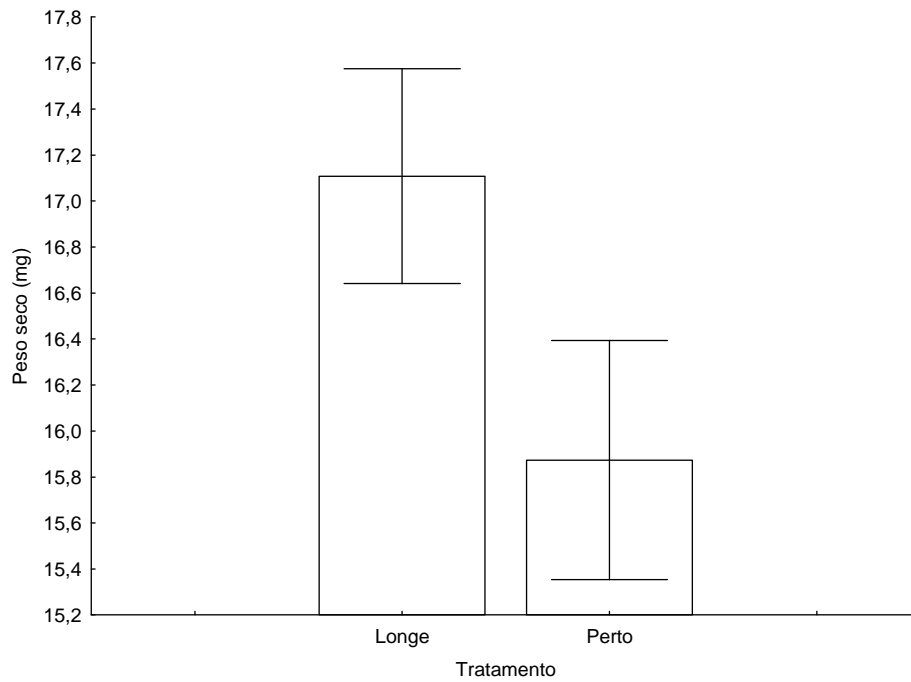
Não houve diferenças significativas entre as médias do peso seco ($t = 0,657$, $gl = 190$, $p = 0,512$) e do tamanho em função do ano de coleta ($t_{\text{var.sep.}} = -1,885$, $gl = 182$, $p = 0,061$) dos indivíduos de *H. rosea* em função do ano de coleta. Além disso, não observamos efeito do ano de amostragem sobre os valores de AF (D-E) [asa posterior: M1($t = -0,158$, $gl = 190$, $p = 0,875$), M2($t = 0,993$, $gl = 190$, $p = 0,322$), M3($t = -0,453$, $gl = 190$, $p = 0,651$), M4($t = -1,077$, $gl = 190$, $p = 0,283$), M5($t = 0,924$, $gl = 190$, $p = 0,357$), M6($t = 0,208$, $gl = 190$, $p = 0,836$); asa anterior: M1($t = -0,309$, $gl = 190$, $p = 0,757$), M2($t = -1,777$, $gl = 190$, $p = 0,078$), M3($t = -0,246$, $gl = 190$, $p = 0,806$), M4($t = 0,820$, $gl = 190$, $p = 0,413$)]. Estes resultados permitem excluir o ano de coleta como um fator que poderia

influenciar nas diferenças entre as médias observadas para o peso seco, tamanho e AF entre os diferentes tratamentos.

INSTABILIDADE DO DESENVOLVIMENTO: EFEITOS SOBRE PESO, TAMANHO E TAMANHO DA MANCHA

O peso seco de *H. rosea* foi afetado negativamente pela proximidade das atividades agrícolas ($t=-3,454$, $gl=190$, $p<0,001$). Os espécimes de áreas distantes das atividades agrícolas são, em média, 1,235mg mais pesados do que os coletados em áreas próximas destas atividades (Fig. 3A). Entretanto, o tamanho corpóreo ($t=-1,441$, $gl =190$, $p=0,151$) e o tamanho da mancha ($t=-1,938$, $gl =190$, $p=0,054$) de *H. rosea* não foram afetados pela proximidade das atividades agrícolas.

A)



B)

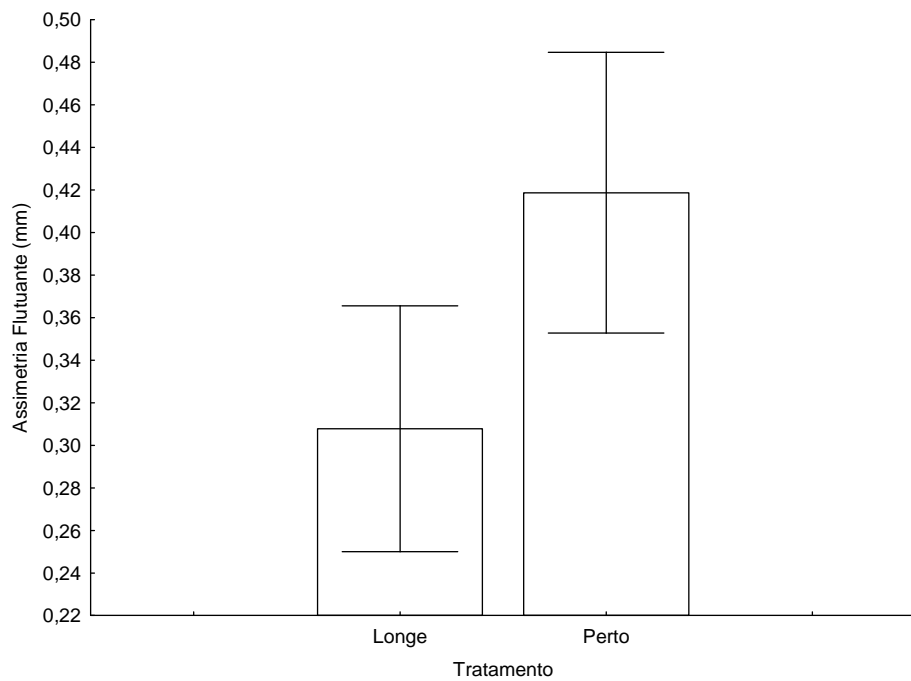


Figura 3. Efeito da proximidade de atividades agrícolas sobre: A) o peso seco e B) AF da medida M7 de *H. rosea*. As barras representam um intervalo de confiança de 95%. M7: Distância da primeira antenodal até o nodus da asa anterior.

ERROS DE MEDIDA E PADRÕES DE ASSIMETRIA

Os erros de medida observados para todos os traços foram menores do que 5% (M1= 2,66%, M2= 2,32%, M3= 1,75%, M4= 3,79, M5= 2,63%, M6= 1,45%, M7= 2,32%, M8= 1,85%, M9= 2,04%; M10= 3,32%; para as abreviaturas, consultar a Tabela 2). Valores baixos de erros de medida indicam que os possíveis desvios do modelo de simetria bilateral perfeita podem ser atribuídos a outros fatores e não a erros derivados do processo de mensuração.

De acordo com os resultados observados, a significância para o termo de interação (lados x indivíduos) em todos os traços, sugere que a assimetria não direcional (*i.e.* AS e AF) pode ser distinguida dos erros de medida (Apêndice 1). O resultado não significativo para todos os traços em relação ao termo lado exclui a presença de AD (Apêndice 1). Assim, os valores de assimetria obtidos não foram inflados por componentes de assimetria direcional e também não há indicativos de que componentes genéticos sejam responsáveis pela variação observada entre os lados. Ademais, verificamos a ocorrência de AD e AS separadamente para cada tratamento (Apêndice 2). Os dados não apresentaram desvios dos pressupostos, uma vez que estão distribuídos simetricamente em torno da média zero, portanto, isso exclui antissimetria e assimetria direcional como possíveis explicações. Para todos os dados não há evidências de assimetria (nenhum valor maior que 1 ou menor que -1) e platicurtose (Apêndice 1), embora apenas para algumas variáveis (M3, M6 e M9) a distribuição não seja leptocúrtica. Não há evidências de dependência entre os valores obtidos para os traços e o tamanho da asa [asa posterior: M1($r=0,004$, $p=0,961$), M2($r=0,122$, $p=0,091$), M3($r=-0,001$, $p=0,999$),

M4($r=0,096$, $p=0,188$), M5($r=-0,083$, $p=0,252$), M6($r=-0,081$, $p=0,264$); asa anterior: M1($r=-0,043$, $p=0,554$), M2($r=0,073$, $p=0,317$), M3($r=0,023$, $p=0,747$), M4($r=0,117$, $p=0,107$).

EFEITO DA PROXIMIDADE DE AGRICULTURA SOBRE AF

Apenas a medida M7 (Distância da primeira antenodal até o nodus da asa anterior) apresentou diferenças significativas entre os níveis de AF entre os tratamentos (Tabela 5). Para esta variável, os indivíduos provenientes do tratamento “perto de agricultura” são, em média, 0,111mm mais assimétricos do que os indivíduos provenientes do tratamento “longe de agricultura” (Fig. 3B), o que reflete um maior nível de estresse no desenvolvimento desse traço. Entretanto, não observamos diferenças significativas ($t=-0,635$, $gl=190$, $p=0,526$) quando avaliamos a existência de diferenças significativas entre as médias do índice composto de AF.

EFEITO DA COBERTURA DE ÁREA ANTRÓPICA SOBRE PESO, TAMANHO E ÍNDICE COMPOSTO DE AF

A porcentagem de cobertura antrópica, no raio de 100 metros, não afetou significativamente o peso ($R^2<0,001$; $p=0,982$), tamanho ($R^2<0,001$; $p=0,966$) e a AF ($R^2=0,077$; $p=0,189$) dos indivíduos de *H. rosea*.

Tabela 5. Valores de AF obtidos para os tratamentos próximo e longe de agricultura. $N_{PA}=104$ e $N_{LA}=88$. Valores em negrito com * indicam teste significativo ao nível de significância de $p=0,05$. Para abreviaturas confira a Tabela 2.

| Traço | AF média | | Teste -t | |
|-------|--------------|--------------|----------------|---------------|
| | Longe | Próximo | t | p |
| M1 | 0,110 | 0,108 | 0,078 | 0,938 |
| M2 | 0,132 | 0,135 | -0,192 | 0,848 |
| M3 | 0,105 | 0,086 | 1,660 | 0,099 |
| M4 | 0,052 | 0,045 | 1,018 | 0,310 |
| M5 | 0,148 | 0,116 | 1,919 | 0,057 |
| M6 | 0,035 | 0,036 | -0,265 | 0,791 |
| M7 | 0,308 | 0,419 | -2,468* | 0,014* |
| M8 | 0,118 | 0,137 | -1,101 | 0,272 |
| M9 | 0,086 | 0,091 | -0,455 | 0,650 |
| M10 | 0,048 | 0,054 | -1,067 | 0,287 |

DISCUSSÃO

A proximidade com atividades agrícolas afetou os traços biológicos de *H. rosea* de forma heterogênea. O peso foi menor em áreas diretamente afetadas por atividades agrícolas. Não houve efeito significativo do ano de coleta sobre o peso, portanto podemos assumir que as diferenças observadas estão ligadas a características do ambiente e não ao período de coleta. Entretanto, o tamanho não foi afetado pela proximidade da agricultura, o que sugere certa independência nas respostas biológicas de peso e tamanho. O tamanho da mácula alar também não foi afetado. Para os traços utilizados para estimar a instabilidade do desenvolvimento, medida através de AF (traços mensurados separadamente e índice composto), observamos que apenas a medida M7 (distância da primeira antenodal até o nodus da asa anterior) variou significativamente entre os tratamentos. Não observamos efeitos significativos da porcentagem de área antrópica num raio de 100 metros sobre o peso, tamanho e AF. Isto sugere que a porcentagem de área antrópica talvez não seja tão importante quanto a proximidade de atividades agrícolas.

Um mecanismo simples para explicar nossos resultados é que as mudanças no uso do solo relativas à agricultura afetam diretamente a competição por locais de reprodução dos adultos de *H. rosea*. Muitas áreas destinadas à agricultura no Cerrado sofrem retirada da mata ciliar. Essa modificação cria aberturas em áreas próximas aos corpos d'água, permitindo entrada de mais indivíduos (Dolný et al., 2012; Ferreira-peruquetti and De Marco Jr, 2002) que poderia levar a uma competição mais intensa entre machos por sítios de reprodução. Em Calopterygidae as disputas territoriais são determinadas por confrontos entre os residentes e intrusos em disputas

que podem demorar até 2 horas (Cordoba-Aguilar and Cordero-Rivera, 2005) sendo vencidas na maioria das vezes por indivíduos mais pesados (Rantala and Suhonen, 2009). Portanto, podemos esperar que a presença de muitos competidores leve a elevados gastos das reservas de gordura dos machos residentes nas áreas próximas de atividades agrícolas, o que explicaria machos territoriais com menor peso nesses locais.

Serrano-Meneses et al. (2007) demonstraram que machos territoriais de *H. americana* (Odonata: Calopterygidae) tem uma maior proporção de reservas de gordura corporal do que machos não territoriais e que há uma grande perda destas reservas durante as disputas, que dificilmente serão repostas após as disputas. Peixoto e De Marco (2009) observaram que o peso não determina o comportamento territorial, e que machos com pesos menores podem se comportar como territoriais em *H. rosea*. Se considerarmos esses argumentos, podemos sugerir que machos de diferentes pesos ocupam os territórios de acasalamento, mas que um maior número de disputas pode afetar o peso dos machos territoriais, diminuindo-o. Assim, nossos resultados indicam que essa relação seria mais intensa em áreas com maior retirada de mata nativa, tal como observado nas áreas próximas de atividades agrícolas, mas seria menos intensa nas áreas distantes destas atividades.

Outra explicação para os nossos resultados é que há menor disponibilidade de alimento em locais próximos de agricultura. Há uma grande perda de habitat e de conectividade entre diferentes pontos nestes locais e isto diminui tanto a abundância quanto a diversidade de insetos (Collinge, 2000). Como Odonata é um predador (Corbet, 1999), a diminuição na disponibilidade de insetos menores e que serviriam de alimento, pode levar a redução do peso

nos adultos. É possível considerar também que nestas áreas existe o uso de agrotóxicos e que podem ter um negativo sobre o desenvolvimento e aumentar o risco de mortalidade de organismos que não são o alvo de pesticidas (Amarante et al., 2002). Assumindo o uso de pesticidas nas áreas, podemos esperar um efeito tanto sobre o desenvolvimento de Odonata (Chang et al., 2007; Sonke Hardersen, 2000), quanto sobre outros organismos utilizados como alimento por Odonata (Beketov, 2004; Beketov et al., 2013). Assim, tanto o metabolismo poderia ser afetado quanto a disponibilidade de alimento, e isto levaria a redução do peso corpóreo (Stoks and Córdoba-Aguilar, 2012). Como o escopo deste trabalho não foi mensurar a contaminação por agrotóxicos e os efeitos da proximidade de atividades agrícolas sobre a abundância e diversidade de outros organismos, esta hipótese deve ser considerada com cautela.

Tanto a proximidade de atividades agrícolas quanto a porcentagem de cobertura antrópica não afetaram o tamanho de *H. rosea*. Existe a possibilidade de que as larvas de *H. rosea* aloquem energia para manter o tamanho corporal próximo ao ideal no período de metamorfose em detrimento de sua biomassa, assim como em outras espécies de Odonata (Dmitriew and Rowe, 2005). Segundo Stoks e Córdoba-Aguilar (2012). O mecanismo fisiológico relacionado ao investimento no tamanho deve-se ao fato de que este traço é fixado durante a metamorfose, ao passo que o peso poderia ser aumentado após este evento. Embora seja um efeito bem documentado na literatura (Sokolovska and Locke, 2000), esta é uma relação ainda controversa, e é possível que a nossa compreensão de todos os mecanismos ligados à seleção de um maior tamanho em Odonata ainda esteja longe de um consenso (Thompson and Fincke, 2002).

Por exemplo, em estudo recente, Pinto et al. (2012) demonstraram que o tamanho de *Argia tinctipennis* é afetado negativamente pela retirada de mata ripária em riachos de Cerrado. Stoks et al. (2006) demonstraram, através dos níveis de consumo de oxigênio e gastos energéticos, que o crescimento compensatório em larvas de *Lestes viridis* está diretamente ligado a uma taxa metabólica maior e um pequeno investimento em armazenar energia, resultando em adultos com tamanhos semelhantes, porém com pesos diferentes. Ainda, Stoks et al. (2006) observaram que este pequeno investimento no acúmulo de reservas é refletido no estágio adulto, ou seja, embora alcancem tamanhos próximos do ideal, o peso e a posterior capacidade de estocar energia são afetados negativamente por estresses durante o desenvolvimento larval.

Em *H. rosea*, o tamanho da mácula alar é um traço importante na comunicação entre machos, e aqueles com maior mácula vencem mais disputas por territórios de acasalamento (Guillermo-ferreira and Del-Claro, 2011). Este pode ser um mecanismo ligado a sinalização da qualidade imunológica dos machos, uma vez que tanto as vias de produção das máculas quanto as de respostas imunológicas são ligadas à produção de melanina (Cordoba-Aguilar and Cordero-Rivera, 2005). Em nosso estudo observamos que a proximidade de agricultura não afeta o tamanho destas máculas. Entretanto, esse resultado deve ser visto com reserva, uma vez que se este traço é importante para a comunicação entre estes insetos, e aqueles que forem mais severamente afetados podem não ser capazes de manter territórios (Guillermo-ferreira and Del-Claro, 2011).

Dentre as dez medidas selecionadas para avaliar os efeitos da proximidade de agricultura sobre a AF, apenas a distância da primeira antenodal até o nodus da asa anterior (M7) variou significativamente entre os indivíduos amostrados nas áreas próximas e longe de agricultura. Uma vez que variáveis populacionais de *H. rosea* não são negativamente afetadas por alterações antrópicas, tais como a retirada de mata próximas aos riachos (Ferreira-peruquetti and De Marco, 2002), é possível que esta espécie também apresente mecanismos de tamponamento para estresses durante o desenvolvimento larval. A canalização do desenvolvimento é um processo genético que ‘corrige’ falhas causadas por estresses ambientais ao longo do desenvolvimento, de forma que o padrão fenotípico observado ao final do desenvolvimento seja próximo do ideal (Debat and David, 2001). Este mecanismo pode ser considerado adaptativo no contexto de seleção estabilizadora (Debat and David, 2001). Considerando este mecanismo, podemos supor que existe uma pressão muito forte com relação à manutenção de baixos níveis de AF nas asas de *H. rosea*, uma vez que estas estruturas estão relacionadas não só ao voo, mas também com a comunicação com machos e fêmeas. Isto pode explicar por que não observamos diferenças significativas na maioria dos traços alares não sexuais e sexuais.

Outro possível mecanismo é a metamorfose. Esta é uma fase considerada estressante para Odonata que pode desconectar o estágio larval do adulto (Corbet, 1999). Em um experimento controlado, Campero et al. (2008) demonstraram que mesmo em tratamentos com altos níveis de estresse por pesticidas ou falta de alimento, a metamorfose é um processo capaz de corrigir a ligação entre altos níveis de AF no estágio larval e o observado na

fase adulta. Sua explicação para este fato foi de que a metamorfose é um evento suficientemente robusto para desacoplar a fase larval da adulta, garantindo um ajuste ao ambiente na qual o adulto viverá. Campero et al. (2008) sugerem que parte dos resultados de estudos com Odonata que não obtiveram resultados significativos podem ser explicados por esta hipótese do estresse na metamorfose.

Uma distinção entre insetos holometábolos, onde há uma intensa transformação durante a fase de pupa e em hemimetábolos, onde essa transformação é mais gradual (e.g. asas; Corbet, 1999), pode ajudar a compreender a variação de resultados de estudos de AF em insetos (citações). No caso de hemimetábolos, os adultos poderiam ser usados para acessar estresses durante a fase larval. Por exemplo, a AF nos adultos de moscas (holometábolos) não reflete diversos estresses durante a fase larval, dentre eles: falta de alimentação (Bjorksten et al., 2000) e pesticidas (Da Silva et al., 2004; Floate and Fox, 2000), o que sugere um efeito da metamorfose como mecanismo que corrige a instabilidade do desenvolvimento no estágio larval. Entretanto, muitos estudos experimentais com Odonata (hemimetábolos) indicam que diferentes estresses durante a fase larval levam a maiores índices de AF na fase adulta, por exemplo, pesticidas (Chang et al., 2007; Hardersen et al., 1999; Sonke Hardersen, 2000), falta de alimento e presença de predadores (Stoks, 2001), retirada da mata ripária (Pinto et al., 2012). Isso sugere que, apesar dos resultados de Campero et al. (2008), seria esperado um efeito pequeno da metamorfose em Odonata, demandando estudos mais detalhados para validar esse efeito.

Uma hipótese alternativa para explicarmos a ausência de diferenças na maioria das métricas usadas para medir AF dos indivíduos entre os tratamentos é a hipótese da seleção do desenvolvimento (Moller, 1997). Esta hipótese sugere que existe uma eliminação não-aleatória durante o desenvolvimento, e que isto interfere diretamente frequência de um traço morfológico em estágios subsequentes do ciclo de vida (Moller 1997). O pressuposto importante aqui é a mortalidade diferencial de organismos que apresentam fortes desvios de estabilidade no desenvolvimento de caracteres sexuais, em função de uma forte seleção sexual. Em um estudo recente, Polak e Tomkins (2013) demonstraram diretamente a ocorrência de seleção do desenvolvimento em *Drosophila bipectinata*. Os autores expuseram experimentalmente as larvas a temperaturas elevadas e após retirar os machos que morreram de seus casulos, compararam os níveis de AF de traços sexuais com os daqueles que alcançaram a idade adulta. Polak e Tomkins (2013) sugeriram que se estes indivíduos estivessem vivos a pressão de seleção sexual sobre eles seria intensificada para reduzir a instabilidade do desenvolvimento. Dessa forma, estudos baseados apenas em adultos podem subestimar a força de seleção sobre um traço biológico e, assim como nossos resultados, devem ser tratados com cautela.

Em nosso estudo, utilizamos dois índices de AF, o que nos permitiu avaliar tanto como o estresse afeta cada medida como também obter uma visão sobre como todo o desenvolvimento alar foi afetado. Quando utilizamos o índice simples para compararmos as médias de AF para os tratamentos, observamos que existe efeito da proximidade de atividades agrícolas apenas para a medida M7. O uso de um índice composto, ou seja, a um índice que

combina dados de vários traços permite obter uma visão geral sobre como o estresse pode ter afetado o desenvolvimento de uma estrutura como um todo (Leung et al., 2000). Entretanto, devido à necessidade de padronizar os valores de AF para oferecer pesos iguais para os diferentes traços, podemos observar distribuições fortemente leptocúrticas (Graham et al., 2010). Como um dos pressupostos de AF é a distribuição normal das diferenças entre os lados, o uso de um índice composto pode criar um 'falso' negativo quando verificarmos o pressuposto de normalidade da distribuição (Palmer and Strobeck, 2003). Outro ponto importante é que o uso de um índice simples fornece uma visão de como cada variável pode ter sido afetada por um dado estresse. Se considerarmos que cada estrutura se forma a intervalos diferentes, e que os estresses podem ser intensos porém intermitentes, utilizar índices simples para diversos traços da mesma estrutura pode oferecer a vantagem adicional de analisar de forma dinâmica, o efeito de um dado estresse ambiental em cada variável separadamente (Lauck, 2006).

Os resultados do HII corroboraram a classificação em perto e longe de atividades agrícolas. Este índice foi originalmente desenvolvido para mensurar efeitos antrópicos e classificar o ambiente em igarapés amazônicos (Nessimian et al., 2008), e também tem sido aplicado com sucesso em riachos no Cerrado (Carvalho et al., 2013; Dias-Silva et al., 2010; Nogueira et al., 2011; Pinto et al., 2012). O HII é um descritor físico que permite sintetizar e classificar a qualidade ambiental de riachos e regiões vizinhas (até 50 metros), o que oferece uma análise tanto local quanto ao nível de paisagem (embora em pequena escala). O seu uso permite compreender o uso de solo e como mudanças físicas ocorrem ao longo do corpo d'água. Dessa forma, o uso deste

índice fornece uma ferramenta complementar que agrega poder de classificação aos dados obtidos para possíveis bioindicadores, por exemplo, quando relacionados a atividades antrópicas (Carvalho et al., 2013; Dias-Silva et al., 2010; Oliveira Junior et al., 2013).

Entretanto, o HII fornece uma visão puramente física do ambiente, ou seja, é uma métrica capaz de indicar alterações decorrentes do uso do solo, mas não é capaz de identificar diretamente a presença de compostos na água decorrentes de atividades agrícolas, tais como agrotóxicos ou fertilizantes, e que poderiam ter efeito no desenvolvimento das libélulas. Por outro lado, medidas de traços biológicos podem nos oferecer uma visão de como os impactos ambientais afetam diretamente a biodiversidade e como os efeitos se acumulam ao longo do desenvolvimento dos organismos (Beasley et al., 2013; Hardersen and Frampton, 2003; Hardersen et al., 1999; Sönke Hardersen, 2000; Komac and Alados, 2012; Stoks and Córdoba-Aguilar, 2012). Isto permite avaliar os efeitos das alterações ambientais decorrentes de atividades agrícolas e como isso pode afetar os organismos (Dmitriew and Rowe, 2005).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo demonstramos que a proximidade de atividades agrícolas e a porcentagem de cobertura antrópica tem efeitos heterogêneos sobre o desenvolvimento de *Hetaerina rosea*. Os padrões observados indicam que apenas o peso e um traço utilizado para estimar a AF variaram significativamente entre os tratamentos. Tradicionalmente a AF tem sido sugerida como o melhor traço morfológico para avaliar a instabilidade do desenvolvimento dos organismos bilatérios (Van Dongen, 2006). Sugerimos

que a AF não é um bom indicador de instabilidade do desenvolvimento para *H. rosea*. Este resultado deve ser interpretado com cautela, uma vez que a compreensão dos mecanismos que podem tamponar os estresses nos estágios larvais de organismos com ciclo de vida complexo ainda não são bem compreendidos. Serão necessários mais estudos para avaliar os efeitos da metamorfose como mecanismo de tamponamento da AF em Odonata, dessa forma, pode-se avaliar se a falta de resultados significativos está relacionada a uma fase de desenvolvimento do organismo.

Alguns trabalhos têm sugerido que o uso de um índice composto de AF seria mais robusto para averiguar os efeitos de impactos ambientais. Entretanto, nossos resultados não corroboram esta sugestão. Como observamos efeitos significativos apenas através do índice simples de AF, sugerimos que o seu uso deve ser considerado, dado que permite avaliar como cada traço foi afetado de modo independente. Desta forma, a partir dos resultados observados, sugerimos a utilização de outras medidas relacionadas ao desenvolvimento, tal como o peso, para avaliar como o desenvolvimento do organismo é afetado. Isto permite uma compreensão mais ampla de como a estabilidade do desenvolvimento foi afetada ao longo de todo o processo. Além de medidas de traços biológicos, a utilização de um índice de qualidade física do ambiente (e.g. HII) funciona como ferramenta complementar que auxilia na robustez da interpretação de impactos, o que permite uma visão quantitativa integrada dos impactos de atividades antrópicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amarante, O.P.J., Santos, T.C.R., Brito, N.M., Ribeiro, M.L., 2002. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Quim. Nova* 25, 589–593.
- Anderson, C.N., Grether, G.F., 2010. Character displacement in the fighting colours of *Hetaerina* damselflies. *Proceedings. Biol. Sci.* 277, 3669–75.
- Arambourou, H., Beisel, J.-N., Branchu, P., Debat, V., 2012. Patterns of fluctuating asymmetry and shape variation in *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) exposed to nonylphenol or lead. *PLoS One* 7, e48844.
- Babbitt, G.A., Kiltie, R., Bolker, B., 2006. Are fluctuating asymmetry studies adequately sampled? Implications of a new model for size distribution. *Am. Nat.* 167, 230–45.
- Beasley, D.A.E., Bonisoli-Alquati, A., Mousseau, T.A., 2013. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: A meta-analysis. *Ecol. Indic.* 30, 218–226.
- Beketov, M. a., 2004. Comparative Sensitivity to the Insecticides Deltamethrin and Esfenvalerate of Some Aquatic Insect Larvae (Ephemeroptera and Odonata) and *Daphnia magna*. *Russ. J. Ecol.* 35, 229–234.
- Beketov, M. a., Kefford, B.J., Schafer, R.B., Liess, M., 2013. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 11039–11043.
- Bjorksten, T., David, P., Pomiankowski, A., Fowler, K., 2000. Fluctuating asymmetry of sexual and nonsexual traits in stalk-eyed flies: a poor

indicator of developmental stress and genetic quality. *J. Evol. Biol.* 13, 89–97.

Brooks, T.M., Mittermeier, R. a., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G. a. B., Rylands, A.B., Konstant, W.R., Flick, P., Pilgrim, J., Oldfield, S., Magin, G., Hilton-Taylor, C., 2002. Habitat Loss and Extinction in the Hotspots of Biodiversity. *Conserv. Biol.* 16, 909–923.

C.A., K., A.G., M., 2002. Past and current human occupation, and land use, in: Oliveira, P.S., Marquis, R.J. (Eds.), *The Cerrados of Brazil*. Columbia University Press, New York, pp. 69–88.

Calvão, L., Vital, M.V., Juen, L., Lima-Filho, G.F., Oliveira-Júnior, J.M.B., Silva-Pinto, N., De Marco, P., 2013. Thermoregulation and microhabitat choice in *Erythrodiplax latimaculata* Ris males (Anisoptera: Libellulidae). *Odonatologica* 42, 97–108.

Campero, M., De Block, M., Ollevier, F., Stoks, R., 2008a. Metamorphosis offsets the link between larval stress, adult asymmetry and individual quality. *Funct. Ecol.* 22, 271–277.

Campero, M., De Block, M., Ollevier, F., Stoks, R., 2008b. Correcting the short-term effect of food deprivation in a damselfly: mechanisms and costs. *J. Anim. Ecol.* 77, 66–73.

Carchini, G., Chiarotti, F., Di Domenico M, Paganotti, G., 2000. Fluctuating asymmetry, size and mating success in males of *Ischnura elegans* (Vander Linden) (Odonata: Coenagrionidae). *Anim. Behav.* 59, 177–182.

- Carvalho, F.G. De, Pinto, N.S., Oliveira-Júnior, J.M.B., Juen, L., 2013. Effects of marginal vegetation removal on Odonata communities. *Acta Limnol. Bras.* 25, 10–18.
- Carvalho, F.M. V, De Marco Júnior, P., Ferreira, L.G., 2009. The Cerrado into-pieces: Habitat fragmentation as a function of landscape use in the savannas of central Brazil. *Biol. Conserv.* 142, 1392–1403.
- Chang, X., Zhai, B., Liu, X., Wang, M., 2007. Effects of temperature stress and pesticide exposure on fluctuating asymmetry and mortality of *Copera annulata* (Selys) (Odonata: Zygoptera) larvae. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 67, 120–7.
- Chown, S.L., Gaston, K.J., 2010. Body size variation in insects: a macroecological perspective. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 85, 139–69.
- Clarke, G.M., 1995. Relationships Between Developmental Stability and Fitness: Application for Conservation Biology. *Conserv. Biol.* 9, 18–24.
- Collinge, S.K., 2000. Effects of grassland fragmentation on insect species loss, colonization, and movement patterns. *Ecology* 81, 2211–2226.
- Corbet, P.S., 1999. *Dragonflies*. Cornell University Press, New York.
- Cordoba-Aguilar, A., Cordero-Rivera, A., 2005. Evolution and ecology of Calopterygidae (Zygoptera: Odonata): status of knowledge and research perspectives. *Neotrop. Entomol.* 34, 861–879.

- Da Silva, J.J., Mendes, J., Lômonaco, C., 2004. Developmental Stress by Diflubenzuron in *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). *Neotrop. Entomol.* 33, 249–253.
- Dance, K.W., Hynes, H.B.N., 1980. Some effects of agricultural land use on stream insect communities. *Environ. Pollut.* 22, 19–28.
- De Marco, P., 1998. The Amazonian Campina dragonfly assemblage: Patterns in microhabitat use and behaviour in a foraging habitat (Anisoptera). *Odonatologica* 27, 239–248.
- De Marco, P., Peixoto, P.E.C., 2004. Population dynamics of *Hetaerina rosea* Selys and its relationship to abiotic conditions (Zygoptera: Calopterygidae). *Odonatologica* 33, 73–81.
- De Marco, P., Resende, D.C., 2002. Activity patterns and thermoregulation in a tropical dragonfly assemblage. *Odonatologica* 31, 129–138.
- Debat, V., David, P., 2001. Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. *Trends Ecol. Evol.* 16, 555–561.
- Dias-Silva, K., Cabette, H.S.R., Juen, L., Jr, P.D.M., 2010. The influence of habitat integrity and physical-chemical water variables on the structure of aquatic and semi-aquatic Heteroptera. *Zool. (Curitiba, Impresso)* 27, 918–930.
- Dmitriew, C., Rowe, L., 2005. Resource limitation, predation risk and compensatory growth in a damselfly. *Oecologia* 142, 150–154.

- Dolný, A., Harabiš, F., Bárta, D., Lhota, S., Drozd, P., 2012. Aquatic insects indicate terrestrial habitat degradation: changes in taxonomical structure and functional diversity of dragonflies in tropical rainforest of East Kalimantan. *Trop. Zool.* 25, 141–157.
- Egler, M., Buss, D.F., Moreira, J.C., Baptista, D.F., 2012. Influence of agricultural land-use and pesticides on benthic macroinvertebrate assemblages in an agricultural river basin in southeast Brazil. *Brazilian J. Biol.* 72, 437–43.
- Fernandes, J., Souza, A.L.T., Tanaka, M.O., 2014. Can the structure of a riparian forest remnant influence stream water quality? A tropical case study. *Hydrobiologia* 724, 175–185.
- Ferreira-peruquetti, P.S., De Marco Jr, P., 2002. Efeito da alteração ambiental sobre comunidades de Odonata em riachos de Mata Atlântica de Minas Gerais, Brasil. *Revta Bras. Zool.* 19, 317 – 327.
- Floate, K.D., Fox, A.S., 2000. Flies under stress: a test of fluctuating asymmetry as a biomonitor of environmental quality. *Ecol. Appl.* 10, 1541–1550.
- Forbes, M., Leung, B., Schalk, G., 1997. Fluctuating asymmetry in *Coenagrion resolutum* (Hagen) in relation to age and male pairing success (Zygoptera: Coenagrionidae). *Odonatologica* 26, 9–16.
- Graham, J.H., Raz, S., Hel-Or, H., Nevo, E., 2010. Fluctuating Asymmetry: Methods, Theory, and Applications. *Symmetry (Basel)*. 2, 466–540.

- Guillermo-ferreira, R., Del-Claro, K., 2011. Resource defense polygyny by *Hetaerina rosea* Selys (Odonata: Calopterygidae): Influence of age and wing pigmentation. *Neotrop. Entomol.* 40, 78–84.
- Hardersen, S., 2000. Effects of carbaryl exposure on the last larval instar of *Xanthocnemis zealandica* - fluctuating asymmetry and adult emergence. *Entomol. Exp. Appl.* 96, 221–230.
- Hardersen, S., 2000. The role of behavioural ecology of damselflies in the use of fluctuating asymmetry as a bioindicator of water pollution. *Ecol. Entomol.* 25, 45–53.
- Hardersen, S., Frampton, C., 2003. The influence of differential survival on the distribution of fluctuating asymmetry—a modelling approach. *J. Theor. Biol.* 224, 479–482.
- Hardersen, S., Wratten, S.D., Frampton, C.M., 1999. Does carbaryl increase fluctuating asymmetry in damselflies under field conditions? A mesocosm experiment with *Xanthocnemis zealandica* (Odonata: Zygoptera). *J. Appl. Ecol.* 36, 534–543.
- Hassall, C., Thompson, D.J., 2008. The effects of environmental warming on Odonata: a review. *Int. J. Odonatol.* 11, 131–153.
- Jinguji, H., Thuyet, D.Q., Uéda, T., Watanabe, H., 2012. Effect of imidacloprid and fipronil pesticide application on *Sympetrum infuscatum* (Libellulidae: Odonata) larvae and adults. *Paddy Water Environ.* 11, 277–284.

- Klink, C.A., Machado, R.B., 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conserv. Biol.* 19, 707–713.
- Komac, B., Alados, C.L., 2012. Fluctuating asymmetry and *Echinospartum horridum* fitness components. *Ecol. Indic.* 18, 252–258.
- Lauck, B., 2006. Fluctuating asymmetry of the frog *Crinia signifera* in response to logging. *Wildl. Res.* 33, 313–320.
- Lazić, M.M., Kaliontzopoulou, A., Carretero, M. a., Crnobrnja-Isailović, J., 2013. Lizards from urban areas are more asymmetric: using fluctuating asymmetry to evaluate environmental disturbance. *PLoS One* 8, e84190.
- Lencioni, F.A.A., 2005. Damselflies of Brazil, an illustrated identification guide: I - The non-Coenagrionidae families. All Print Editora, São Paulo, Brazil.
- Lens, L., Dongen, S. Van, Matthysen, E., 2002a. Fluctuating Asymmetry as an Early Warning System in the Critically Endangered Taita Thrush. *Conserv. Biol.* 16, 479–487.
- Lens, L., Van Dongen, S., Kark, S., Matthysen, E., 2002b. Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? *Biol. Rev.* 77, 27–38.
- Leung, B., Forbes, M.R., Houle, D., 2000. Fluctuating Asymmetry as a Bioindicator of Stress: Comparing Efficacy of Analyses Involving Multiple Traits. *Am. Nat.* 155, 101–115.
- May, M.L., 1979. Insect Thermoregulation. *Annu. Rev. Entomol.* 24, 313–349.

McCauley, S.J., Rowe, L., Fortin, M.-J., 2011. The deadly effects of “nonlethal” predators. *Ecology* 92, 2043–2048.

McGarigal, K., Cushman, S.A., Neel, M.C., Ene, E., 2002. FRAGSTATS: Spatial Pattern Analysis Program for Categorical Maps. Computer software program produced by the authors at the University of Massachusetts, Amherst. Available at the following web site: <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats>.

McGeoch, M.A., 1998. The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. *Biol. Rev.* 73, 181–201.

McGeoch, M.A., Chown, S.L., 1998. Scaling up the value of bioindicators. *Trends Ecol. Evol.* 13, 46–47.

McPeck, M.A., Grace, M., Richardson, J.M.L., 2001. Physiological and behavioral responses to predators shape the growth/predation risk trade-off in damselfies. *Ecology* 82, 1535–1545.

Mikolajewski, D.J., Stoks, R., Rolff, J., Joop, G., 2008. Predators and cannibals modulate sex-specific plasticity in life-history and immune traits. *Funct. Ecol.* 22, 071107024542001–???

Moller, A.P., 1997. Developmental selection against developmentally unstable offspring and sexual selection. *J. Theor. Biol.* 185, 415–422.

Morris, M.R., Rios-Cardenas, O., Lyons, S.M., Scarlett Tudor, M., Bono, L.M., 2012. Fluctuating asymmetry indicates the optimization of growth rate over developmental stability. *Funct. Ecol.* 26, 723–731.

- Nessimian, J.L., Venticinque, E.M., Zuanon, J., Marco, P., Gordo, M., Fidelis, L., D'arc Batista, J., Juen, L., 2008. Land use, habitat integrity, and aquatic insect assemblages in Central Amazonian streams. *Hydrobiologia* 614, 117–131.
- Nogueira, D.S., Soares, H., Cabette, R., Juen, L., 2011. Estrutura e composição da comunidade de Trichoptera (Insecta) de rios e áreas alagadas da bacia do rio Suiá-Miçú, Mato Grosso, Brasil. *Iheringia, Série Zool.* 101, 173–180.
- Oertli, B., 2008. The use of dragonflies in the assessment and monitoring of aquatic habitats, in: Córdoba-Aguilar, A. (Ed.), *Dragonflies & Damselflies. Model Organisms for Ecological and Evolutionary Research*. Oxford University Press, pp. 79–95.
- Okamoto, K.W., Grether, G.F., 2013. The evolution of species recognition in competitive and mating contexts: the relative efficacy of alternative mechanisms of character displacement. *Ecol. Lett.* 16, 670–8.
- Oliveira Junior, J.M.B., Cabette, H.S.R., Silva Pinto, N., Juen, L., 2013. As Variações na Comunidade de Odonata (Insecta) em Córregos Podem ser Preditas pelo Paradoxo do Plâncton? Explicando a Riqueza de Espécies Pela Variabilidade Ambiental. *EntomoBrasilis* 6, 01–08.
- Palmer, A.R., 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer, in: Markow, T.A. (Ed.), *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*. Kluwer Academic Publishers, pp. 335–364.

- Palmer, A.R., Strobeck, C., 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17, 391–421.
- Palmer, A.R., Strobeck, C., 2003. Fluctuating Asymmetry Analyses Revisited, in: Polak, M. (Ed.), *Developmental Instability (DI): Causes and Consequences*. Oxford University Press, pp. 279–319.
- Peixoto, P.E.C., De Marco, P., 2009. No size or density effect on alternative mate-locating tactics in the tropical damselfly *Hetaerina rosea* males (Odonata: Calopterygidae). *Rev. Biol. Trop.* 57, 361–70.
- Pessacq, P., Muzón, J., 2004. Description of the Final Stadium Larva of *Hetaerina rosea* Selys (Zygoptera: Calopterygidae). *Stud. Neotrop. Fauna Environ.* vol. 39, 239–242.
- Pinto, N.S., Juen, L., Cabette, H.S.R., De Marco, P., 2012. Fluctuating Asymmetry and Wing Size of *Argia tinctipennis* Selys (Zygoptera: Coenagrionidae) in Relation to Riparian Forest Preservation Status. *Neotrop. Entomol.* 41, 178–85.
- Polak, M., Opoka, R., Cartwright, I.L., 2002. Response of fluctuating asymmetry to arsenic toxicity: support for the developmental selection hypothesis. *Environ. Pollut.* 118, 19–28.
- Polak, M., Tomkins, J.L., 2013. Developmental selection against developmental instability: a direct demonstration. *Biol. Lett.* 9, 01–05.

- Rantala, M.J., Suhonen, J., 2009. Wandering males are smaller than territorial males in the damselfly *Calopteryx virgo* (L.) (Zygoptera: Calopterygidae). *Odonatologica* 38, 159–165.
- Rasmuson, M., 2002. Fluctuating asymmetry-indicator of what? *Hereditas* 136, 177–83.
- Remsburg, A.J., Turner, M.G., 2009. Aquatic and terrestrial drivers of dragonfly (Odonata) assemblages within and among north-temperate lakes. *J. North Am. Benthol. Soc.* 28, 44–56.
- Rohlf, F.J., 2006. TPSDIG2:Digitalizing software.
- Rolff, J., Van de Meutter, F., Stoks, R., 2004. Time constraints decouple age and size at maturity and physiological traits. *Am. Nat.* 164, 559–565.
- Samejima, Y., Tsubaki, Y., 2010. Body temperature and body size affect flight performance in a damselfly. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 64, 685–692.
- Sano, E.E., Rosa, R., Brito, J.L.S., Ferreira, L.G., 2008. Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. *Pesq. agropec. bras.* 43, 153–156.
- Schmeller, D.S., Dolek, M., Geyer, A., Settele, J., Brandl, R., 2011. The effect of conservation efforts on morphological asymmetry in a butterfly population. *J. Nat. Conserv.* 19, 161–165.

- Serrano-Meneses, M., Córdoba-Aguilar, A., Mendez, V., Layen, S., Szekely, T., 2007. Sexual size dimorphism in the American rubyspot: male body size predicts male competition and mating success. *Anim. Behav.* 73, 987–997.
- Silva, D.P., Marco, P. De, Resende, D.C., 2010. Adult odonate abundance and community assemblage measures as indicators of stream ecological integrity: A case study. *Ecol. Indic.* 10, 744–752.
- Sokolovska, N., Locke, R., 2000. Fitness and body size in mature odonates. *Ecol. Entomol.* 25, 239–248.
- Souza, A.L.T. De, Fonseca, D.G., Libório, R. a., Tanaka, M.O., 2013. Influence of riparian vegetation and forest structure on the water quality of rural low-order streams in SE Brazil. *For. Ecol. Manage.* 298, 12–18.
- Stoks, R., 2001. Food stress and predator-induced stress shape developmental performance in a damselfly. *Oecologia* 127, 222–229.
- Stoks, R., Córdoba-Aguilar, A., 2012. Evolutionary ecology of Odonata: a complex life cycle perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 57, 249–65.
- Stoks, R., De Block, M., McPeck, M. a, 2006a. Physiological costs of compensatory growth in a damselfly. *Ecology* 87, 1566–74.
- Stoks, R., De Block, M., Slos, S., Van Doorslaer, W., Roolf, J., 2006b. Time constraints mediate predator-induced plasticity in immune function, condition, and life history. *Ecology* 87, 809–815.

- Strobbe, F., Stoks, R., 2004. Life history reaction norms to time constraints in a damselfly: differential effects on size and mass. *Biol. J. Linn. Soc.* 83, 187–196.
- Szallassy, N., Bardosi, E., Szabo, Z.D., Szep, T., Devai, G., 2003. Fluctuating asymmetry, survival and mating success in male *libellula fulva* Muller (Anisoptera : Libellulidae). *Odonatologica* 32, 143–151.
- Thompson, D.J., Fincke, O.M., 2002. Body size and fitness in Odonata, stabilising selection and a meta-analysis too far? *Ecol. Entomol.* 27, 378–384.
- Van Dongen, S., 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *J. Evol. Biol.* 19, 1727–1743.
- Van Valen, L., 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* (N. Y). 16, 125–142.
- Waite, I.R., 2013. Agricultural disturbance response models for invertebrate and algal metrics from streams at two spatial scales within the U.S. *Hydrobiologia* 726, 285–303.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical analysis*. Englewood Cliffs, N.J.

APÊNDICE 1

Tabela 3: Resultados da Anova para dois fatores de modelo misto (fator fixo: lado; aleatório: indivíduos). Para abreviaturas confira a Tab. 2.

| Traço | <i>n</i> | Fonte de variação | QM | GI | F | p |
|-------|----------|-------------------|-------|--------|--------|--------|
| M1 | 192 | Lado | 0,323 | 1 | 1,230 | 0,269 |
| | | Indivíduo | 2,943 | 191 | 11,200 | <0,001 |
| | | Lado X Indivíduo | 0,263 | 1, 191 | 36,260 | <0,001 |
| | | Erro | 0,007 | 1536 | | |
| M2 | 192 | Lado | 0,034 | 1 | 0,300 | 0,606 |
| | | Indivíduo | 9,203 | 191 | 71,600 | <0,001 |
| | | Lado X Indivíduo | 0,129 | 1, 191 | 37,700 | <0,001 |
| | | Erro | 0,003 | 1536 | | |
| M3 | 192 | Lado | 0,002 | 1 | 0,010 | 0,864 |
| | | Indivíduo | 3,675 | 191 | 64,000 | <0,001 |
| | | Lado X Indivíduo | 0,057 | 1, 191 | 42,400 | <0,001 |
| | | Erro | 0,001 | 1536 | | |
| M4 | 192 | Lado | 2,694 | 1 | 1,330 | 0,251 |
| | | Indivíduo | 2,690 | 191 | 1,330 | 0,026 |
| | | Lado X Indivíduo | 2,030 | 1, 191 | 26,380 | <0,001 |
| | | Erro | 0,077 | 1536 | | |
| M5 | 192 | Lado | 0,001 | 1 | 0,008 | 0,928 |
| | | Indivíduo | 2,281 | 191 | 30,063 | <0,001 |
| | | Lado X Indivíduo | 0,076 | 1, 191 | 41,133 | <0,001 |
| | | Erro | 0,002 | 1536 | | |
| M6 | 192 | Lado | 0,028 | 1 | 0,399 | 0,528 |
| | | Indivíduo | 0,259 | 191 | 3,748 | <0,001 |
| | | Lado X Indivíduo | 0,069 | 1, 191 | 70,728 | <0,001 |
| | | Erro | 0,001 | 1536 | | |
| M7 | 192 | Lado | 0,067 | 1 | 0,100 | 0,709 |
| | | Indivíduo | 1,132 | 191 | 2,400 | <0,001 |
| | | Lado X Indivíduo | 0,475 | 1, 191 | 43,010 | <0,001 |
| | | Erro | 0,011 | 1536 | | |
| M8 | 192 | Lado | 0,039 | 1 | 0,400 | 0,549 |
| | | Indivíduo | 7,194 | 191 | 66,800 | <0,001 |
| | | Lado X Indivíduo | 0,108 | 1, 191 | 45,800 | <0,001 |
| | | Erro | 0,002 | 1536 | | |
| M9 | 192 | Lado | 0,064 | 1 | 1,300 | 0,257 |
| | | Indivíduo | 3,276 | 191 | 65,700 | <0,001 |
| | | Lado X Indivíduo | 0,049 | 1, 191 | 67,700 | <0,001 |
| | | Erro | 0,001 | 1536 | | |
| M10 | 192 | Lado | 1,321 | 1 | 2,200 | 0,139 |
| | | Indivíduo | 0,900 | 191 | 1,500 | 0,003 |
| | | Lado X Indivíduo | 0,601 | 1, 191 | 3,510 | <0,001 |
| | | Erro | 0,020 | 1536 | | |

APÊNDICE 2

Tabela 4: Avaliação dos pressupostos de normalidade (teste Kolmogorov-Smirnov) e média zero (teste-t amostra única), para os valores obtidos via índice AF 4 (D-E). Valores das médias, assimetria e curtose observados para os dados (D-E). Para abreviaturas confira a Tab. 2.

| Tratamento | Traço | Normalidade | | Média zero | | (D-E) | | |
|------------|-------|-------------|-------|------------|-------|---------|------------|---------|
| | | K-S d | p | t | p | Média | Assimetria | Curtose |
| LA | M1 | 0,112 | >0,20 | -0,584 | 0,561 | -0,0097 | 0,011 | 2,129 |
| | M2 | 0,072 | >0,20 | -1,529 | 0,129 | -0,0284 | -0,007 | 1,199 |
| | M3 | 0,084 | >0,20 | 0,301 | 0,764 | 0,0043 | 0,050 | 0,689 |
| | M4 | 0,132 | >0,10 | 1,066 | 0,290 | 0,0092 | 0,034 | 10,741 |
| | M5 | 0,054 | >0,20 | -0,155 | 0,877 | -0,0032 | 0,280 | 1,254 |
| | M6 | 0,129 | >0,10 | 0,705 | 0,483 | 0,0033 | -0,580 | 0,140 |
| | M7 | 0,073 | >0,20 | 0,357 | 0,722 | 0,0157 | -0,301 | 1,965 |
| | M8 | 0,064 | >0,20 | -1,502 | 0,137 | -0,0245 | 0,275 | 1,690 |
| | M9 | 0,076 | >0,20 | -0,421 | 0,675 | -0,0049 | 0,589 | 0,649 |
| | M10 | 0,055 | >0,20 | 1,575 | 0,119 | 0,0102 | 0,755 | 2,557 |
| PA | M1 | 0,109 | >0,15 | 1,116 | 0,267 | 0,0163 | 0,564 | 1,315 |
| | M2 | 0,079 | >0,20 | -0,581 | 0,562 | -0,0106 | -0,128 | 1,624 |
| | M3 | 0,078 | >0,20 | 0,868 | 0,387 | 0,0095 | -0,609 | 1,417 |
| | M4 | 0,114 | >0,10 | 1,531 | 0,129 | 0,0087 | -0,665 | 0,915 |
| | M5 | 0,061 | >0,20 | 0,019 | 0,985 | 0,0010 | 0,005 | 1,987 |
| | M6 | 0,105 | >0,20 | 1,362 | 0,176 | 0,0066 | -0,662 | 2,850 |
| | M7 | 0,066 | >0,20 | 0,320 | 0,750 | 0,0169 | -0,612 | 1,078 |
| | M8 | 0,095 | >0,20 | -0,265 | 0,792 | -0,0050 | 0,464 | 1,866 |
| | M9 | 0,075 | >0,20 | -0,444 | 0,658 | -0,0052 | -0,772 | 1,177 |
| | M10 | 0,088 | >0,20 | 0,683 | 0,496 | 0,0048 | -0,152 | 1,776 |